

commission du codex alimentarius



ORGANISATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 8 de l'ordre du jour

CX/RVDF 06/16/9
Octobre 2005

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITÉ DU CODEX SUR LES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES DANS LES ALIMENTS

Seizième session

Cancun, Quintana Roo, Mexique, du 8 au 12 mai 2006*

F

AVANT-PROJET DES PARTIES I, II ET III RÉVISÉES DES DIRECTIVES DU CODEX POUR LA MISE EN PLACE D'UN PROGRAMME DE CONTRÔLE RÉGLEMENTAIRE DES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES DANS LES ALIMENTS

(à l'étape 3 de la procédure d'élaboration)

*Document préparé par le Canada et les Pays-Bas, avec l'assistance de l'Australie, du Brésil,
de la République de Corée, de la Pologne, de la Suède, de la Thaïlande, du Royaume-Uni et des
États-Unis.*

Les gouvernements et organisations internationales qui désirent émettre des observations à l'étape 3 sur le sujet suivant sont invités à le faire **au plus tard le 28 février 2006** à l'U.S. Codex Office, Food safety and Inspection Service, US Department of Agriculture, Room 4861, South Building, 14th Independence Avenue, S.W., Washington DC 20250, USA (télécopie : +1 202 720 3157 ; ou *de préférence* par courrier électronique à uscodex@usda.gov, et d'en envoyer une copie au Secrétariat de la Commission du Codex Alimentarius, Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italie (télécopie : +39.06.5705.4593 ; courrier électronique : Codex@fao.org).

HISTORIQUE :

1. La 15^e session du CCRVDF est convenue de renvoyer l'avant-projet de directives révisées à l'étape 2, et est aussi convenue qu'un groupe de travail dirigé par le Canada reformulerait toutes les sections sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage des Directives (parties I, II et III), pour observations et examen à sa prochaine session (ALINORM 05/28/31, par. 132).

COMPTE RENDU DU GROUPE DE TRAVAIL :

2. Le groupe de travail a procédé principalement en échangeant des documents et observations par courrier électronique ; des membres du groupe de travail du Canada et du Royaume-Uni se sont réunis pour rassembler les observations provenant d'autres membres et remanier les projets. Un premier projet des parties II et III révisées incorporant les observations reçues précédemment, préparé par le Canada, a été distribué aux autres membres du groupe de travail au début du mois de février 2005, les invitant à soumettre leurs observations pour le 30 avril 2005. Des membres du groupe de travail du Canada et du Royaume-Uni se rencontrèrent au début du mois de mai pour rassembler les observations reçues des autres membres du groupe de rédaction et préparer un document révisé. Celui-ci fut distribué à tous les membres fin mai, avec un appel à des observations pour le 30 juin 2005. Des membres du groupe de travail du Canada et du Royaume-Uni se rencontrèrent à nouveau au début du mois de juillet et rassemblèrent à nouveau les observations d'autres membres du groupe de travail en un projet révisé.

* A confirmer

3. La partie I, traitant de l'échantillonnage, a été distribuée à tous les membres du groupe de travail fin avril 2005, avec un appel aux observations pour le 31 mai 2005. Les observations sur ce document ont aussi été consignées par les membres du groupe de travail du Canada et du Royaume-Uni au cours de la réunion de juillet et donnèrent lieu à la rédaction d'un projet révisé incorporant les observations des membres du groupe de travail. Les projets révisés des parties I, II et III furent à nouveau distribués à tous les membres, avec un dernier appel à des observations pour le 15 septembre. La rédaction du projet révisé fut achevée fin septembre. Les versions successives du projet envoyées aux membres tout au long du processus de rédaction et d'observations mentionnaient chaque fois les observations faites par les membres du groupe de travail, ainsi que la réponse, sous forme de révision ou d'absence de révision, assortie de commentaires explicatifs, de manière à ce que tous les membres soient avertis de toutes les observations et de toutes les révisions apportées. Comme l'avait demandé le Comité en assignant cette tâche au groupe de travail, tous les projets ont été envoyés à la présidence du groupe de travail dirigé par la Nouvelle-Zélande, chargée de la révision du texte central des directives relatif aux programmes réglementaires, afin que les groupes de travail œuvrent en étroite coordination (ALINORM 05/28/31, par. 133).

4. Les révisions de la partie I, qui traite de l'échantillonnage, sont principalement rédactionnelles et rassemblent les instructions spécifiques relatives à l'échantillonnage. Les révisions des parties II et III reflètent les changements survenus en science analytique et dans les pratiques de gestion des laboratoires depuis l'adoption du texte original des parties I à III par le Comité, notamment en ce qui concerne l'accréditation des laboratoires, les tests de réussite et les approches alternatives de validation des méthodes, telle que le modèle de validation par un laboratoire unique. Ces révisions reflètent les directives générales données dans les *Directives pour l'évaluation des compétences des laboratoires d'essais chargés du contrôle des importations et des exportations de denrées alimentaires* (CAC/GL 27-1997), les recommandations de plusieurs consultations d'experts mentionnées dans le texte, ainsi que le travail permanent accompli par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage et le Comité du Codex sur les résidus de pesticides pour incorporer le modèle de « système analytique » dans les documents du Codex donnant des directives.

RECOMMANDATION AU CCRVDF :

5. Le groupe de travail recommande au Comité de bien vouloir examiner ce document lors de sa 16^e session, en tant que révision des textes actuels des sections concernées du Codex Alimentarius, volume 3 (CAC/GL 16-1993, parties I à III).

**AVANT-PROJET DE DIRECTIVES RÉVISÉES DES PARTIES I, II ET III DES DIRECTIVES
CODEX POUR LA MISE EN PLACE D'UN PROGRAMME DE CONTRÔLE RÉGLEMENTAIRE
DES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES DANS LES ALIMENTS**

(à l'étape 3 le la procédure d'élaboration)

**PARTIE I – ÉCHANTILLONNAGE POUR LE CONTRÔLE DES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS
VÉTÉRINAIRES DANS LES ALIMENTS**

I.1. INTRODUCTION

I.1.1 BASE DU PRINCIPE D'ÉCHANTILLONNAGE

5. La Commission du Codex Alimentarius a décidé que les procédures d'échantillonnage recommandées pour les additifs alimentaires, résidus de pesticides et résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments sont exemptées des procédures générales d'échantillonnage des denrées alimentaires mises au point par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage - Pratique usuelle. Le travail de ce comité porte principalement sur les procédures d'échantillonnage concernant les qualités et caractéristiques visibles et mesurables de divers produits et aliments, ainsi que sur l'échantillonnage ayant pour but de déterminer si les normes d'identité et de composition ont été respectées et de mesurer des caractéristiques traditionnelles de qualité, telles que la teneur en poussière et en humidité du grain. Les Comités du Codex chargés d'établir des niveaux autorisés de substances d'ajout réglementées – additifs alimentaires, pesticides, médicaments vétérinaires dans les aliments, ont été habilités à élaborer leurs propres recommandations concernant les méthodes d'analyse et d'échantillonnage. C'est dans ce but que le Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments a créé lors de sa première réunion un Groupe de travail *ad hoc* sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage.

I.1.2 PRINCIPES GÉNÉRAUX

6. L'échantillonnage aux fins d'épreuves d'analyse n'est qu'un des éléments du programme de contrôle de résidus d'un pays et ne suffit pas par lui-même à réaliser dans sa totalité l'objectif de protection de la santé publique. L'échantillonnage est un instrument mis en œuvre dans le cadre du système de production de l'information qui doit permettre de déterminer si l'offre de denrées alimentaires satisfait aux prescriptions fixées en matière de santé publique, à savoir, en l'espèce, si la concentration de résidus de médicaments vétérinaires est comprise dans les limites spécifiées.

7. L'échantillonnage peut avoir des objectifs divers et fait appel à différents paramètres statistiques. La présente directive traite des divers objectifs que peut réaliser l'échantillonnage et fournit des instructions techniques en vue de l'échantillonnage des produits qui sont de la compétence du présent Comité du Codex. Du fait même qu'ils ont recours aux normes du Codex, y compris les méthodes d'échantillonnage adoptées d'un commun accord, les pays membres peuvent se mettre en conformité avec l'Article III de l'Accord général sur les tarifs douaniers et le commerce.

8. Lors d'un échantillonnage visant à déceler le niveau de résidus d'une substance ajoutée et réglementée, médicament vétérinaire par exemple, il est important de procéder aux prélèvements aussi près que possible de l'endroit où les animaux élevés en vue d'une production alimentaire sont soignés et abattus, en troupeaux ou en groupes. Dans le cas de la recherche de résidus dans les tissus, c'est au stade de l'abattage que l'échantillonnage sera le plus significatif. Pour les autres produits alimentaires qui sont de la compétence du présent Comité, le miel par exemple, l'échantillonnage le plus significatif du point de vue des résidus s'effectuera au moment de la récolte, avant l'assemblage des échantillons livrés par différents producteurs.

9. Les échantillons peuvent être prélevés sur des animaux (y compris les poissons) ou sur des produits provenant d'animaux (par ex., le lait ou le miel) avant l'abattage ou tout autre traitement, de manière à fournir à l'inspecteur des résultats sur la présence de résidus. Les échantillons peuvent être collectés sous forme de liquides corporels d'animaux vivants ou de tissus prélevés sur un petit nombre d'animaux représentatifs du troupeau ou du groupe. Les analyses pratiquées sur des liquides corporels pour rechercher des résidus ne sont en général adéquates qu'en tant que mécanisme de dépistage de résidus de médicament vétérinaire. Si des LMRMV sont établies, il faut faire des analyses d'échantillons des tissus pour lesquels une LMRMV est fixée pour confirmer qu'elle est bien respectée.

10. Les personnes chargées de l'échantillonnage doivent être conscientes du fait que, dans les centres de production (y compris les abattoirs), l'enchaînement des transformations est tel que des lots ou groupes d'animaux ou de produits animaux peuvent être mélangés au cours de la transformation. Ces mélanges peuvent avoir pour effet de diluer les résidus provenant d'un animal ou d'un lot de produits. Si on trouve des résidus dans des échantillons, il se peut qu'on ne puisse plus, après la production, retracer la source du résidu. Par exemple, des produits transformés tels que les saucisses ou l'émincé de poisson peuvent être fabriqués à partir de chair à saucisse ou de chair de poisson provenant de la production de différents jours, voire d'établissements différents. Il est dès lors recommandé de faire l'échantillonnage des animaux ou des produits d'animaux au point où une seule source de production (troupeau, groupe ou lot) peut être aisément identifiée.

I.2. OBJECTIFS DE L'ÉCHANTILLONNAGE

I.2.1 ÉCHANTILLONNAGE AU POINT D'ORIGINE PRIMAIRE

I.2.1.1 Échantillonnage sans erreur systématique

11. L'échantillonnage sans erreur systématique est conçu pour fournir des informations de profil sur la présence de résidus dans des populations productrices de denrées alimentaires définies, sur une base annuelle et nationale. Pour la recherche des résidus, il s'agit surtout de recueillir des informations sur la prévalence des résidus non conformes ; par conséquent, seuls les composés comportant des limites de sécurité établies telles que les LMRMV sont généralement retenus pour les programmes de contrôle des résidus. Les composés sélectionnés pour un échantillonnage statistique sans erreur systématique le sont généralement sur la base de profils du risque (en tenant compte de la toxicité des résidus et de l'emploi) et de l'existence de méthodes d'analyse pouvant convenir aux objectifs du contrôle réglementaire. Les informations sont fournies par une sélection statistique d'échantillons prélevés de façon aléatoire sur des animaux présentés à l'inspection. Un échantillonnage restreint, ou limité à une région géographique, pourra être effectué en cas de problème potentiel de résidus qui apparaîtrait localisé. Les informations fournies par ce type d'échantillonnage devront être périodiquement revues dans le but d'évaluer les programmes de contrôle de résidus et d'affecter les ressources en fonction des besoins.

12. Les données relatives aux résidus ne fournissent pas seulement des informations de profil ; elles permettront également de poursuivre l'action réglementaire. Les résultats pourront notamment être utilisés pour repérer les producteurs qui mettent sur le marché des animaux ou autres denrées alimentaires de la compétence de ce Comité qui contiennent des concentrations de résidus excédant les LMRMV ou des résidus de substances interdites. Lorsque ces producteurs présenteront par la suite des animaux, du poisson ou du miel à l'inspection, leurs produits seront soumis à un échantillonnage et à des analyses qui les viseront plus particulièrement et plus spécifiquement, jusqu'à ce que les résultats aient démontré qu'ils se sont conformés aux LMRMV. Accessoirement, ces données serviront à indiquer la prévalence et les concentrations relevées de résidus non conformes, à évaluer les tendances en matière de résidus et à repérer dans l'industrie les secteurs où se posent des problèmes de résidus pouvant justifier une action éducative ou répressive. On voit donc que l'échantillonnage sans erreur systématique recueille de l'information tout en ayant un effet dissuasif sur les pratiques contrevenant à la réglementation sur les résidus.

13. En règle générale, les échantillons prélevés par les inspecteurs sont envoyés à un laboratoire agréé par les autorités nationales pour pratiquer l'analyse des résidus. Cependant, les progrès des techniques d'analyse permettent aujourd'hui aux inspecteurs de procéder au dépistage des résidus à l'abattoir même ou dans un autre établissement analogue. Dans ces situations, les inspecteurs pourront envoyer les spécimens de tissu à un laboratoire désigné par les autorités nationales pour y subir des analyses plus poussées si les résultats du dépistage conduisent à penser qu'il y a présence de résidus.

14. Dans certains cas et certaines situations où les échantillons sont envoyés directement au laboratoire désigné, il peut arriver que les résultats du laboratoire ne soient disponibles qu'après que le produit ait été mis en vente, et qu'on ne puisse plus en retracer l'origine. De ce fait, il peut arriver que malgré les efforts de l'autorité réglementaire pour éviter autant que possible ce genre de situation, des animaux, des poissons ou du miel contenant des résidus excédant les LMRMV soient inévitablement mis sur le marché. Toutefois, pourvu que la fréquence de ces cas ne soit pas très élevée, les conséquences pour la santé humaine resteront minimales. En effet, les LMRMV représentent la concentration maximale de résidus dont on a déterminé qu'elle ne présentait pas de danger en cas de consommation quotidienne, dans les limites de la dose journalière admissible (DJA), et cela pendant une vie entière. Compte tenu des marges de sécurité que l'on retient pour déterminer la DJA et, par suite, les LMRMV, il est très peu probable que la consommation occasionnelle de produits dont la concentration de résidus est légèrement supérieure à la LMRMV puisse être préjudiciable à la santé.

15. L'échantillonnage sans erreur systématique doit présenter une fiabilité statistiquement spécifiée. Celle-ci peut s'exprimer par référence à un niveau de confiance et à un taux de prévalence. Par exemple, l'échantillonnage peut être conçu pour détecter, avec une certitude de 95%, une prévalence se produisant chez 1% des animaux en bonne santé soumis à l'inspection. Une fois établis le niveau de confiance et le taux de prévalence, le nombre d'échantillons nécessaire pour atteindre l'objectif recherché peut être déterminé à partir du tableau 1.

Tableau 1 : Nombre d'échantillons requis pour détecter au moins un cas de résidus non conformes avec des probabilités prédéfinies (c'est-à-dire 90, 95 et 99%) dans une population ayant un taux de prévalence de résidus non conformes connu.

Prévalence des résidus non conformes (%) dans une population)	Nombre minimum d'échantillons requis pour détecter un cas de résidus non conformes avec un niveau de certitude de :		
	90%	95%	99%
35	6	7	11
30	7	9	13
25	9	11	17
20	11	14	21
15	15	19	29
10	22	29	44
5	45	59	90
1	230	299	459
0,5	460	598	919
0,1	2302	2995	4603

I.2.1.2 Échantillonnage orienté

16. L'échantillonnage orienté est conçu pour enquêter sur le mouvement des produits potentiellement adultérés et le contrôler. L'échantillonnage, souvent biaisé à dessein, vise des carcasses, des produits ou des producteurs particuliers, par suite d'informations fournies par un échantillonnage basé de façon statistique (ou autres renseignements parvenus à la connaissance de l'autorité chargée de la réglementation), ou d'observations effectuées par un inspecteur au cours d'une inspection ante-mortem ou post-mortem et faisant état de la présence possible de résidus non conformes. L'inspecteur peut procéder sur place ou dans l'établissement à des analyses de résidus ; des échantillons peuvent également être soumis à l'analyse d'un laboratoire désigné par les autorités nationales. Selon que les éléments dont on dispose justifient ou non un échantillonnage orienté, le produit pourra être consigné jusqu'à ce que les résultats d'analyse indiquent la mesure réglementaire qu'il convient de prendre. L'analyse en laboratoire de prises d'essai prélevées au titre de l'échantillonnage orienté devra être effectuée le plus rapidement possible et devra avoir priorité sur les échantillons prélevés dans les conditions ordinaires sur une base simplement statistique. Dans les situations d'échantillonnage orienté, les troupeaux d'animaux ou de volailles, ainsi que les lots de poisson ou de miel seront réputés inacceptables jusqu'à ce qu'il ait été démontré qu'ils sont conformes aux LMRMV du Codex ou à la réglementation nationale à laquelle est soumise la denrée considérée dans le pays d'origine.

17. La probabilité de ne pas déceler des résidus non conformes à une LMRMV et d'accepter le lot dépendra de la taille d'échantillon retenue par les programmes d'échantillonnage orienté et de la prévalence des résidus non conformes. Le tableau 2 fait apparaître la probabilité de ne pas déceler des résidus non conformes lorsqu'on utilise différentes tailles d'échantillons prélevés sur une population « infinie » comportant un pourcentage spécifié de résidus non conformes. Par exemple, si l'on choisissait cinq échantillons sur un lot important dans lequel 10% des unités contiennent des résidus non conformes, on ne décelerai pas de non-conformité dans 59% de ces lots (c'est-à-dire que 59% des lots seraient acceptés). Toutes choses égales par ailleurs, mais en retenant une taille d'échantillon de 50, 0,5% seulement de ces lots seraient acceptés.

Tableau 2 : Probabilité de non-détection de résidus non conformes à une LMRMV

Prévalence (%)	Nombre d'animaux de l'échantillon analysé									
	5	10	25	50	75	100	200	250	500	1000
1	0,951	0,904	0,779	0,605	0,471	0,366	0,134	0,081	0,007	0,000
2	0,904	0,817	0,603	0,364	0,220	0,133	0,018	0,006	0,000	
3	0,859	0,737	0,467	0,218	0,102	0,048	0,002	0,000		
4	0,815	0,665	0,360	0,130	0,047	0,017	0,000			
5	0,774	0,599	0,277	0,077	0,021	0,006				
6	0,734	0,539	0,213	0,045	0,010	0,002				
7	0,696	0,484	0,163	0,027	0,004	0,001				
8	0,659	0,434	0,124	0,015	0,002	0,000				
9	0,624	0,389	0,095	0,009	0,001					
10	0,590	0,349	0,072	0,005	0,000					
12	0,528	0,279	0,041	0,002						
14	0,470	0,221	0,023	0,001						
16	0,418	0,175	0,013	0,000						
18	0,371	0,137	0,007							
20	0,328	0,107	0,004							
24	0,254	0,064	0,001							
28	0,193	0,037	0,000							
32	0,145	0,021								
36	0,107	0,012								
40	0,078	0,006								
50	0,031	0,001								
60	0,010	0,000								

18. Il convient de tenir compte des facteurs de risque et de coût lorsqu'on détermine les tailles d'échantillon utilisées dans un programme d'échantillonnage orienté. En outre, parce que cela pourrait augmenter la probabilité de détecter des troupeaux d'animaux ou de volailles, ou des lots de poisson ou de miel, inacceptables du fait de résidus non conformes aux LMRMV, il conviendrait d'envisager la possibilité de sélectionner des échantillons distincts prélevés sur des lots distincts au lieu d'un seul lot.

I.2.2 POINT D'ÉCHANTILLONNAGE SECONDAIRE

I.2.2.1 Échantillonnage au port d'entrée

19. Les tests effectués au port d'entrée sur des produits dérivés d'animaux et de volailles producteurs de denrées alimentaires ou sur le poisson et le miel, importés par des pays membres du Codex Alimentarius constituent un moyen de vérification de l'efficacité du programme de contrôle de résidus du pays exportateur. Ces tests devraient être effectués sur une base statistique et devraient refléter à la fois la fréquence et le volume du commerce des produits testés. L'échantillonnage et les analyses effectués au port d'entrée n'ont pas pour but de remplacer les programmes de contrôle des résidus du pays exportateur.

20. Les résultats d'analyse de résidus indiquant que le produit importé est conforme aux LMRMV du Codex devraient permettre la mise sur le marché de ce produit. Lorsque les résultats indiquent que le produit importé contient des résidus non conformes, les expéditions ultérieures du même groupe de produits provenant de l'établissement ou de la société concernés devraient être consignés au port d'entrée jusqu'à ce que des résultats de laboratoire attestant la conformité aux LMRMV aient été portés à la connaissance des autorités chargées de la réglementation. Il conviendrait de soumettre à un programme d'analyse renforcé toutes les expéditions ultérieures de produits similaires en provenance du pays concerné jusqu'à ce que la conformité aux LMRMV du Codex ait pu être à nouveau établie.

21. La sélection des composés retenus pour la recherche des résidus au port d'entrée devrait tenir compte des composés dont l'emploi est autorisé dans le pays exportateur ainsi que de ceux qui figurent dans le programme national de contrôle des résidus du pays exportateur et du pays importateur. On trouvera à l'Annexe A, au tableau A, à l'Annexe B, au tableau B et à l'Annexe C des instructions sommaires sur le prélèvement d'échantillons pour la recherche des résidus au port d'entrée.

Annexe A**ÉCHANTILLONNAGE EN VUE DU CONTRÔLE DES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES DANS LES ANIMAUX, LES PRODUITS D'ANIMAUX ET LES ALIMENTS DÉRIVÉS D'ANIMAUX (EXCEPTÉ LE MIEL)****1. OBJECTIF**

22. Fournir des instructions pour l'échantillonnage d'un lot d'animaux (y compris des poissons), de produits d'animaux ou d'aliments dérivés d'animaux, en vue d'en vérifier la conformité avec les limites maximales de résidus du Codex pour les médicaments vétérinaires (LMRMV).

2. DÉFINITIONS**2.1 Lot**

23. Un groupe d'animaux ou une quantité de produits d'animaux destinés à l'alimentation, identifiables et ayant été déterminés comme possédant des caractéristiques communes, telles que l'origine, la variété, le type d'emballage, l'emballer ou l'expéditeur, ou les marques, par le responsable de l'échantillonnage. Plusieurs lots peuvent constituer une expédition.

2.2 Expédition

24. Un groupe identifiable d'animaux ou une quantité identifiable de produits d'animaux destinés à l'alimentation, décrits sur le document de bord d'un entrepreneur de transport. Les lots d'une même expédition peuvent avoir différentes origines ou être livrés à différents moments.

2.3 Échantillon primaire

25. Quantité de matériau biologique représentatif prélevé sur un seul animal (ou groupe d'animaux) ou en un seul et même point du lot. Si la quantité n'est pas suffisante pour pratiquer l'analyse des résidus, des échantillons prélevés sur plusieurs animaux (ou groupes d'animaux) ou en plusieurs points du lot pourront être combinés pour constituer l'échantillon primaire (organes de volaille par exemple).

2.4 Échantillon en vrac

26. Total combiné de l'ensemble des échantillons primaires prélevés sur le même lot.

2.5 Échantillon définitif (de laboratoire)

27. Échantillon primaire ou échantillon en vrac, ou une portion représentative d'un échantillon primaire ou d'un échantillon en vrac, à utiliser pour une analyse de laboratoire.

2.6 Portion d'échantillon de laboratoire

28. Portion représentative de l'échantillon définitif (de laboratoire) destinée à l'analyse de laboratoire. L'échantillon de laboratoire peut être utilisé entier pour l'analyse mais sera généralement subdivisé en portions représentatives pour l'analyse.

3. DENRÉES AUXQUELLES S'APPLIQUE LA DIRECTIVE**3.1 Denrées sélectionnées de Classe B :** Denrées alimentaires primaires d'origine animale

Type 06 - Produits de mammifères

- N° 030 Viande de mammifères
- N° 031 Graisse de mammifères
- N° 032 Abats comestibles de mammifères
- N° 033 Laits

Type 07 - Produits de volaille

- N° 036 Chairs de volaille
- N° 037 Graisses de volaille
- N° 038 Abats comestibles de volaille
- N° 039 Œufs

Type 08 - Produits d'animaux aquatiques

- N° 040 Poissons d'eau douce
- N° 041 Poissons diadromeux
- N° 043 Œufs de poisson et abats comestibles de poisson
- N° 045 Crustacés

Type 09 - Amphibiens et reptiles

- N° 048 Grenouilles, lézards, serpents et tortues

Type 10 - Animaux invertébrés

- N° 049 Mollusques et autres invertébrés

3.2 Produits sélectionnés de Classe E : Produits d'origine animale transformés obtenus uniquement à partir des produits alimentaires primaires N° 030, 032, 036 et 038**Type 16 – Produits secondaires****Type 17 – Produits dérivés comestibles d'origine animale aquatique****Type 18 - Produits manufacturés (ingrédient unique) en récipient ou d'une taille unitaire d'un kilogramme minimum.****Type 19 - Produits manufacturés (ingrédients multiples) en récipient ou d'une taille unitaire d'un kilogramme minimum.****4. PRINCIPE RETENU**

29. Aux fins du contrôle, la limite maximale de résidus (LMRMV) s'applique à la concentration de résidus constatée dans chaque échantillon de laboratoire prélevé sur un lot. Le lot est réputé conforme à la LMRMV du Codex lorsque le résultat moyen de l'analyse des portions d'échantillon n'indique pas de teneur en résidu supérieure à la LMRMV.

5. EMPLOI DE PERSONNEL AGRÉÉ POUR PRATIQUER L'ÉCHANTILLONNAGE

30. Les échantillons doivent être prélevés par des fonctionnaires agréés.

6. PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE**6.1 Produit à échantillonner**

31. Chaque lot à examiner doit être échantillonné séparément.

6.2 Précautions à prendre

32. Au cours du prélèvement et de la transformation, il conviendra d'éviter toute contamination ou autres altérations des échantillons qui seraient de nature à modifier le résidu, à influencer sur le travail d'analyse ou à rendre la portion d'échantillon de laboratoire non représentative de l'échantillon en vrac ou définitif.

6.3 Prélèvement d'un échantillon primaire

33. Des instructions détaillées pour le prélèvement d'un échantillon primaire de divers produits sont fournies au tableau B. Les quantités à prélever sont fonction du mode opératoire retenu. Les quantités minimales sont indiquées au tableau A : Produits carnés (y compris la chair de volaille) et au tableau B : Lait, œufs, produits laitiers et produits d'animaux aquatiques. On trouvera ci-dessous des instructions générales.

- a. Chaque échantillon primaire devrait être prélevé sur un seul animal (ou groupe d'animaux) ou sur une seule unité du lot, si possible de manière aléatoire.
- b. Lorsqu'il faut faire plusieurs animaux pour constituer un échantillon d'une taille suffisante pour former l'échantillon primaire (organes de volaille, par exemple), les échantillons devront être prélevés consécutivement après sélection aléatoire du point de départ.
- c. Un produit congelé ne devrait pas être décongelé avant échantillonnage.

- d. Un produit en conserve ou emballé ne devrait être ouvert pour procéder à l'échantillonnage que si la taille de l'unité représente au moins le double de la quantité requise pour constituer l'échantillon définitif de laboratoire. L'échantillon définitif (de laboratoire) devrait contenir une portion représentative des liquides dans lesquels se trouve le produit.
 - Un produit en conserve ou emballé constituant un échantillon définitif (de laboratoire) devrait être envoyé pour analyse au laboratoire non ouvert et intact.
- e. Le contenu des boîtes de conserve ou emballages ouverts par l'inspecteur devrait ensuite être congelé conformément aux instructions du paragraphe 6.8.d avant d'être envoyé au laboratoire pour analyse.
- f. Les unités importantes de produit qui contiennent des os, (quartiers de viande, par exemple) devraient être échantillonnées en ne recueillant, pour constituer l'échantillon primaire, que des parties comestibles du produit.
- g. Lorsqu'on a prélevé les portions de l'échantillon définitif (de laboratoire) destinées à être analysées, les portions restantes devraient être congelées et entreposées dans des conditions préservant l'intégrité de l'échantillon.

6.4 Nombre d'échantillons primaires à prélever sur un lot

34. Le nombre d'échantillons primaires prélevés variera en fonction du statut du lot. Un lot peut être considéré suspect lorsqu'il y a des antécédents de non-conformité aux LMRMV, que l'on a lieu de soupçonner une contamination en cours de transport, que des manifestations de toxicose ont été observées lors de l'inspection ante-mortem ou post-mortem ou que d'autres informations pertinentes sont venues à la connaissance du fonctionnaire chargé de l'inspection. S'il n'y a pas lieu de suspecter d'altération, le lot sera réputé non suspect.

6.4.1 Échantillonnage des lots suspects

35. Il conviendrait de prélever un minimum de six et un maximum de trente échantillons primaires sur un lot suspect. Lorsqu'il y a lieu de penser que l'altération suspectée est présente dans la totalité du lot ou lorsque celle-ci est aisément repérable à l'intérieur du lot, on pourra se contenter du nombre d'échantillons le plus petit.

6.4.2 Échantillonnage des lots non suspects

36. Dans le cas des lots non suspects, on recommande l'emploi d'un programme d'échantillonnage non biaisé, à base statistique. L'un ou l'autre des modes d'échantillonnage ci-après pourra être utilisé.

a. Échantillonnage aléatoire stratifié

37. Dans un système complexe où les denrées doivent être échantillonnées en un grand nombre d'endroits sur de longues périodes de temps, il est très difficile de mettre au point un programme d'échantillonnage faisant appel à des critères aléatoires simples. Un intéressant dispositif d'échantillonnage de rechange est l'échantillonnage aléatoire stratifié qui sépare les éléments de population en groupes ne se recoupant pas, appelés strates. Les échantillons primaires sont ensuite sélectionnés à l'intérieur de chaque strate au moyen d'un simple dispositif aléatoire. L'homogénéité à l'intérieur de chaque strate est plus grande que dans la population tout entière. Les pays ou les régions géographiques sont autant de strates naturelles étant donné l'uniformité des usages agricoles. Des strates temporelles (mois, trimestre, etc.) sont communément utilisées pour des raisons de commodité, d'efficacité, ou pour déceler des variations saisonnières. Des tables de nombres aléatoires ou autres techniques objectives devront être utilisées pour s'assurer que tous les individus d'une population ont une chance égale et indépendante de figurer dans l'échantillon.

b. Échantillonnage systématique

38. L'échantillonnage systématique est une méthode qui consiste à sélectionner un échantillon à partir de chaque quantité « K » de produit à échantillonner, puis à échantillonner chaque unité « K ». L'échantillonnage systématique est plus rapide, plus facile et moins onéreux que l'échantillonnage non biaisé quand on dispose d'informations fiables sur les volumes de produit pour déterminer l'intervalle d'échantillonnage qui fournira le nombre voulu d'échantillons au bout d'un certain temps. Si le système d'échantillonnage est trop prévisible, on peut en abuser. Aussi est-il conseillé d'introduire un certain élément aléatoire autour du point d'échantillonnage dans les limites de l'intervalle d'échantillonnage.

c. Échantillonnage biaisé ou du pire cas estimé

39. Dans le cas de l'échantillonnage biaisé ou du pire cas estimé, l'inspecteur devra faire appel à son propre jugement et à son expérience en ce qui concerne la population, le lot ou le cadre d'échantillonnage pour décider quels échantillons primaires sélectionner. Comme il s'agit d'une technique non aléatoire, aucune induction concernant la population échantillonnée n'est permise à partir des données recueillies. Le groupe de population dont on peut prévoir qu'il sera exposé au plus grand risque peut être identifié. Les pays exportateurs devraient entreprendre un programme global de contrôle des résidus et en communiquer les résultats aux pays importateurs. Sur la foi des renseignements ainsi fournis par le pays importateur, il pourra être procédé aux analyses en appliquant aux denrées le régime des produits non-suspects. Les produits en provenance d'un pays qui ne fournirait pas de résultats d'analyse attestant la conformité aux LMRMV seraient au contraire échantillonnés comme lots suspects.

6.5 Préparation de l'échantillon de vrac

40. L'échantillon de vrac est préparé par combinaison et mélange intime des échantillons primaires.

6.6 Préparation de l'échantillon définitif (de laboratoire)

41. L'échantillon primaire ou l'échantillon de vrac, ou une portion représentative de l'échantillon primaire ou de l'échantillon de vrac, qui constitue l'échantillon de laboratoire, devrait être soumis au laboratoire pour analyse.

42. Certaines législations nationales exigent que l'échantillon définitif (de laboratoire) soit subdivisé en deux portions ou plus aux fins d'analyse séparée. Chaque portion devrait être représentative de l'échantillon définitif. Les précautions décrites au paragraphe 6.2 devraient être observées.

6.7 Préparation de la portion de l'échantillon de laboratoire

43. La portion de l'échantillon de laboratoire devrait être préparée à partir de l'échantillon définitif (de laboratoire) au moyen d'une méthode de réduction convenable.

6.8 Conditionnement et envoi des échantillons définitifs (de laboratoire)

44. a. Chaque échantillon devrait être placé dans un récipient propre, thermo-isolant et chimiquement inerte pour le protéger de toute contamination et éviter qu'il ne dégèle ou ne soit endommagé en cours d'expédition.
- b. Le récipient devrait être scellé de façon à pouvoir déceler toute effraction.
- c. Le récipient devrait être transmis au laboratoire le plus rapidement possible, une fois prises les précautions qui s'imposent pour prévenir toute fuite ou avarie.
- d. Tous les échantillons périssables à expédier devraient être congelés à -20°C immédiatement après leur prélèvement et conditionnés dans un récipient approprié retardant la décongélation. Pendant le transport, on devrait utiliser des plaques réfrigérantes, ou tout autre moyen réfrigérant, pour maintenir la température de congélation. Les échantillons et les plaques réfrigérantes devraient être congelés à -20° avant d'être expédiés.

- e. Certaines législations nationales ou réglementations administratives requièrent que l'on conserve des répliques des portions d'échantillons définitifs (de laboratoire). Dans ce cas, l'échantillon doit être conservé dans un récipient propre, chimiquement inerte pour le protéger de toute contamination, scellé de manière à pouvoir déceler toute effraction et entreposé dans des conditions telles que le produit ou les résidus qu'il pourrait contenir ne puissent s'être modifiés au moment où il faudrait faire une analyse ultérieure à des fins de comparaison avec des résultats d'analyse d'un échantillon soumis au laboratoire.

7. DOCUMENTATION

45. Chaque échantillon primaire ou de vrac et chaque échantillon définitif (de laboratoire) devrait faire l'objet d'un document spécifique précisant de quel type d'échantillon il s'agit, les analyses requises, son origine (par ex. pays, État ou ville), le lieu du prélèvement, la date de l'échantillonnage, ainsi que tous les renseignements supplémentaires requis pour pouvoir prendre, si nécessaire, les mesures qui s'imposent.

8. ÉCART PAR RAPPORT AUX PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE RECOMMANDÉES

46. Tout écart par rapport aux procédures d'échantillonnage recommandées devrait être signalé dans la documentation accompagnant l'échantillon, les modes opératoires effectivement mis en œuvre devant être très précisément décrits.

TABLEAU A : PRODUITS CARNÉS (Y COMPRIS LA CHAIR DE VOLAILLE)		
Produit	Instructions de prélèvement	Quantité minimale requise pour un échantillon de laboratoire
I. Groupe 030 (Viandes de mammifères)		
A. Carcasse entière ou demi-carcasse ; poids unitaire normalement 10 kg ou plus	Prélever sur un seul animal le muscle du diaphragme en complétant si nécessaire par le muscle cervical	500 g
B. Petite carcasse (par ex., lapin)		500 g après avoir retiré la peau et les os
C. Parties fraîches/réfrigérées		
1. Poids unitaire minimal 500 g, sans les os (par ex., quartier, épaules, rôtis)	Prélever le muscle d'une unité.	500 g
2. Unité pesant moins de 500 g (par ex., côtelettes, filets)	Prélever dans le récipient sélectionné le nombre d'unités nécessaire pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g désossé
D. Parties congelées en vrac	Prélever une découpe sur une pièce congelée dans le récipient sélectionné, ou bien un muscle sur une grosse pièce.	500 g
E. Parties congelées/réfrigérées, ou unités emballées individuellement pour la vente en gros	Pour les grosses pièces, prélever un muscle sur une unité ou échantillonner sur un certain nombre d'unités pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g désossé
Ia. Groupe 030 (Viandes de mammifères où la LMR se détermine dans la graisse de la carcasse)		
A. Animaux échantillonnés à l'abattage	Se reporter aux instructions en II, Groupe 031.	
B. Autres parties carnées	Prélever 500 g de graisse visible, ou une quantité suffisante de produit pour donner 50-100 g de graisse pour l'analyse. (Normalement, il faut 1,5-2,0 kg de produit pour les pièces sans graisse à parer).	Quantité suffisante pour donner 50-100 g de graisse

TABLEAU A : PRODUITS CARNÉS (Y COMPRIS LA CHAIR DE VOLAILLE)		
Produit	Instructions de prélèvement	Quantité minimale requise pour un échantillon de laboratoire
II. Groupe 031 (Graisse de mammifères)		
A. Grands animaux échantillonnés à l'abattage, pesant normalement au moins 10 kg	Prélever la graisse rénale, abdominale ou sous-cutanée d'un animal.	500 g
B. Petits animaux échantillonnés à l'abattage ¹	Prélever la graisse abdominale et sous-cutanée d'un ou plusieurs animaux.	500 g
C. Tissus adipeux en vrac	Prélever des portions de taille égale en 3 points du récipient.	500 g
III. Groupe 032 (Abats comestibles de mammifères)		
A. Foie	Prélever un ou plusieurs foies entiers ou une portion suffisante pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	400 - 500 g
B. Rein	Prélever les deux reins ou un seul, ou les reins de plusieurs animaux, de manière à obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise. Ne pas prélever sur plus d'un animal si la taille satisfait aux limites inférieures de taille d'échantillon.	250 - 500 g
C. Cœur	Prélever un cœur entier ou une portion de ventricule suffisante pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	400 - 500 g
D. Autres abats comestibles frais/réfrigérés ou congelés	Prélever une portion provenant d'un seul animal sauf si le produit de plusieurs animaux est nécessaire pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise. Une découpe peut être prélevée sur le produit en vrac congelé.	500 g
IV. Groupe 036 (Chairs de volaille)		
A. Carcasse entière de grosse volaille, pesant en moyenne 2 à 3 kg ou plus (par ex., dinde, poulet adulte, oie, canard)	Prélever la cuisse, le pilon et autres chairs semblables (sauf les blancs) sur une seule volaille.	500 g sans la peau et les os
B. Carcasse entière de volaille pesant en moyenne de 500g à 2kg (par ex., jeune poulet, caneton, pintadeau)	Prélever la cuisse, le pilon et autres chairs semblables (sauf les blancs) sur 3 à 6 volailles, selon la taille.	500 g sans la peau et les os
C. Carcasses entières de très petites volailles pesant moins de 500 g (par ex., caille, pigeon)	Prélever au moins 6 carcasses entières	. 250 à 500 g de tissu musculaire
D. Parties fraîches/réfrigérées ou congelées		
1. Conditionnées pour la vente en gros		
a. Grosses pièces	Prélever une unité intérieure dans un récipient sélectionné. Prélever des parties suffisantes dans une couche sélectionnée du récipient.	500 g sans la peau et les os
b. Petites pièces		
2. Conditionnées pour la vente au détail	Prélever un nombre suffisant d'unités dans un récipient sélectionné pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g sans la peau et les os
IVa. Groupe 036 (Chairs de volaille où la LMRMV est exprimée en graisse de carcasse)		
A. Volailles échantillonnées à l'abattage	Se reporter aux instructions en V. Groupe 037	

TABLEAU A : PRODUITS CARNÉS (Y COMPRIS LA CHAIR DE VOLAILLE)		
Produit	Instructions de prélèvement	Quantité minimale requise pour un échantillon de laboratoire
B. Autres chairs de volaille	Prélever 500 g de graisse ou une quantité suffisante de produit pour donner 50-100 g de graisse (il faut compter normalement 1,5-2,0 kg de produit).	500 g de tissu adipeux ou assez de tissu pour donner 50-100 g de graisse
V. Groupe 037 (Graisses de volaille)		
A. Volailles échantillonnées à l'abattage	Prélever la graisse abdominale de 3 à 6 volailles, selon la taille.	Suffisante pour donner 50-100 g de graisse
B. Tissu adipeux en vrac	Prélever des portions de taille égale en 3 points du récipient.	500 g
VI. Groupe 038 (Abats comestibles de volailles)		
A. Foie	Prélever 6 foies entiers ou un nombre suffisant pour obtenir la taille d'échantillonnage de laboratoire requise.	250 - 500 g
B. Autres abats comestibles frais/réfrigérés ou congelés	Prélever des parties appropriées sur 6 volailles. Si elles sont congelées en vrac, prendre une découpe dans le récipient.	250 - 500 g
VII. Classe E - Type 16 (Produits carnés secondaires, y compris la chair de volaille)		
A. Produit émincé frais/réfrigéré ou congelé d'une seule espèce animale	Prélever une découpe représentative fraîche ou congelée à partir du récipient sélectionné ou de l'unité conditionnée.	500 g
B. Groupe 080 (Produits carnés séchés)	Prélever un nombre suffisant d'unités dans un récipient sélectionné pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g, sauf si la teneur en graisse est inférieure à 5% et si la LMRMV est exprimée sur la base du tissu adipeux. Il faut alors de 1,5 à 2,0 kg.
VIII. Classe E-Type 18 (Produit manufacturé d'origine animale ne comportant qu'un seul ingrédient)		
A. Produit en conserve (par ex. jambon, bœuf, poulet) d'une taille unitaire de 1 kg ou plus	Prélever une boîte sur le lot. Quand la taille unitaire est importante (supérieure à 2 kg), un échantillon représentatif comprenant du liquide de la boîte pourra être prélevé.	500 g, sauf si la teneur en graisse est inférieure à 5% et si la LMRMV est exprimée sur la base du tissu adipeux. Il faut alors de 1,5 à 2,0 kg.
B. Produit séché, fumé ou cuit (par ex. lard fumé, jambon, dinde, bœuf cuit), d'une taille unitaire d'au moins 1 kg	Prélever une portion s'il s'agit d'une grosse pièce (plus de 2 kg), ou l'unité entière, selon la taille.	500 g, sauf si la teneur en graisse est inférieure à 5% et si la LMRMV est exprimée sur la base du tissu adipeux. Il faut alors de 1,5 à 2,0 kg.
IX. Classe E - Type 19 (Produit manufacturé d'origine animale comportant plusieurs ingrédients)		
A. Chair à saucisse et galantines d'une taille unitaire d'au moins 1 kg	Prélever une découpe s'il s'agit d'une grosse pièce (plus de 2 kg), ou l'unité entière, selon la taille.	500 g

¹ Lorsque le tissu adipeux adhérent ne suffit pas à constituer un échantillon convenable, la denrée toute entière, sans les os, est analysée et la LMR s'applique à la denrée toute entière.

TABLEAU B : LAIT, OEUFS, PRODUITS LAITIERS ET PRODUITS D'ANIMAUX AQUATIQUES		
Produit	Instructions de prélèvement	Quantité minimale requise pour un échantillon de laboratoire
I. Groupe 033 (Laits)		
Lait entier liquide cru, pasteurisé, UHT et stérilisé	En vrac. Mélanger soigneusement et prélever aussitôt un échantillon à la louche. En récipients pour la vente au détail. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	500 ml
II. Groupe 082 (Produits laitiers secondaires)		
A. Lait écrémé et demi-écrémé	Comme pour le lait entier liquide.	500 ml
B. Lait concentré, lait concentré avec crème et lait concentré écrémé	Récipients contenant le produit en vrac (bidons, boîtes). Mélanger soigneusement le contenu et détacher les matières qui adhèrent aux parois et au fond du récipient. Prélever 2 à 3 litres, agiter de nouveau et prélever un échantillon de 500 ml. Petits récipients destinés à la vente au détail. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	500 ml
C. Laits en poudre		
1. Entiers	Récipients en vrac. Enfoncer une pipette sèche au cœur de la poudre à une vitesse de pénétration constante. Faire autant de prélèvements qu'il faut pour obtenir un échantillon de 500 g. Petits récipients destinés à la vente au détail. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	500 g
2. Ecrémés	Comme pour les laits entiers en poudre.	500 g
III. Groupe 087 (Produits laitiers dérivés)		
A. Crème fraîche, congelée et UHT ; liquide, à fouetter, fouettée, chantilly épaisse et en grumeaux	Récipients en vrac. Tourner lentement une spatule plongée dans le produit afin d'assurer un mélange homogène ; veiller à ne pas faire mousser la crème, à ne pas la fouetter ou la battre. Prélever un échantillon de 200 ml à la louche. Petits récipients. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	200 ml

TABLEAU B : LAIT, OEUFS, PRODUITS LAITIERS ET PRODUITS D'ANIMAUX AQUATIQUES		
Produit	Instructions de prélèvement	Quantité minimale requise pour un échantillon de laboratoire
B. Beurre y compris le beurre de sérum et les pâtes à tartiner à faible teneur en matière grasse contenant des graisses de beurre	En vrac. Prélever deux ou plusieurs « carottes » de beurre afin que le poids minimum total de l'échantillon ne soit pas inférieur à 200 g. En mottes ou pains. Pour les unités pesant plus de 250 g, diviser en quatre et prendre les quartiers opposés. Pour les unités pesant moins de 250 g, prendre une unité comme échantillon.	200 g
C. Beurre émulsionné y compris beurre émulsionné anhydre et graisse de lait anhydre	Mélanger soigneusement et prélever un échantillon de 200 g.	200 g
IV. Groupe 090 (Produits laitiers manufacturés - ingrédient unique)		
A. Yaourt naturel, à faible teneur en matières grasses et à base de lait entier	Prélever un nombre d'unités suffisant pour répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	500 g
B. Fromages toutes variétés	Effectuer deux coupes, partant du centre du fromage si celui-ci est de base circulaire ou parallèles si la base est rectangulaire. La dimension du morceau prélevé doit répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon. Pour les petits fromages et les portions de fromage emballées, prélever un nombre d'unités suffisant pour répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	200 g
V. Groupe 092 (Produits laitiers manufacturés – ingrédients multiples)		
A. Crème glacée laitière crème glacée contenant au moins 5% de matière grasse de lait	Choisir un bloc ou des unités suffisants pour répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	500 ml
B. Préparations à base de fromage fondu	Choisir des unités répondant aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	200 g
C. Yaourts parfumés	Comme pour le yaourt naturel.	500 g
D. Lait condensé sucré	Comme pour le lait concentré non sucré.	500 ml
VI. Groupe 039 (Œufs et produits à base d'œufs)		
A. Œufs liquides et congelés	Employer le barème d'échantillonnage. La taille du sous-échantillon sera de 0,25 litre de liquide ou de 0,5 litre de lamelles en masse obtenues par forages aseptiques pratiqués à l'intérieur des récipients.	500 g
B. Produits à base d'œufs en poudre	Employer le barème d'échantillonnage. Pour des récipients de 0,5 kg ou moins, ou de 0,25 l ou moins, prélever un minimum de 2 unités par sous-échantillon. Pour des récipients de 0,5 à 10 kg, sélectionner une unité par sous-échantillon. Pour des récipients de 10 kg ou plus, prélever 1 kg sur chaque unité échantillonnée. Prélever au moyen d'une technique aseptique.	500 g

TABLEAU B : LAIT, OEUFS, PRODUITS LAITIERS ET PRODUITS D'ANIMAUX AQUATIQUES		
Produit	Instructions de prélèvement	Quantité minimale requise pour un échantillon de laboratoire
C. Œufs en coquille 1. Conditionnement de détail 2. Cartons du commerce de gros	Employer le barème d'échantillonnage. La taille du sous-échantillon est la douzaine. Pour 15 cartons ou moins, prélever une douzaine sur chaque carton, jusqu'à concurrence de 2 douzaines d'œufs minimum. Pour 16 cartons ou plus, prélever une douzaine sur 15 cartons choisis au hasard.	500 g ou 10 œufs entiers 500 g ou 10 œufs entiers
VII. Classe B - Type 08 (Produits d'animaux aquatiques)		
A. Poisson conditionné frais, congelé, fumé, salé ou crustacés (sauf les huîtres)	Prélever 12 sous-échantillons au hasard. La taille du sous-échantillon est de 1 kg minimum.	1000 g
B. Poisson en vrac 500 g à 1,5 kg.	Prélever 12 sous-échantillons au hasard. Chaque échantillon devra représenter un total de 500 g de poisson comestible.	1000 g
C. Crustacés en vrac	Prélever 12 sous-échantillons au hasard.	1000 g
D. Autres produits à base de poisson et de crustacés (y compris les huîtres)	Prélever 12 sous-échantillons	1000 g
VIII. Classe E - Type 17 (Produits dérivés comestibles d'origine animale aquatique)		
A. Produits à base de poisson et de crustacés en conserve (sauf les huîtres)	Prélever 12 sous-échantillons de 5 boîtes par sous-échantillon.	1000 g
B. Autres produits à base de poisson et de crustacés - farine et poudre de poisson	Employer le barème d'échantillonnage. Prélever 1 kg par sous-échantillon.	1000 g

Annexe B**ÉCHANTILLONNAGE EN VUE DU CONTRÔLE DES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS
VÉTÉRINAIRES DANS LE MIEL****1. OBJECTIF**

47. Fournir des instructions pour l'échantillonnage d'un lot de miel, en vue d'en vérifier la conformité avec les limites maximales de résidus du Codex pour les médicaments vétérinaires (LMRMV).

2. DEFINITIONS**2.1 Lot**

48. Quantité identifiable de produits alimentaires (miel) livrés en une seule fois pour la distribution et ayant été déterminée comme possédant des caractéristiques communes, telles que l'origine, la variété, le type d'emballage, l'emballer ou l'expéditeur, ou les marques, par le responsable de l'échantillonnage. Plusieurs lots peuvent constituer une expédition.

2.2 Expédition

49. Quantité de produits alimentaires (miel) décrits sur le document de bord d'un entrepreneur de transport. Les lots d'une même expédition peuvent avoir différentes origines ou être livrés à différents moments.

2.3 Échantillon primaire

50. Quantité de produit alimentaire (miel) prélevée en un seul et même point du lot, à moins que cette quantité ne soit pas suffisante pour pratiquer l'analyse des résidus. En ce cas, des échantillons prélevés en plusieurs points du lot pourront être combinés pour constituer l'échantillon primaire.

2.4 Échantillon en vrac

51. Total combiné de l'ensemble des échantillons primaires prélevés sur le même lot.

2.5 Échantillon définitif (de laboratoire)

52. Échantillon primaire ou échantillon en vrac, ou une portion représentative d'un échantillon primaire ou d'un échantillon en vrac, à utiliser pour une analyse de laboratoire.

2.6 Portion d'échantillon de laboratoire

53. Portion représentative de l'échantillon définitif (de laboratoire) destinée à l'analyse de laboratoire. L'échantillon de laboratoire peut être utilisé entier pour l'analyse mais sera généralement subdivisé en portions représentatives pour l'analyse.

3. DENRÉES AUXQUELLES S'APPLIQUE LA DIRECTIVE**3.1 Denrées sélectionnées en fonction de leur origine**

54. Miel de fleurs ou de nectar provenant principalement des nectars de fleurs.

55. Miel de miellat provenant principalement des sécrétions des parties vivantes des plantes ou se trouvant sur celles-ci.

3.2 Denrées sélectionnées en fonction du mode de traitement

56. Miel en rayons entreposé par les abeilles dans les alvéoles de rayons sans couvain récemment construits et vendu en rayons entiers ou sections de rayon sous emballage hermétique.

57. Miel centrifugé obtenu par centrifugation d'alvéoles sans couvain et décalottés.

58. Miel pressé obtenu par pression des alvéoles sans couvain avec ou sans application d'un procédé thermique modéré.

4. PRINCIPE RETENU

59. Aux fins du contrôle, la limite maximale de résidus (LMRMV) s'applique à la concentration de résidus constatée dans chaque échantillon définitif de laboratoire prélevé sur un lot. Le lot est réputé conforme à la LMRMV du Codex lorsqu'aucun des échantillons définitifs de laboratoire n'a une teneur en résidu supérieure à la LMRMV.

5. EMPLOI DE PERSONNEL AGRÉÉ POUR PRATIQUER L'ÉCHANTILLONNAGE

60. Les échantillons doivent être prélevés par des fonctionnaires agréés.

6. PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE

6.1 Produit à échantillonner

61. Chaque lot à examiner doit être échantillonné séparément.

6.2 Précautions à prendre

62. Au cours du prélèvement et de la transformation, il conviendra d'éviter toute contamination ou autres altérations des échantillons qui seraient de nature à modifier le résidu, à influencer sur le travail d'analyse ou à rendre l'échantillon définitif (de laboratoire) non représentatif de l'échantillon en vrac.

6.3 Prélèvement d'un échantillon primaire

63. Les quantités à prélever sont fonction du mode opératoire retenu. Les quantités minimales ainsi que des instructions détaillées pour le prélèvement d'un échantillon primaire de miel figurent au paragraphe 9. On trouvera ci-dessous des instructions générales.

- a. Chaque échantillon primaire devrait être prélevé sur une seule unité du lot, si possible de manière aléatoire.
- b. Un produit emballé ne devrait être ouvert pour procéder à l'échantillonnage que si la taille de l'unité représente au moins le double de la quantité requise pour constituer l'échantillon définitif (de laboratoire). L'échantillon primaire devrait contenir une portion représentative du produit. Chaque échantillon devrait être préparé pour l'analyse conformément aux instructions du paragraphe 6.5.

6.4 Nombre d'échantillons primaires à prélever sur un lot

64. Le nombre d'échantillons primaires prélevés variera en fonction du statut du lot. Si l'on suspecte une non conformité à la réglementation sur les résidus du fait que le produit provient d'une source ayant des antécédents de résidus non conformes aux LMRMV, que l'on a lieu de soupçonner une contamination en cours de transport, ou que d'autres informations pertinentes sont venues à la connaissance du fonctionnaire chargé de l'inspection, le lot sera réputé suspect. S'il n'y a pas lieu de suspecter d'altération, le lot sera réputé non suspect.

6.5 Préparation de l'échantillon primaire

65. L'échantillon primaire est préparé comme il est prescrit au paragraphe 9.

6.6 Préparation de l'échantillon définitif (de laboratoire)

66. L'échantillon primaire (ou les échantillons primaires réunis en un échantillon en vrac) devrait, si possible, constituer l'échantillon définitif (de laboratoire). L'échantillon définitif (de laboratoire) devrait être soumis au laboratoire pour analyse. Si l'échantillon primaire (ou les échantillons primaires réunis en un échantillon en vrac) est trop volumineux, un sous-échantillon représentatif devrait être préparé. Certaines législations nationales exigent que l'échantillon définitif soit subdivisé en deux portions ou plus aux fins d'analyse séparée. Chaque portion devrait être représentative de l'échantillon définitif. Les précautions décrites au paragraphe 6.2 devraient être observées.

6.7 Préparation de la portion de l'échantillon de laboratoire

67. La portion de l'échantillon de laboratoire devrait être préparée à partir de l'échantillon définitif (de laboratoire) au moyen d'une méthode de réduction convenable.

6.8 Conditionnement et envoi des échantillons définitifs (de laboratoire)

68. Chaque échantillon devrait être placé dans un récipient propre et chimiquement inerte pour le protéger de toute contamination et éviter qu'il ne soit endommagé en cours d'expédition.

69. Le récipient devrait être scellé de façon à pouvoir déceler toute effraction.

70. Le récipient devrait être transmis au laboratoire le plus rapidement possible, une fois prises les précautions qui s'imposent pour prévenir toute fuite ou avarie.

71. Certaines législations nationales ou réglementations administratives requièrent que l'on conserve des doubles des portions d'échantillons définitifs (de laboratoire). Dans ce cas, l'échantillon doit être conservé dans un récipient propre, chimiquement inerte pour le protéger de toute contamination, scellé de manière à pouvoir déceler toute effraction et entreposé dans des conditions telles que le produit ou les résidus qu'il pourrait contenir ne puissent s'être modifiés au moment où il faudrait faire une analyse ultérieure à des fins de comparaison avec des résultats d'analyse d'un échantillon soumis au laboratoire.

7. DOCUMENTATION

72. Chaque échantillon primaire ou en vrac et chaque échantillon définitif (de laboratoire) devrait être convenablement décrit dans un document précisant la nature de l'échantillon, son origine (par ex., pays, État ou ville), le lieu du prélèvement, la date de l'échantillonnage, ainsi que tous renseignements supplémentaires que l'analyste ou l'administration chargée de la réglementation pourrait requérir en vue de prendre les mesures qui pourraient s'imposer.

8. ÉCART PAR RAPPORT AUX PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE RECOMMANDÉES

73. Tout écart par rapport aux procédures d'échantillonnage recommandées devrait être signalé dans la documentation accompagnant l'échantillon, les modes opératoires effectivement mis en œuvre devant être très précisément décrits.

9. INSTRUCTIONS D'ÉCHANTILLONNAGE

Miel liquide ou filtré

74. Si l'échantillon est exempt de grumeaux, bien le mélanger en le remuant au moyen d'une spatule ou en l'agitant ; s'il présente des grumeaux, placer le récipient fermé dans un bain-marie, sans l'immerger complètement, et chauffer pendant 30 minutes à 60°C ; si nécessaire, porter la température à 65°C jusqu'à la liquéfaction. Il est important de continuer à agiter de temps en temps. Mélanger soigneusement et refroidir rapidement dès que l'échantillon est liquide. En cas de présence de corps étrangers, tels que cire, brindilles, abeilles, particules de rayon, chauffer l'échantillon à 40°C dans un bain-marie et le filtrer au travers d'une étamine placée dans un entonnoir avant de prélever l'échantillon.

75. Recueillir 250 ml de miel liquide ou filtré.

9.2 Miel en rayons

76. Si le rayon est scellé, pratiquer une incision à travers la partie supérieure du rayon et séparer complètement le miel du rayon en le filtrant au moyen d'un tamis dont les ouvertures sont formées de carrés de 0,500 mm sur 0,500 mm de côté (ISO 565-1983)². Si des particules de rayon ou de cire passent au travers du tamis, chauffer l'échantillon comme indiqué au paragraphe 9.1 et filtrer dans une étamine. Si le miel présente des grumeaux dans le rayon, chauffer jusqu'à ce que la cire soit liquéfiée ; remuer, refroidir et enlever la cire.

77. Recueillir 250 ml de miel liquide.

² Ce tamis pourrait être remplacé par un tamis de fabrication américaine répondant à la norme de filtre N°40 (taille d'ouverture de 0,420 mm).

PARTIE II - CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES MÉTHODES D'ANALYSE EN VUE DU CONTRÔLE DES RÉSIDUS

II.1. INTRODUCTION

78. Les méthodes d'analyse employées pour déterminer la conformité aux LMRMV devraient pouvoir être régulièrement utilisées par les autorités compétentes des gouvernements membres dans le cadre de leurs programmes de recherche des résidus de médicaments vétérinaires et de substances qui pourraient être utilisées comme médicaments vétérinaires, comme c'est le cas de certains pesticides, pouvant être présents dans les denrées alimentaires qui sont de la compétence du présent Comité du Codex. Ces méthodes peuvent être utilisées, soit pour analyser des échantillons sélectionnés de manière aléatoire dans le cadre d'un programme de contrôle réglementaire national destiné à déterminer la conformité aux LMRMV établies, soit pour analyser des échantillons recherchés lorsqu'il existe des raisons de suspecter une non-conformité aux LMRMV, ou pour évaluer l'exposition du consommateur à des résidus par le biais d'aliments.

79. Certaines méthodes peuvent aussi être requises par des programmes de contrôle réglementaire pour la détection de résidus de substances pour lesquelles la Commission du Codex Alimentarius n'a pas établi de DJA ni de LMRMV. Pour certaines substances, l'évaluation toxicologique aboutit à la conclusion qu'il ne faut pas établir de DJA ni de LMRMV. Pour ces substances, les points importants de la méthode de validation sont de déterminer la concentration la plus faible de résidu détectable, et son identification dans un aliment. Dans ces cas, où la détection et la confirmation de la présence d'un résidu de substance sont le point crucial, les caractéristiques de performance liées aux analyses quantitatives sont moins importantes. La confirmation de l'identité d'un résidu est généralement obtenue en comparant un ensemble de caractéristiques de la substance détectée aux caractéristiques connues et étalonnées du résidu suspecté.

80. Les combinaisons de résidus de médicaments vétérinaires et d'aliments qui relèvent de la compétence du CCRVDF sont innombrables et il ne peut y avoir pour chacune une méthode dûment validée. Les autorités chargées de mettre en place des programmes nationaux de contrôle de résidus devraient faire en sorte qu'on utilise les méthodes d'analyse adéquates pour vérifier la conformité aux LMRMV du Codex. Pour y arriver, il faudra parfois mettre au point et valider une nouvelle méthode d'analyse, ou étendre la validation d'une méthode d'analyse existante, de manière à y inclure une nouvelle combinaison de substances à doser et une matrice. On pourra alors prendre des dispositions réglementaires au sujet des produits altérés, correspondant à la fiabilité des données analytiques.

II.2 INTÉGRATION DES MÉTHODES D'ANALYSE POUR LE CONTRÔLE DES RÉSIDUS

81. Les méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments doivent être capables de déceler sans risque d'erreur la présence d'une certaine substance à doser, d'en déterminer la concentration, et d'identifier correctement la substance recherchée. Lorsque des résidus de médicaments vétérinaires approuvés sont détectés à des concentrations supérieures à la limite maximale de résidus (LMRMV), les résultats devraient être confirmés avant de prendre les mesures prévues par la réglementation. Dans le cas de substances dont l'utilisation sur les animaux destinés à l'alimentation a été interdite par une autorité compétente en la matière, ou pour lesquelles on n'a pas établi de DJA ni de LMRMV, la confirmation de la présence de résidus dans une denrée alimentaire, quelle qu'en soit la concentration, peut donner lieu à des mesures réglementaires.

82. Les principales caractéristiques de performance des méthodes d'analyse utilisées dans les programmes de contrôle des résidus varient selon le but poursuivi : dépister, quantifier ou confirmer la présence d'un résidu donné. Le CCRVDF a désigné trois catégories de méthodes à utiliser par les programmes réglementaires de contrôle de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. Une méthode peut être reconnue comme faisant partie d'une de ces trois catégories sans avoir fait l'objet d'une étude complète de collaboration¹.

¹ W. Horwitz, 1995. Protocole pour la conception, l'exécution et l'interprétation des études de performance des méthodes. *Pure and Applied Chemistry*, 67 : 331-343.

83. Les méthodes de Type III sont de nature qualitative ou semi-quantitative et sont utilisées comme méthodes de dépistage pour identifier la présence (ou l'absence), dans des échantillons provenant d'un troupeau ou d'un groupe d'animaux, de résidus excédant une LMRMV ou toute autre limite réglementaire fixée par une autorité compétente. Ces méthodes peuvent ne pas être suffisantes pour déterminer avec précision la concentration du résidu, ni pour confirmer sa structure, mais elles peuvent être utilisées pour déterminer rapidement quels sont les produits qu'il faut analyser à nouveau et quels sont ceux que l'on accepte. On peut les appliquer à un échantillon au point d'entrée dans la chaîne alimentaire, à un point d'inspection ou lorsqu'on reçoit au laboratoire un échantillon dans le but de déterminer s'il contient des résidus qui pourraient excéder une limite réglementaire. Les méthodes de dépistage offrent un meilleur rendement à l'analyse, peuvent parfois être effectuées en dehors du laboratoire et reviendront souvent moins cher aux programmes de contrôle que s'il fallait conduire l'ensemble des essais au laboratoire. Le recours aux méthodes de Type III permet au laboratoire de consacrer davantage de temps à l'analyse des prises d'essai présumées positives (suspectes) lors du dépistage. Ces méthodes, qui devraient avoir un taux d'erreur très faible, ne devraient pas être utilisées seules quand il s'agit de contrôler des échantillons officiels ; il faudrait disposer en parallèle de méthodes quantitatives et/ou de confirmation, validées comme il convient, applicables à tout échantillon identifié comme pouvant être non conforme à une LMRMV.

84. Les méthodes de Type II fournissent des renseignements quantitatifs qui peuvent être utilisés pour déterminer si des résidus dans un échantillon donné excèdent une LMRMV ou une autre limite réglementaire, mais ne confirment pas de manière non équivoque l'identité du résidu. Les méthodes qui donnent des résultats quantitatifs doivent être appliquées avec un bon contrôle statistique dans une fourchette d'analyse qui couvre les LMRMV ou la limite réglementaire.

85. Les méthodes de Type I confirment de manière non équivoque l'identité du résidu ; elles peuvent aussi en confirmer la quantité. Ce sont les méthodes les plus sûres ; elles reposent souvent sur des techniques combinées de chromatographie et de spectrométrie de masse, telle que la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (CL/SM). Ces méthodes, quand elles servent à confirmer l'identité d'un résidu, devraient donner des renseignements structurels dans des limites statistiques données. Si la méthode de Type I ne donne pas de renseignements quantitatifs, il faut vérifier les résultats quantitatifs provenant de la méthode de Type II utilisée en premier lieu en effectuant une analyse des répliques des portions de laboratoire selon la méthode quantitative d'origine ou selon une autre méthode quantitative qui a été validée.

86. Ces trois catégories de méthodes - de confirmation, quantitatives et de dépistage - ont fréquemment en commun un ensemble de caractéristiques de performance décrites plus haut. En outre, elles peuvent présenter d'autres caractéristiques spécifiques. Il importe de bien comprendre les rapports entre ces trois catégories de méthodes pour pouvoir élaborer un programme équilibré de contrôle des résidus et en assurer le bon fonctionnement. Dans un programme de contrôle de résidus, on peut appliquer successivement les méthodes de ces trois catégories.

87. Les échantillons révélés « positifs » par l'analyse selon une méthode de Type III sont considérés comme suspects et généralement désignés pour être réanalysés selon des méthodes plus rigoureuses. Ce pourrait être par une nouvelle analyse des répliques de portions de laboratoire selon une méthode de Type III, mais, en général, on utilise des méthodes de Type II et/ou de Type I pour établir que l'échantillon contient bien des résidus excédant la limite réglementaire. Ces nouvelles analyses devraient être effectuées sur de nouvelles portions de l'échantillon utilisé dans le test de dépistage initial pour confirmer que la substance détectée dans le test initial est bien la substance suspectée et que la LMRMV (ou autre limite réglementaire) est effectivement dépassée. Les caractéristiques de performance, qui doivent être déterminées lors de la validation pour chaque type de méthode - de dépistage, quantitative et de confirmation - sont exposées à la PARTIE III : CARACTERISTIQUES DES METHODES D'ANALYSE POUR LA RECHERCHE DES RESIDUS DE MEDICAMENTS VETERINAIRES DANS LES ALIMENTS.

II.3 CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU CHOIX ET A LA VALIDATION DES MÉTHODES D'ANALYSE

II.3.1 IDENTIFICATION DES PRESCRIPTIONS DES METHODES

II.3.1.1 Champ d'application de la méthode

88. L'objectif de la méthode est habituellement énoncé dans un texte sous la dénomination de *champ d'application* qui définit les substances recherchées (résidus), les matrices (tissus, lait, miel, etc.) et les taux de concentration auxquels s'applique la méthode. Le champ d'application spécifie également si la méthode est destinée à des fins de dépistage, de quantification ou de confirmation. L'autorité compétente doit établir un *résidu marqueur* pour chaque médicament pour lequel une LMRMV a été fixée et devrait aussi désigner le *tissu cible* à analyser en priorité.

II.3.1.2 Résidu marqueur

89. La LMRMV est exprimée en termes de résidu marqueur ; le résidu marqueur peut être la substance parentale, un métabolite important, la somme de la substance parentale et/ou de métabolites, ou un produit formé à partir des résidus de médicament pendant l'analyse. Dans certains cas, la substance parentale ou le métabolite peut se trouver sous la forme de résidus liés qui doivent subir un traitement chimique ou enzymatique, ou une incubation, pour être libérés pour analyse. Il est important que le résidu marqueur fournisse, dans la mesure du possible, une preuve non équivoque d'exposition au médicament. Il existe des cas rares où il est nécessaire d'utiliser comme résidus marqueurs des substances qui pourraient provenir d'autres sources que l'exposition au médicament. Dans ces cas, il faut une information complémentaire qui confirme que c'est bien l'exposition au médicament qui est à la source du résidu. L'emploi de la semi-carbazide comme résidu marqueur de la nitrofurazone (médicament) illustre ce cas, la semi-carbazide pouvant aussi provenir d'autres sources.

II.3.1.3 Tissu cible

90. Le tissu cible habituellement choisi par les autorités compétentes pour la recherche de résidus de médicaments vétérinaires dans le cadre d'un programme de contrôle des résidus de médicaments vétérinaires est le tissu comestible dans lequel les résidus du marqueur se trouvent le plus souvent et en plus forte concentration. Pour les substances lipophiles, le tissu cible est généralement la graisse. Pour la plupart des autres substances, le tissu cible est le foie ou le rein, selon la principale voie d'élimination. C'est un de ces derniers qui est habituellement désigné comme tissu cible pour les produits indigènes d'origine animale. Pour les produits importés, si les tissus d'organes ne sont pas disponibles pour analyse, on peut désigner le tissu musculaire comme tissu cible. Dans certains cas, par exemple lorsque les médicaments sont normalement administrés par injection, on peut demander une analyse de tissu musculaire prélevé aux endroits suspectés d'injection. Le directeur du programme de contrôle et les directeurs de laboratoire doivent clairement identifier les objectifs de l'analyse et les exigences d'analyse en ce qui concerne les tissus cibles, les résidus marqueurs et les taux de concentration, afin que le programme de contrôle fasse appel aux méthodes d'analyse adéquates. Dans certains cas, les autorités compétentes peuvent aussi utiliser des fluides biologiques, comme l'urine ou du sérum, pour détecter la présence ou l'absence de résidus significatifs.

II.3.2 MISE EN OEUVRE DES DIRECTIVES DE LA COMMISSION DU CODEX ALIMENTARIUS

91. La Commission du Codex Alimentarius a fourni des directives pour les laboratoires chargés du contrôle des importations et des exportations de denrées alimentaires². Il s'agit notamment des recommandations spécifiant que ces laboratoires doivent :

- a. utiliser des procédures de contrôle interne de la qualité conformes aux Directives harmonisées pour le contrôle interne de la qualité dans les laboratoires d'analyse chimique³ ;
- b. participer à des programmes d'essais d'aptitude appropriés et réalisés conformément au Protocole international harmonisé pour les essais d'aptitude des laboratoires d'analyse (chimique)⁴ ;

- c. suivre les critères généraux pour les laboratoires d'essais figurant dans le Guide ISO/CEI -17025 : Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais⁵ de 1999 ;
- d. chaque fois que possible, appliquer des méthodes d'analyse qui ont été validées conformément aux principes établis par la Commission du Codex Alimentarius.

92. Les méthodes utilisées pour l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments devraient pouvoir détecter les composés contenus dans le programme de contrôle des résidus dans les denrées alimentaires avec la récupération de la substance par l'analyse et une précision qui répond aux critères énoncés dans d'autres parties de ce document, et que les méthodes sont utilisées dans le cadre d'un système établi d'assurance de la qualité du laboratoire qui est conforme aux principes énoncés dans le document sur le contrôle interne de la qualité mentionné ci-dessus. Lorsque les méthodes qui n'ont pas été soumises à une étude multilaboratoires des performances sont utilisées dans le cadre d'un programme réglementaire de contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, les procédures de contrôle de qualité et d'assurance de qualité appliquées à ces méthodes requièrent une définition, une mise en œuvre et un suivi précis. Dans le cas de méthodes qui ont été soumises à une étude multilaboratoires, les caractéristiques de performance, comme la récupération et la fidélité, sont définies par les résultats obtenus au cours de l'étude. Pour une méthode validée au sein d'un seul laboratoire, des données doivent être produites pour définir les caractéristiques de performance attendues de la méthode lorsqu'elle est utilisée dans ce laboratoire. Les performances en cours doivent alors être surveillées via le système de qualité en place dans le laboratoire.

II.3.3 VALIDATION DE LA METHODE ET APTITUDE AU BUT POURSUIVI

93. Le processus de validation d'une méthode est destiné à démontrer que la méthode est *apte au but poursuivi*. Ceci signifie qu'un analyste de laboratoire bien formé qui utilise l'équipement et les matériaux spécifiés et qui suit les procédures décrites dans la méthode lorsqu'il effectue l'analyse d'un échantillon, peut obtenir des résultats fiables et pertinents, dans les limites statistiques spécifiées. La validation concerne aussi les questions de résidus marqueurs, de tissus cibles et de taux de concentration identifiés par le laboratoire conjointement avec le directeur du programme de contrôle des résidus. Si le protocole de la méthode est respecté et fait appel à des normes d'analyse adéquates, des analystes professionnels devraient obtenir des résultats pour un même échantillon ou pour un échantillon équivalent, dans les limites de performance établies, quel que soit le laboratoire de contrôle des résidus.

94. Les études multilaboratoires destinées à mesurer les performances des méthodes satisfont généralement aux impératifs d'analyse pour être utilisées dans un programme réglementaire. Ces études sont pratiquées par des analystes dans des laboratoires indépendants, de sorte que les participants utilisent des sources de réactifs, des matériaux et un équipement différents.

95. Les méthodes quantitatives faisant appel à une étude en collaboration selon le protocole harmonisé révisé adopté en 1995 par l'AOAC, l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA) et l'Organisation internationale de normalisation (ISO) ont été soumises à une évaluation dans huit laboratoires au moins, sauf lorsqu'un équipement très complexe ou d'autres exigences inhabituelles ont été identifiés (dans quels cas, il faut la participation de cinq laboratoires au moins).

² CAC/GL 27-1997. Directives pour l'évaluation des compétences des laboratoires d'essais chargés du contrôle des importations et des exportations de denrées alimentaires.

³ M. Thompson et R. Wood, 1995. Directives harmonisées pour le contrôle interne de la qualité dans les laboratoires d'analyse chimique. *Pure and Applied Chemistry*, 67 : 649-666.

⁴ M. Thompson et R. Wood, 1993. Protocole international harmonisé pour les essais d'aptitude des laboratoires d'analyse (chimique). *Pure and Applied Chemistry*, 65 : 2132-2144.

⁵ La directive d'origine CAC/GL 27 se référait au Guide ISO/CEI 25 : Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais. Organisation internationale de normalisation, Genève. Ce guide a été remplacé par le document ISO/CEI-17025 : Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais. Organisation internationale de normalisation, Genève (1999).

Les études en collaboration des méthodes qualitatives requièrent actuellement la participation de dix laboratoires au moins. Les méthodes faisant appel à une étude en collaboration réalisée avant 1995 ont été soumises avec succès à une évaluation dans six laboratoires au moins dans le cadre d'une étude acceptable, obéissant à un dispositif statistique. Les études multilaboratoires sur les performances des méthodes satisfont généralement aux impératifs d'analyse pour être utilisées dans un programme réglementaire, car les informations précieuses sur les performances des méthodes dont disposent différents analystes de différents laboratoires sont obtenues par le biais de ces études. Cependant, relativement peu de méthodes d'analyse actuellement utilisées par les programmes de contrôle des résidus ont été validées par une étude multilaboratoires. Les études multilaboratoires et en collaboration de méthodes se fondent sur les analyses de répliques codées d'échantillons qui recouvrent les combinaisons de substances à analyser, matrices et concentrations faisant partie du champ d'application de la méthode et doivent être revues de manière indépendante par un scientifique de même rang, tant en ce qui concerne la conception de l'étude que les résultats. Dans certains cas, on peut mener des études multilaboratoires sans atteindre le nombre minimum de laboratoires requis pour qu'il s'agisse d'une étude en collaboration. De telles études, si elles sont menées en utilisant les mêmes principes scientifiques de conception, d'évaluation et d'examen que ceux qui sont appliqués dans les études en collaboration, peuvent fournir des renseignements utiles sur la performance des méthodes employées par un grand nombre d'analystes dans différents laboratoires, mais n'ont pas le même degré de confiance statistique que celui d'une étude en collaboration de méthodes.

96. Les études multilaboratoires et en collaboration de méthodes ne couvrent généralement pas toutes les combinaisons possibles de résidus, tissus et espèces auxquelles la méthode peut être appliquée par la suite. Ces méthodes peuvent être étendues à d'autres substances à analyser, à d'autres tissus, espèces, produits (ou combinaisons de tissus, etc. ne figurant pas dans l'étude multilaboratoires originale) moyennant des études de laboratoire supplémentaires conçues dans les règles et réalisées au sein du laboratoire. Cas par cas, les résultats d'analyse fournis par les études faisant ainsi appel à une extension de la méthode pourront requérir un complément d'analyse et/ou un réexamen avant d'être utilisés dans un programme réglementaire. Chaque fois que possible, les résultats d'analyse obtenus en utilisant des méthodes qui n'ont pas été validées au moyen d'une étude interlaboratoires traditionnelle doivent être comparés avec les résultats obtenus en utilisant une méthode qui a été validée au moyen d'une étude multilaboratoires ou testée avec des échantillons provenant d'un programme reconnu comme efficace. La comparaison doit se baser sur un dispositif d'études statistiquement acceptable faisant appel à des portions des mêmes échantillons (homogènes). Les données obtenues au moyen de ces études devraient être revues de manière indépendante par un tiers qualifié (comme une unité de AQ, un groupe de scientifiques de même rang, des auditeurs d'un organisme d'accréditation national) afin de déterminer la comparabilité des performances des différentes méthodes.

97. Certaines des méthodes de contrôle de résidus qui ont fait la preuve de leur utilité lorsqu'il s'agit de déterminer la conformité aux LMRMV ont un caractère historique. Ces méthodes « historiques », jugées les plus satisfaisantes lorsqu'on a commencé à les utiliser dans un but réglementaire, sont restées en usage pendant une période assez longue faute de méthodes validées plus efficaces ou parce qu'elles sont restées un premier choix pour des raisons qui peuvent englober des considérations telles que la technologie facilement disponible, le coût, la fiabilité ou l'adéquation pour un usage dans le cadre des limites d'un programme national. Bien qu'il manque des preuves d'une étude officielle multilaboratoires ou en collaboration de méthodes de laboratoires, les performances des méthodes ont été démontrées par leur utilisation avec succès dans différents laboratoires au fil du temps.

98. La plupart des laboratoires réglementaires doivent se baser sur l'utilisation de méthodes de recherche de résidus de médicaments vétérinaires qui n'ont pas fait l'objet d'une étude interlaboratoires. Les facteurs qui ont contribué à cette situation englobent le fait qu'elles font appel à des compétences ou à un équipement spécialisé, le coût de ces études, le manque de laboratoires adéquats participants, l'instabilité des échantillons et/ou des substances à analyser et les technologies en rapide mutation. Si pendant de nombreuses années, l'élément central de l'équivalence des résultats d'analyse était l'utilisation de méthodes normalisées qui présentaient des caractéristiques de performance définies sur la base d'une étude en collaboration, les laboratoires accrédités travaillent aujourd'hui dans un milieu où c'est le laboratoire individuel qui doit prouver que les méthodes utilisées et les résultats d'analyse obtenus répondent aux critères de performance établis en consultation avec un client. En l'absence de méthodes validées par des études interlaboratoires, les laboratoires de contrôle réglementaires doivent utiliser fréquemment des méthodes d'analyse qui ont été soumises à des études de validation menées dans leur propre laboratoire pour mesurer les performances des méthodes.

II.3.4 VALIDATION PAR UN LABORATOIRE UNIQUE – APPROCHE PAR CRITERES

99. Un document d'orientation sur la validation des méthodes par un laboratoire unique, « Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique », a été publié comme un rapport technique par l'Union internationale de chimie pure et appliquée⁶. Les prescriptions pour l'utilisation de la validation des méthodes par un laboratoire unique aux fins du Codex ont également été examinées par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage⁷. Le Manuel de procédure⁸ reconnaît que des méthodes interlaboratoires validées ne sont pas toujours disponibles ou applicables, en particulier dans le cas de méthodes multi-substances/multi-substrats et de nouvelles substances à analyser. Dans ces cas, les méthodes peuvent être validées par un laboratoire unique de manière à répondre aux Critères généraux de sélection des méthodes d'analyse, ainsi qu'aux critères supplémentaires suivants :

- a. la méthode est validée conformément à un protocole reconnu au plan international (par exemple, le protocole UICPA « Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique » mentionné ci-dessus) ;
- b. l'utilisation de la méthode est intégrée dans un système d'assurance qualité en conformité avec les normes du document ISO/CEI 17025 (1999) ou avec les Principes de bonnes pratiques de laboratoire ;
- c. la méthode devrait être complétée par des renseignements attestant son exactitude, par exemple :
 - i) participation systématique à des essais d'aptitude, le cas échéant ;
 - ii) étalonnage en utilisant des matériaux de référence certifiés, le cas échéant ;
 - iii) études de récupération effectuées à la concentration attendue des substances analysées ;
 - iv) vérification du résultat selon une autre méthode validée, si disponible.

100. L'approche par critères, qui combine un modèle de validation par un laboratoire unique à des méthodes respectant des spécifications de performance données, a été adoptée par quelques autorités réglementaires, telles que la Commission européenne⁹.

⁶ M. Thompson, S.L.R. Ellison et R. Wood (2002) Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique. *Pure and Applied Chemistry*, 74 : 835-852.

⁷ CX/MAS 02/11

⁸ FAO/OMS 2004. Manuel de procédure de la Commission du Codex Alimentarius, 14^e édition, Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.

⁹ Décision de la Commission 2005/34/CE établissant des normes harmonisées pour les tests de détection de certains résidus dans les produits d'origine animale importés des pays tiers, *Journal officiel de l'Union européenne*, 20 janvier 2005.

PARTIE III – CARACTÉRISTIQUES DES MÉTHODES D'ANALYSE POUR LA RECHERCHE DES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES DANS LES ALIMENTS

III.1 INTRODUCTION

101. Les caractéristiques de performance des méthodes d'analyse destinées à vérifier la conformité aux LMRMV doivent être définies, les méthodes proposées étant évaluées en conséquence. Cela garantira des résultats d'analyse fiables et fournira une base solide pour la détermination des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires faisant l'objet d'un commerce international. La Partie II, *Considérations générales sur les méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus*, envisage les principaux types ou catégories de méthodes réglementaires et propose un schéma d'utilisation de ces méthodes d'analyse en fonction de l'objectif qui leur est assigné dans un cadre réglementaire. Dans la discussion qui suivra, les caractéristiques communes aux trois catégories de méthodes permettant de déterminer la conformité aux LMRMV du Codex, désignées sous les noms de méthodes de Type I, Type II et Type III, seront présentées, et suivies des caractéristiques supplémentaires qui ne s'appliquent qu'à une ou deux catégories de méthodes seulement. (**Remarque** : Cette partie contient de nombreuses définitions. Le CCRVDF s'est efforcé d'harmoniser ces définitions avec celles figurant dans les Définitions aux fins du Codex Alimentarius du Manuel de procédure et avec celles du Comité d'experts mixte FAO/OMS sur les additifs alimentaires pour l'évaluation des risques de résidus de médicaments vétérinaires et des méthodes d'analyse).

III.2 CONSIDÉRATIONS RELATIVES A LA MISE AU POINT DES MÉTHODES

102. Pour mettre au point une méthode d'analyse, il faut des analystes ayant de l'expérience dans les techniques d'analyse à utiliser, des installations de laboratoire, du matériel et une aide financière. Avant de commencer à élaborer une méthode, il importe de constituer un dossier qui servira à justifier l'élaboration d'une méthode d'analyse dans le cadre d'un programme de contrôle des résidus et qui mentionnera la finalité et la nécessité du projet, ainsi que les paramètres de performance de la méthode retenue. Parmi les autres considérations à retenir, il faut citer le champ d'application nécessaire de la méthode (le composé ou la classe de composés à envisager ainsi que les types de matériel d'échantillon), les substances susceptibles d'interférer avec eux, les systèmes de mesure potentiels avec leurs propriétés, les propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influer sur les performances de la méthode, la spécificité du système d'analyse recherché et la manière dont elle sera déterminée, la stabilité de la substance à analyser et des réactifs, la pureté de ces derniers, les conditions opératoires à remplir pour satisfaire aux caractéristiques de performance de la méthode, les instructions à suivre pour la préparation des échantillons, les facteurs environnementaux susceptibles d'influer sur la performance de la méthode, les problèmes de sécurité et autres informations intéressant spécifiquement les besoins du programme. Il faut particulièrement évaluer la stabilité des étalons dans des conditions normales de stockage d'échantillons et pendant le traitement des échantillons. La stabilité de la substance à analyser dans des conditions normales de stockage d'échantillons avant l'analyse doit également être déterminée, y compris la période pendant laquelle un échantillon peut être stocké en attendant une nouvelle analyse éventuelle à des fins de confirmation.

103. La définition des caractéristiques de performance des méthodes est essentielle, puisque c'est grâce à l'application de ces méthodes que les agences de sécurité alimentaire disposeront des informations nécessaires à la mise au point et à la gestion de leurs programmes de santé publique. Les caractéristiques de performance des méthodes d'analyse serviront aussi de base à des prises de décision ultérieures en matière de planification, d'évaluation et de dispositions relatives aux produits. Elles fournissent au secteur de la santé des animaux une directive indiquant la performance à atteindre lors de l'élaboration de procédures d'analyse. Si les facteurs de performance des méthodes d'analyse sont bien définis, tout le monde en bénéficiera. Les prescriptions de performance d'une méthode varieront, selon que la méthode est utilisée à des fins de dépistage, de quantification ou de confirmation d'un résidu pour lequel des limites maximales de résidu ont été établies, ou pour des résidus de médicament pour lequel on n'a pas recommandé de DJA ni de LMRMV. Dans ce dernier cas, l'autorité compétente peut établir une norme de performance minimale à laquelle doivent satisfaire les méthodes d'analyse utilisées dans un but de contrôle réglementaire. Cependant, si des limites de sécurité de concentration de ces substances dans les aliments n'ont pas été fixées, l'autorité compétente peut réexaminer périodiquement ces limites pour s'assurer qu'elles reflètent bien les progrès technologiques et les aptitudes des analyses. Si des limites n'ont pas été formellement établies par l'autorité compétente, elles sont généralement établies *de facto* par le dispositif de dépistage des méthodes utilisées dans les laboratoires de contrôle réglementaire.

III.3 CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DES MÉTHODES D'ANALYSE

III.3.1 CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DES METHODES DE DEPISTAGE (TYPE III)

104. Les méthodes de dépistage sont généralement de nature qualitative ou semi-quantitative, et ont pour objectif de faire la distinction entre des échantillons ne contenant pas de résidus en quantité dépassant un seuil donné (échantillons « négatifs ») et des échantillons qui peuvent contenir des résidus dépassant ce seuil (échantillons « positifs »). Dès lors, la stratégie de validation consiste à établir un seuil de concentration au delà duquel les résultats sont « positifs », à déterminer statistiquement un taux pour les résultats « faux positifs » et « faux négatifs », à rechercher les interférences et à fixer des conditions d'utilisation appropriées.

105. Pour une analyse de dépistage, en particulier pour celles qui font usage de kits de dépistage, le terme « sensibilité » se réfère en général à la plus petite concentration à laquelle la substance à analyser recherchée peut être détectée avec certitude, dans des limites statistiques déterminées. Dans le *Performance Tested Program*TM de l'AOAC pour les kits de dépistage, elle est déterminée expérimentalement par le dépistage d'un minimum de 30 matériaux d'échantillons exempts de résidus fortifiés par la substance à analyser à la concentration recherchée. Les matériaux d'échantillons devraient provenir de six sources différentes au moins (autrement dit, cinq répliqués au moins pour chacune des six sources au moins), tous devant donner un résultat positif lorsqu'ils sont fortifiés à la concentration recherchée. Trois résultats négatifs ou plus constituent un échec du test de sensibilité. Si un ou deux résultats sont négatifs, l'expérience doit être répétée et deux résultats négatifs constitueraient alors un échec. L'expérience doit être répétée avec le matériau absorbé connu à la concentration recherchée, si ce matériau est disponible.

106. La *sélectivité* d'une méthode de dépistage est la capacité de la méthode à déterminer que les échantillons qui donnent un résultat négatif sont réellement négatifs. Le test de dépistage doit aussi pouvoir déterminer le ou les analyte(s) en présence d'interférences d'autres composants dans l'échantillon. Dans une méthode de dépistage, la sélectivité n'est pas aussi grande que dans une méthode quantitative, parce que les méthodes de dépistage s'appuient souvent sur des caractéristiques structurelles communes à un groupe ou à une catégorie de composants. Ces méthodes, qui appartiennent en général à la catégorie des méthodes de Type III, sont souvent fondées sur l'inhibition de la croissance microbiologique, des essais d'immunologie, ou des réactions chromogènes qui peuvent identifier un composant de manière non équivoque. On peut augmenter la sélectivité d'une méthode de dépistage en l'utilisant comme système de détection après une chromatographie ou une autre technique de séparation. Pour les tests de dépistage, on recommande un taux de sélectivité de 90% au moins, avec une certitude de 95%, et 30 analyses faites sur des matériaux d'échantillons à blanc provenant d'au moins six sources différentes. Tous les résultats devraient être négatifs. On peut ensuite faire des tests supplémentaires pour détecter des interférences potentielles en testant des matériaux d'échantillons à blanc fortifiés de substances interférentes potentielles, comme d'autres médicaments utilisés pour le traitement animal, des contaminants potentiels de l'environnement, des métabolites de médicament ou des substances de même nature chimique. Ici aussi, les résultats devraient être négatifs lorsque ces substances sont présentes à des taux de concentration auxquels on peut s'attendre normalement dans un échantillon.

107. La limite de détection d'une substance particulière est établie en menant des expériences de réaction à la concentration, généralement en utilisant 30 réplicats (provenant d'au moins 6 sources) fortifiés successivement à chacune des concentrations d'une série. Une fois qu'on a déterminé à quelle concentration les 30 réplicats donnent un résultat négatif et à quelle concentration les 30 réplicats donnent un résultat positif, l'expérience est répétée sur les matériaux d'échantillon à blanc fortifiés à quatre concentrations également réparties entre la concentration « tous négatifs » et la concentration « tous positifs ». Un jeu supplémentaire d'échantillons est testé à une concentration de 20% supérieure à la concentration « tous positifs ». L'analyse statistique des résultats permet d'établir une concentration de détection avec la certitude requise (en général 95%)¹⁰.

III.3.2 CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DES METHODES QUANTITATIVES (TYPE II)

108. La *sélectivité*, l'aptitude d'une méthode d'analyse à détecter et à distinguer le signal d'un composé en présence d'autres composés qui peuvent être présents dans l'échantillon revêt une importance particulière lors de la définition des caractéristiques de performance des méthodes utilisées dans des programmes de contrôle réglementaire des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. Deux aspects doivent être examinés : l'aptitude de la méthode à fournir un signal qui soit exempt d'éléments provenant de l'interférence d'autres composés pouvant être présents dans un échantillon ou un extrait d'échantillon et l'aptitude de la méthode à identifier sans équivoque un signal comme étant exclusivement lié à un certain composé. Pour une méthode de Type II, la prescription exige que le signal utilisé pour la quantification ne se rapporte qu'à la substance à analyser, sans interférences d'autres composés. Les analyses chromatographiques à base de pics donnent des résultats quantitatifs relativement peu fiables. L'emploi de détecteurs spécifiques de certains éléments, ou de détecteurs par ondes, ou de détecteurs par sélection de masse qui sont plus spécifiques d'un composé ou d'une structure particulière, combiné à une technique de séparation chromatographique, améliore la sélectivité des méthodes quantitatives de contrôle de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments.

109. En plus de la sélectivité, la méthode doit aussi être apte à fournir des résultats quantitatifs fiables. Cette aptitude est démontrée par les facteurs suivants :

- a. l'étroitesse de l'accord entre le résultat rapporté et une valeur de référence acceptée pour la concentration de substance à analyser présente dans l'échantillon, exprimée en termes de *justesse, vérité* ou *biais* et
- b. l'aptitude de la méthode à fournir des résultats identiques pour des essais répétés, exprimée en termes de *fidélité (répétabilité et reproductibilité)*.

¹⁰ D.J. Finney (1978) *Statistical Method in Biological Assay*, 3^e édition, MacMillan Publishing Co., New York.

110. Le CCRVDF a recommandé que les méthodes utilisées dans le cadre des LMRMV établies par la Commission du Codex Alimentarius soient conformes, en ce qui concerne la justesse et la précision, aux normes de performance figurant dans le tableau 1 ci-après, dans lequel CV_A exprime le coefficient de variation déterminé par les portions d'échantillons à blanc fortifiés avant extraction et CV_L la variabilité du laboratoire, qui comprend une estimation de 10% de variabilité dans le traitement des échantillons¹¹.

Tableau 1. Critères de performance que devraient observer les méthodes utilisées comme méthodes d'analyse quantitatives (Type II) pour mesurer les LMRMV de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments

Concentration µg/kg	Coefficient de variabilité (CV)				Justesse
	Répétabilité (dans un laboratoire, CV_A) %	Répétabilité (dans un laboratoire, CV_L) %	Reproductibilité (entre laboratoires, CV_A) %	Reproductibilité (entre laboratoires, CV_L) %	Pourcentage de récupération
≤ 1	35	36	53	54	50 -120
1 à 10	30	32	45	46	60 -120
10 à 100	20	22	32	34	70 -120
100 à 1000	15	18	23	25	70 -110
≥ 1000	10	14	16	19	70 - 110

111. La *justesse* d'une méthode peut être déterminée par l'analyse d'un matériau de référence certifié, en comparant ces résultats avec ceux obtenus en utilisant une autre méthode pour laquelle les caractéristiques de performance ont été auparavant rigoureusement établies (autrement dit, une méthode de référence reconnue) ou, en l'absence de matériaux ou méthodes de référence, en déterminant la récupération de la substance à analyser fortifiée dans le matériau d'échantillons à blanc connu. La détermination de la justesse en tant que récupération est fréquemment utilisée pour valider les méthodes d'analyse de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, car il arrive souvent qu'on ne dispose ni de matériaux de référence certifiés, ni de méthodes validées par des études interlaboratoires. La justesse d'une mesure est étroitement liée à *l'erreur systématique* (biais de la méthode d'analyse) et à la récupération de la substance à doser (mesurée en pourcentage de récupération). Le degré de justesse exigé des méthodes variera en fonction de l'utilisation que l'on entend faire des résultats dans le cadre de la réglementation. En règle générale, la justesse devrait être fixée à des concentrations proches de la LMRMV ou du niveau retenu pour une réglementation (en général de 0,5 à 2 fois le niveau retenu) pour faire en sorte que des mesures réglementaires ne soient prises que si des échantillons contiennent des résidus excédant les limites réglementaires, dans des limites statistiques de fiabilité.

¹¹ L. Alder, P.T. Holland, J. Lantos, M. Lee, J.D. MacNeil (président), J. O'Rangers, P. van Zoonen, A. Ambrus (secrétaire scientifique). 2000. Rapport de la Consultation d'experts AOAC/FAO/AIEA/UICPA sur la validation par un laboratoire unique de méthodes d'analyse pour des concentrations au niveau de trace de produits chimiques organiques, Miskolc, Hongrie, du 8 au 11 novembre 1999. Rapport publié en anglais sur le site Internet de l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) : http://www.iaea.org/trc/pest-qa_val2.htm (accès vérifié le 12/11/2005).

112. La *récupération* s'exprime sous forme de pourcentage de la substance à analyser déterminé par des expériences après fortification du matériau d'échantillons à une concentration connue et devrait être évaluée à des concentrations qui couvrent la fourchette d'analyse de la méthode. Lorsqu'on interprète les pourcentages de récupération, il faut bien savoir que la substance à analyser ajoutée intentionnellement à un échantillon ne se comportera pas nécessairement de la même manière que cette même substance absorbée par la voie biologique (résidu de médicament vétérinaire). Dans de nombreux cas, la quantité d'un résidu absorbé qui est extraite (le produit ou la fraction récupérée) est inférieure au total des résidus absorbés présents, du fait de pertes pendant l'extraction, de la liaison intracellulaire des résidus, de la présence de conjugués ou d'autres facteurs qui ne sont pas entièrement représentés par des expériences de récupération réalisées avec des blancs fortifiés de substance à analyser. Ce problème a été abordé par certaines autorités de réglementation par l'établissement de spécifications pour les performances des méthodes d'analyse réglementaires. Aux concentrations relativement élevées, le pourcentage de récupération analytique devrait approcher 100%. Aux concentrations plus faibles et, en particulier, lorsqu'il s'agit de méthodes faisant appel à plusieurs étapes parmi lesquelles l'extraction, l'isolation, la purification et la concentration, les pourcentages de récupération peuvent être plus faibles. Quels que soient les pourcentages de récupération moyens observés, il est souhaitable que la récupération présente une faible variabilité de manière à ce qu'on puisse faire une correction fiable, si nécessaire. Les corrections de récupération devraient être conformes aux orientations de la Commission du Codex Alimentarius¹².

113. La *fidélité*, qui quantifie les écarts entre les résultats d'essais sur des portions d'un même échantillon, est un facteur important à prendre en considération lorsqu'on détermine quand un résidu présent dans un échantillon doit être considéré comme excédant une LMRMV ou une autre limite réglementaire. Elle peut s'exprimer en termes de répétabilité (au sein d'un laboratoire) et de reproductibilité (interlaboratoires). Pour la validation des méthodes par un laboratoire unique, la précision en tant que répétabilité devrait être déterminée à partir d'expériences réalisées à des jours différents, en utilisant un minimum de six sources de tissus, avec des lots de réactifs différents (et un matériel différent, etc.) et de préférence par des analystes différents. La fidélité d'une méthode s'exprime généralement en écart-type. Une autre expression utile est l'écart-type relatif, ou coefficient de variation (l'écart-type, divisé par la valeur absolue de la moyenne arithmétique). On peut l'exprimer en pourcentage en multipliant par cent.

114. La variabilité de la méthode observée dans le laboratoire qui l'a mise au point et qui en a une longue expérience est généralement moindre que la variabilité constatée dans les autres laboratoires qui pourraient l'utiliser à leur tour. Si une méthode donnée ne fournit pas un niveau acceptable de performance dans le laboratoire qui l'a mise au point, il y a peu de chances qu'elle fasse mieux dans d'autres laboratoires.

115. La *sensibilité* d'une méthode quantitative est la mesure de son aptitude à distinguer de faibles écarts de concentration dans une substance à doser. Ce terme a parfois été employé dans une autre acception, par exemple pour définir les aptitudes de détection de kits de dépistage (voir ci-dessous) ; l'utilisation du terme « sensibilité » dans cette acception n'est pas recommandée lorsqu'on parle des méthodes quantitatives. Dans le cas de l'appareillage utilisé pour analyser les résidus, la sensibilité dépend de deux facteurs : la réponse des instruments à la substance à doser et les interférences du milieu, ou « bruit » de l'appareillage. Pour des mesures au niveau de la LMRMV ou proches de celle-ci, une méthode n'ayant pas une sensibilité adéquate peut ne pas permettre à l'analyste de savoir avec certitude si les concentrations de résidus sont supérieures ou inférieures à la LMRMV.

¹² CAC/GL 37-2001 Directives harmonisées de l'UICPA concernant l'utilisation des taux de récupération dans les mesures analytiques ; voir aussi M. Thompson, S. Ellison, A. Fajgelj, P. Willetts et R. Wood (1999) : Directives harmonisées concernant l'utilisation des taux de récupération dans les mesures analytiques, *Pure and Applied Chemistry*, 71 : 337 – 348.

116. Les méthodes quantitatives se fondent généralement sur la comparaison entre la réponse d'une substance à analyser et la réponse d'étalons de la substance à analyser dans des solutions à des concentrations connues. Lors de l'élaboration et de la validation de la méthode, la *courbe d'étalonnage* devrait être déterminée pour évaluer la réponse du détecteur aux étalons. Les concentrations (un minimum de cinq, plus les blancs) devraient couvrir l'ensemble de la fourchette recherchée d'analyse et la courbe résultante devrait être exprimée statistiquement. Bien qu'il soit recommandé dans la pratique d'inclure un échantillon à blanc dans les étalons d'analyse, ceci n'implique pas pour autant qu'on puisse extrapoler les résultats à la région située en-dessous de la courbe sous l'étalon le plus bas pour obtenir un résultat quantitatif. La fonction d'analyse se rapporte à la réponse pour la substance à analyser récupérée à partir du matériau d'échantillons à différentes concentrations dans la fourchette recherchée d'analyse. Pour les substances à analyser pour lesquelles une LMRMV a été établie dans un matériau d'échantillons particulier (matrice), la réponse est en général déterminée pour un matériau d'échantillons à blanc ou pour des matériaux d'échantillons à blanc fortifiés à chaque 0,5x, 1,0x et 2,0x la LMRMV (il est recommandé d'utiliser 6 sources différentes de blancs).

117. L'expérience de fonction d'analyse peut être combinée avec l'expérience de récupération décrite plus haut et revêt une importance particulière lorsque la présence de produits co-extraits de la matrice modifie la réponse de la substance à analyser par rapport aux étalons d'analyse. La *linéarité* est déterminée à partir des expériences de fonction d'analyse décrites et elle est l'expression statistique de la courbe obtenue pour l'analyse de matériaux d'échantillons fortifiés à des concentrations recherchées couvrant la limite maximale de résidus. Elle est en générale déterminée à partir d'une analyse de régression linéaire des données, en supposant qu'il y a une réponse linéaire. Il est de plus en plus fréquent dans les méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments de baser la détermination quantitative sur une courbe-type préparée en plus d'un étalon pour connaître le matériau de matrice à blanc représentatif à un éventail de concentrations appropriées couvrant la valeur recherchée. L'utilisation d'une telle « courbe-type de tissus » pour l'étalonnage intègre une correction de la récupération aux résultats d'analyse obtenus.

118. Il faut également fixer les limites inférieures de substances à analyser dont on pourra déceler la présence avec certitude par détection, quantification ou confirmation en utilisant une méthode particulière d'analyse. La *limite de détection* peut se définir en pratique comme la plus petite quantité ou concentration mesurée de substance à analyser qui permet de déduire la présence de la substance dans la prise d'essai. On peut la calculer à partir de l'écart-type $s_{y/x}$ à partir de l'analyse de régression linéaire de la courbe-type générée par la fonction d'analyse expérimentée ci-dessus¹³. La limite de détection est alors calculée en utilisant le point d'interception y (en supposant qu'il s'agit d'une valeur positive) de la courbe et trois fois $s_{y/x}$. Cette approche donne une estimation plus traditionnelle de la limite de détection.

119. La *limite de quantification* (LQ) peut être établie à partir des mêmes expériences en utilisant le point d'interception y de la courbe plus dix fois $s_{y/x}$. Pour les méthodes utilisées pour étayer des LMRMV établies par la Commission du Codex Alimentarius, la limite de quantification devrait répondre aux critères de fidélité et de justesse (récupération) du tableau 1 et devrait être égale ou inférieure à 0,5x la LMRMV. Cependant, quand la limite de quantification d'une méthode est plus basse que les concentrations réelles vérifiées pour la conformité à une LMRMV, la validation et l'application ultérieure de la méthode peuvent se baser sur le plus petit niveau étalonné, qui est en général égal à 0,5x la LMRMV. Pour un programme réglementaire, les limites de détection et de quantification sont des paramètres importants si la méthode est destinée à évaluer des expositions à des résidus, lorsqu'il peut être intéressant de contrôler les résidus à des concentrations inférieures à la LMRMV, ou si elle est destinée à rechercher des substances qui n'ont pas de DJA ni de LMRMV. Pour vérifier la conformité à une LMRMV, il est important d'inclure un plus petit niveau étalonné à l'analyse qui démontre de manière adéquate que la concentration de la LMR doit être déterminée avec certitude. Le plus petit niveau étalonné d'une méthode utilisée pour étayer une LMRMV ne devrait pas être inférieur à la limite de quantification. Le Manuel de procédure recommande le terme « limite de détermination » dans les « Termes à utiliser dans l'approche de critères ». Le CCMAS a recommandé récemment de remplacer le terme « limite de détermination » par celui de « limite de quantification ». Elle est définie comme étant 6 ou 10 fois supérieure à l'écart-type du signal de valeur moyenne d'un échantillon-témoin, conformément aux définitions de la limite de quantification.

¹³ J.C. Miller et J.N. Miller. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*, 3^e édition, Ellis Horwood Ltd., Chichester.

III.3.3 CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DES METHODES DE CONFIRMATION (TYPE I)

120. La *sélectivité*, la capacité d'une méthode à identifier un signal comme se rapportant exclusivement à un composé spécifique, est la principale caractéristique des méthodes de confirmation. Certaines techniques instrumentales, telles que la spectroscopie aux rayons infrarouges ou la spectrométrie de masse peuvent être suffisamment sélectives pour fournir une identification non équivoque. Les méthodes de Type I sont souvent fondées sur ces techniques.

121. En général, quatre points d'identification au moins sont nécessaires pour répondre aux critères de performance acceptés pour les méthodes réglementaires. Les méthodes se basant sur la spectrométrie de masse à haute résolution sont considérées comme d'une plus grande fiabilité car elles mesurent la masse de manière plus précise que les techniques de spectrométrie de masse à faible résolution. Les prescriptions de performance des méthodes de confirmation se basant sur la CG/SM et la CL/SM à faible résolution, publiées récemment par un organisme international d'expert¹⁴ et par plusieurs autorités chargées de la réglementation¹⁵, sont données au tableau 2.

Tableau 2 : Prescriptions de performance d'intensités ioniques relatives (l'échantillon par rapport à l'étalon) de différentes techniques d'analyse par spectrométrie de masse.

Intensité ionique relative (% du pic de base)	CG-SM (IE) (relative)	CG-SM (IC), CG-SM/SM CL-SM, CL-SM/SM (relative)
>50 %	∇10 %	∇ 20 %
20% à 50%	∇ 15 %	∇ 25 %
10% à 20%	∇ 20 %	∇ 30 %
< 10%	∇ 50 %	∇ 50 %

122. On considère qu'un point d'identification devrait être attribué à chaque fragment d'ion structurellement important détecté par une méthode de spectrométrie de masse à faible résolution. En cas d'utilisation d'un instrument à faible résolution en tandem, comme un spectromètre de masse « quadripolaire triple », des fragments secondaires sont détectés à partir d'un fragment primaire isolé au départ par le spectromètre. Le fait que ces fragments structurellement importants sont produits à partir de la fragmentation d'un fragment plus grand (ion parent ou précurseur) associé à la molécule apporte une plus grande certitude et chaque ion fils ou produit se voit attribuer une valeur de 1,5 points d'identification. Une combinaison d'un ion précurseur et de deux ions produits apporte les quatre points d'identification nécessaires si des instruments SM/SM à faible résolution sont utilisés dans une méthode de confirmation.

123. L'utilisation de spectromètres de masse à haute résolution dans une méthode de confirmation apporte une certitude supplémentaire, étant donné que la haute résolution permet d'identifier la masse de manière plus précise et qu'elle peut être utilisée pour prédire la composition élémentaire de chaque fragment. Pour un seul spectromètre de masse à haute résolution, chaque fragment structurellement important se voit attribuer une valeur de deux points d'identification, tandis que les ions produits générés par des expériences par SM/SM à haute résolution ont chacun une valeur de 2,5 points d'identification. Par ailleurs, au moins un coefficient ionique doit également être mesuré pour éliminer la possibilité que des fragments de la même masse résultent de composés isobares de structure similaire.

124. D'autres techniques, lorsqu'elles sont employées en combinaison, peuvent réaliser un degré de spécificité comparable en tant que techniques de confirmation. Par exemple, la spécificité peut être vérifiée en combinant des méthodes telles que :

- la chromatographie en couche mince,

¹⁴ R. Bethem, J.O. Boison, J. Gale, D. Heller, S. Lehotay, J. Loo, S. Musser, P. Price et S. Stein. (2003) Establishing the Fitness for Purpose of Mass Spectrometric methods. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 14 : 528-541.

¹⁵ *Guidance for Industry: Mass Spectrometry for Confirmation of the Identity of Animal Drug Residues*. U.S. Food & Drug Administration. <http://www.fda.gov/cvm/guidance/guide118.doc> (accès vérifié le 20 janvier 2005).

- la chromatographie gaz-liquide spécifique de l'élément considéré avec les systèmes de détection qui l'accompagnent,
- la formation de dérivés caractéristiques suivie de chromatographie additionnelle, ou
- la détermination de temps de rétention relatifs spécifiques des composés faisant appel à plusieurs systèmes chromatographiques de polarités différentes.

125. Ces procédures doivent pouvoir s'appliquer à la limite maximale de résidus (LMRMV) retenue pour la substance à doser. Lorsqu'une méthode de confirmation telle que la spectrométrie de masse n'est pas disponible, les informations sur la sélectivité liée à l'analyse d'un résidu de médicament vétérinaire particulier dans un échantillon peuvent être développées à partir de plusieurs sources¹⁶. Ces informations peuvent être récupérées dans un document journal structuré contenant toutes les informations conduisant à la conclusion qu'une méthode a détecté un composé particulier dans un échantillon, au taux de concentration rapporté. Si aucune analyse séparée ne peut fournir la preuve irréfutable de l'identité du composé et/ou de la quantité présente souhaitée, les informations combinées qui ont été compilées prouvent que l'analyste s'est consciencieusement efforcé d'arriver à un résultat logique conforme aux données et autres informations disponibles. Le tableau 3 résume des exemples de techniques d'analyse qui peuvent convenir pour répondre aux critères de méthodes d'analyse de confirmation.

Tableau 3. Exemples de méthodes de détection appropriées pour l'analyse de confirmation de substances, recommandées par la Consultation de Miskolc

Méthode de détection	Critère
CL ou CG et spectrométrie de masse	si un nombre suffisant d'ions fragments est surveillé
CL-DAD	si le spectre UV est caractéristique
CL – fluorescence	en combinaison avec d'autres techniques
2-D TLC – (spectrophotométrie)	en combinaison avec d'autres techniques
CG-ECD, NPD, FPD	seulement si elle est combinée à deux techniques de séparation ou plus ^a
Dérivatisation	s'il ne s'agissait pas de la méthode de premier choix
CL-immunogramme	en combinaison avec d'autres techniques
CL-UV/VIS (simple longueur d'onde)	en combinaison avec d'autres techniques

^a Autres systèmes chromatographiques (appliquant des phases fixes et/ou mobiles de différente sélectivité) ou autres techniques.

126. Bien que les méthodes de Type I fassent généralement appel à un certain appareillage, l'observation de modifications pathologiques ou autres altérations morphologiques témoignant spécifiquement de l'exposition à une classe de médicaments vétérinaires pourrait constituer une méthode de Type I à la condition qu'elle soit suffisamment sensible et fidèle.

III.3.4 CARACTERISTIQUES GENERALES DE PERFORMANCE DES METHODES DESTINEES A UN PROGRAMME DE CONTROLE REGLEMENTAIRE

127. Il existe un certain nombre d'autres considérations pour la sélection de méthodes appropriées destinées aux programmes de contrôle réglementaires des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. Les méthodes doivent être suffisamment robustes, efficaces par rapport à leur coût, relativement peu complexes, portatives et susceptibles de traiter simultanément un ensemble de prélèvements dans un bref laps de temps. La stabilité des substances recherchées doit également être établie.

¹⁶ R W. Stephany (2003). *SPECLOG – The Specificity Log*. CRD-9, Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, 14^e session, Arlington, Virginie, États-Unis, 4-7 mars.

128. L'analyse de la *robustesse* doit être réalisée en utilisant une approche normale de plan factoriel afin de déterminer tout point de contrôle critique¹⁷. Les facteurs typiques à inclure dans un plan englobent les variations des volumes ou concentrations de réactifs, du pH, de la durée et de la température d'incubation ou de réaction, de la qualité des réactifs et des différents lots ou sources d'un réactif ou d'équipement de chromatographie. L'analyse de la robustesse d'une méthode de confirmation peut être nécessaire si la méthode diffère fortement de la méthode quantitative validée auparavant (si la méthode utilise différentes procédures d'extraction ou de dérivation que celles qu'utilise la méthode quantitative).

129. Le *rapport coût-efficacité* est l'utilisation de réactifs et de fournitures qui sont facilement disponibles avec la pureté nécessaire auprès des fournisseurs locaux ainsi que de l'équipement dont les pièces et l'entretien sont également facilement disponibles. L'*efficacité de la méthode* est plus grande lorsque plusieurs échantillons peuvent être analysés en même temps. Cela réduit le temps nécessaire à l'analyse par échantillon et réduit en général le coût par échantillon, étant donné qu'il y a certains frais fixes associés à l'analyse d'échantillons, que ce soit séparément ou sous forme de lots plus grands. La capacité d'une méthode à prendre en charge plusieurs échantillons dans un lot est importante lorsqu'un grand nombre d'échantillons doivent être analysés dans un court laps de temps ou pour une date déterminée. La *portabilité* est la caractéristique des méthodes d'analyse qui leur permet d'être transférées d'un endroit à un autre sans perte les caractéristiques de performance d'analyse établies.

130. La *stabilité de la substance à analyser* pendant l'analyse doit être établie pour les étalons et la substance à analyser en présence de matériel étalon, pendant le traitement par l'analyse complète pour toutes les méthodes utilisées dans un programme de contrôle réglementaire et pour les conditions typiques de stockage pendant qu'un échantillon attend d'être analysé. La période choisie pour la stabilité pendant le stockage devrait couvrir la période pendant laquelle un échantillon peut être stocké pour toutes les analyses nécessaires, y compris l'utilisation de méthodes de dépistage, quantitatives et de confirmation. Il est prudent de procéder à une étude de stockage pour une période supérieure à 90 jours au moins au-delà du temps nécessaire pour réaliser toutes les analyses de dépistage, quantitatives et de confirmation et pour obtenir les résultats, au cas où il y aurait un problème ou une demande de nouvelle analyse.

III.4 CONSIDERATION RELATIVES AU DEVELOPPEMENT ET A LA VALIDATION DE METHODES DE CONTROLE DES RESIDUS

III.4.1 CHOIX DU MATERIEL D'ESSAI APPROPRIE POUR LA VALIDATION

131. Les laboratoires doivent démontrer que les méthodes utilisées pour l'analyse d'échantillons réglementaires ont été correctement validées. En général, c'est l'étude multilaboratoires de validation des méthodes qui constitue le facteur le plus important lorsqu'on veut disposer de données d'analyse pour définir les caractéristiques de performance des différentes méthodes. Toutefois, d'autres modèles ont été développés et comprennent des essais multilaboratoires avec un plus petit nombre de laboratoires que ce qui est nécessaire pour procéder à une étude en collaboration complète ou à une validation par un laboratoire unique basée sur une évaluation interne rigoureuse des performances de la méthode, soutenus par un système de qualité, des audits indépendants et une analyse des aptitudes ou des matériaux de référence, lorsque c'est possible.

132. Lorsqu'on élabore une méthode de contrôle des résidus, il faudrait recueillir des données à partir de trois types d'échantillons. Les prises d'essai témoins prélevées sur des animaux non traités fournissent des informations sur les interférences du bruit de fond et de la matrice en cours d'analyse. Le matériel d'essai fortifié, contenant des quantités connues de la substance à doser délibérément ajoutées au matériau témoin, fournit des informations sur la capacité de la méthode à retrouver la substance recherchée dans des conditions contrôlées. Les tissus devraient être obtenus à partir de plusieurs sources pour couvrir les variations découlant de facteurs comme des régimes différents, des pratiques d'élevage, le sexe et l'élevage des animaux. Le CCRVDF recommande que ces sources soient au minimum au nombre de six.

¹⁷ W.J. Youden & E.H. Steiner (1975) *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*, AOAC International, Gaithersburg, Virginie, États-Unis.

133. Une analyse des tissus dans lesquels la substance est présente biologiquement, prélevés sur des animaux producteurs de denrées alimentaires ayant été traités par le médicament, fournira des informations supplémentaires sur les interactions, notamment biologiques, qui peuvent se produire lorsqu'on analyse des échantillons aux fins de contrôle des résidus.

III.4.2 INCERTITUDE DE LA MESURE

134. Les laboratoires devraient fournir à leurs clients des informations sur l'incertitude de la mesure liée aux résultats quantitatifs produits par chaque méthode déterminative. Cela requiert un examen de la méthode pour déterminer l'erreur potentielle qui peut s'introduire à chaque étape de la méthode, de la préparation des étalons, à la sélection et au pesage des portions de test en passant par chaque étape de l'analyse jusqu'à la mesure finale. Plus la méthode est complexe et engagée, plus cette tâche est difficile à accomplir. Une approche alternative utilise la validation de méthode et/ou des données sur le contrôle de qualité en cours générées dans le laboratoire pour évaluer l'incertitude de la mesure. Des directives sur l'évaluation de l'incertitude de la mesure sont en cours d'élaboration par l'UICPA et ont été publiées par d'autres organismes scientifiques indépendants¹⁸.

III.4.3 UTILISATION D'ÉTALONS INTERNES

135. Les méthodes de recherche des résidus sont parfois conçues en faisant appel à des étalons internes pour le contrôle analytique. Correctement utilisé, un étalon interne compensera partiellement la variabilité de l'analyse, d'où une plus grande fidélité. En revanche, mal utilisé, un étalon interne risque d'entacher d'obscurité des variables qui constituent une partie importante de la mesure analytique. Si l'on a recours à un étalon interne, il conviendra de l'introduire à un stade aussi précoce que possible du mode opératoire, en l'ajoutant de préférence à la prise d'essai avant de commencer l'analyse. L'étalon interne doit refléter de manière prévisible et uniforme la récupération de la substance à analyser recherchée. Un étalon interne qui ne reflète pas dans la méthode le comportement de la substance à analyser recherchée entraînera des erreurs importantes lors du calcul du résultat final. Il convient d'être prudent dans le choix des étalons internes, pour veiller à ce qu'ils ne modifient pas le pourcentage de récupération de la substance à doser ou qu'ils n'interfèrent pas avec les mesures. Il faut bien connaître la portée et la prédictibilité des effets de l'étalon interne sur une méthode d'analyse. Bien employés, les étalons internes peuvent considérablement améliorer les performances d'une méthode.

III.4.4 CONSIDÉRATIONS ENVIRONNEMENTALES

136. Il faudrait tenir compte du fait que des méthodes de contrôle des résidus pourront être mises en œuvre dans des milieux physiques extrêmement variables lors du développement et de la validation de ces méthodes. Au demeurant, le travail d'adaptation que cela entraînera pourra contribuer à améliorer la robustesse de la méthode. En climat chaud, on pourra être amené à prévoir des réactifs plus stables à la chaleur, tandis que les solvants mis en œuvre au cours de l'analyse devront être moins volatils et que les exigences relatives aux prises d'essai pourront être moins strictes. À l'inverse, en climat froid, les réactifs et les solvants devront présenter des propriétés physiques différentes, par exemple point de congélation plus bas et meilleur pouvoir solvant, de manière à permettre une extraction efficace de la substance recherchée. Les températures ambiantes peuvent influencer sur le temps nécessaire pour procéder à l'analyse, ainsi que sur les taux de réaction, les séparations par gravité et le virage des couleurs. Ces considérations risquent de compliquer considérablement les efforts de normalisation des méthodes à utiliser dans des environnements extrêmement divers, compte tenu de la nécessité de compenser ces différents facteurs. Il est important lors de l'examen du milieu physique dans lequel une méthode sera utilisée de se rappeler que les objets en verre volumétriques et de nombreux instruments d'analyse sont étalonnés pour être utilisés à des températures spécifiques, ou dans une fourchette contrôlée de températures. Les utiliser en dehors de ces températures peut compromettre les résultats d'essais.

¹⁸ EURACHEM/CITAC *Guide to Quantifying Measurement Uncertainty in Analytical Measurement* (en anglais), <http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/index.html> (accès vérifié le 20 mai 2005).

III.4.5 CHOIX DU MODELE DE VALIDATION

137. Une méthode d'analyse élaborée et utilisée dans un seul laboratoire risque de n'avoir qu'un intérêt limité pour un programme de contrôle des résidus sauf si l'on prend soin de répondre aux attentes rigoureuses de la validation des méthodes par un laboratoire unique en cours d'accréditation en vertu de l'ISO/CEI-17025 ou d'autres procédures d'accréditation équivalentes pour les laboratoires d'essais. En effet, quelle que soit la valeur des contrôles de qualité, la fiabilité des valeurs communiquées risque d'être contestée. Au minimum, il était auparavant recommandé qu'il conviendrait de demander à trois laboratoires appelés à utiliser ces méthodes d'élaborer des caractéristiques de performance pour le contrôle des résidus, y compris la variabilité d'analyse, et d'obtenir un accord statistiquement acceptable en travaillant sur les mêmes échantillons, qu'ils se seront répartis. Cette approche reste préférée, chaque fois que possible. Toutefois, il est également reconnu que les rapides changements dans la technologie et l'éventail toujours plus grand de composés qui peuvent être inclus dans un programme de contrôle des résidus requiert d'un point de vue pratique que les laboratoires se concentrent en premier lieu sur la validation interne de méthodes pour répondre aux contraintes de temps. Les méthodes qui ont été correctement validées par un laboratoire unique avec l'inclusion d'essais de robustesse correctement créés devraient pouvoir subir avec succès l'épreuve d'une étude interlaboratoires associant au moins huit établissements différents.

138. Les principes auxquels obéit l'étude à laquelle on soumet une méthode de contrôle des résidus, qu'il s'agisse d'une étude de validation par un laboratoire unique, d'une étude multilaboratoires de la méthode ou d'une étude en collaboration, sont les mêmes. Les échantillons servant à évaluer la performance de la méthode ne devraient pas être connus de l'analyste, dans des copies randomisées, et il faudrait prévoir des échantillons contenant le résidu à une teneur proche de la LMRMV ou d'une autre concentration recherchée, à côté d'autres qui contiennent la substance à doser au-dessus et en dessous du niveau recherché, et d'autres encore qui en soient entièrement dépourvus. Tous les échantillons étudiés devraient être analysés sur un nombre de jours limité, de préférence en répétant l'analyse, de manière à améliorer l'évaluation statistique du comportement de la méthode. Il convient d'observer que ce sont là des exigences minimales. L'établissement d'étalons de performance basés sur les statistiques pour des méthodes est amélioré par l'augmentation du nombre d'analystes et de laboratoires indépendants testant la méthode ainsi que par le nombre d'échantillons analysés. Dans la validation par un laboratoire unique, il est recommandé que la méthode soit testée par plusieurs analystes afin de fournir les mesures appropriées des performances au sein du laboratoire. Il est recommandé d'étendre la validation pour inclure d'autres laboratoires, de préférence jusqu'au nombre nécessaire pour une étude en collaboration. En effet, il ne sera guère possible de se rendre compte de la valeur, du point de vue de la répétabilité et de la reproductibilité globales, d'analyses répétées deux fois dans huit laboratoires seulement sur une ou deux espèces animales et un ou deux tissus. La validation d'une méthode ayant fait l'objet d'une étude en collaboration peut être étendue pour inclure d'autres tissus et espèces dans une étude ultérieure réalisée par un laboratoire d'expert unique, si nécessaire.

III.4.6 CONTROLE DE QUALITE ET ASSURANCE DE QUALITE

139. Les principes du contrôle de qualité et de l'assurance de qualité sont des composantes essentielles de l'analyse des résidus. Ce sont eux qui garantissent une performance optimale de la méthode, et cela pour toutes les méthodes, quelles qu'en soient les caractéristiques et à chaque fois qu'elles sont mises en œuvre. Le contrôle de qualité permet de suivre les facteurs qui sont liés à l'analyse d'un échantillon par un même expérimentateur tandis que l'assurance de qualité permet à des observateurs indépendants de s'assurer que le programme d'analyse fonctionne de façon acceptable. Les programmes de contrôle de qualité et d'assurance de qualité sont particulièrement précieux : en effet, ils serviront à appuyer les décisions des organismes responsables du contrôle des résidus, à améliorer la fiabilité des résultats d'analyse et à fournir aux programmes de contrôle des résidus des données de qualité qui leur permettront d'attester la sécurité des produits alimentaires en matière de résidus de médicaments vétérinaires auprès des consommateurs, des producteurs et du législateur. L'établissement de mesures de qualité conformes aux principes établis par l'Union internationale de chimie pure et appliquée est recommandé pour les laboratoires de contrôle réglementaire.