

# DIRECTIVES CONCERNANT LES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN MATIÈRE D'ANALYSE DES RÉSIDUS DE PESTICIDES

CAC/GL 40-1993

## Table des matières

AVANT-PROPOS .....	1
1. INTRODUCTION.....	2
2. L'ANALYSTE.....	2
3. RESSOURCES DE BASE .....	2
3.1 LE LABORATOIRE .....	2
4. L'ANALYSE.....	4
4.1 RISQUES DE CONTAMINATION .....	4
4.2 RÉCEPTION ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS .....	5
4.3 PROTOCOLES NORMALISÉS .....	5
4.4 VALIDATION DES MÉTHODES.....	5
4.5 VÉRIFICATION DES PERFORMANCES .....	7
4.6 ÉPREUVES DE CONFIRMATION .....	9
4.7 SPECTROMÉTRIE DE MASSE .....	9
4.8 PRODUCTION DE DÉRIVÉS.....	11
4.9 LE CONCEPT DE CONCENTRATION ÉTALONNÉE LA PLUS FAIBLE (CEPF) .....	11
4.10 EXPRESSION DES RÉSULTATS.....	12
GLOSSAIRE DE TERMES.....	36
ABRÉVIATIONS .....	41

## AVANT-PROPOS

L'objectif des présentes directives est d'aider à assurer la fiabilité des résultats d'analyse en vérifiant la conformité avec les limites maximales de résidus se trouvant dans les aliments faisant l'objet d'un commerce international. Des résultats d'analyse fiables sont essentiels pour protéger la santé des consommateurs et faciliter le commerce international.

Outre les présentes directives, il existe d'autres recommandations pertinentes du Codex élaborées par le Comité du Codex sur les résidus de pesticides (CCPR) dans le domaine de l'application des limites maximales de résidus, à savoir:

- 1 Méthodes recommandées pour l'échantillonnage aux fins du dosage des résidus de pesticides en vue du contrôle de conformité avec les LMR (CAC/GL 33-1999).
- 2 Portion des produits à laquelle s'appliquent les limites maximales de résidus du Codex et qui est soumise à l'analyse (CAC/GL 41-1993).
- 3 Limites maximales de résidus du Codex pour les pesticides (Les limites maximales de pesticides telles qu'adoptées par la Commission du Codex Alimentarius sont disponibles sur: <http://www.codexalimentarius.net>).
- 4 Méthodes d'analyse recommandées pour la détermination des résidus de pesticides (CODEX STAN 229-1993)
- 5 Classification Codex des produits destinés à l'alimentation humaine et animale (CAC/MISC 4-1993).

## 1. INTRODUCTION

L'objectif ultime des pratiques loyales en matière de commerce international dépend, entre autres, de la fiabilité des résultats de l'analyse. Ce facteur est conditionné à son tour - notamment lorsqu'il s'agit du dosage des résidus de pesticides –non seulement par l'existence de méthodes d'analyse sûres, mais aussi par la compétence de l'analyste et le respect des bonnes pratiques en matière d'analyse des résidus de pesticides.

Les présentes directives définissent ces bonnes pratiques d'analyse et sont examinées en trois volets interdépendants:

L'analyste (section 2);

Ressources de base (section 3);

L'analyse (section 4).

Les spécifications concernant les installations, la gestion, le personnel, l'assurance et le contrôle de la qualité, la documentation des résultats et les données brutes, ainsi que les thèmes connexes, qui sont considérés comme des conditions préalables pour obtenir des résultats fiables et vérifiables sont décrites en général dans la norme ISO/IEC 17025 (1999) et dans une série de documents directifs sur les bonnes pratiques de laboratoire de l'OCDE, ainsi que dans les lois et règlements nationaux correspondants. Ces directives Codex, qui ne sont pas exhaustives, décrivent les principes et les pratiques essentiels à suivre dans l'analyse des résidus de pesticides.

## 2. L'ANALYSTE

2.1 L'analyse des résidus consiste en une série d'opérations dont les modalités sont le plus souvent bien connues, ou faciles à comprendre par un chimiste qualifié, mais du fait que les concentrations sont de l'ordre de  $\mu\text{g}$  à  $\text{mg/kg}$  et que les analyses sont parfois difficiles, il est indispensable de veiller à tous les détails. L'analyste responsable doit avoir les qualifications professionnelles, l'expérience et les compétences requises en matière d'analyse des résidus. Le personnel doit être entraîné au maniement correct des appareils et aux techniques de laboratoire de base. En outre, l'analyste qui utilise la méthode pour la première fois doit effectuer les essais décrits aux sections 4.4.5 du tableau 4 pour montrer qu'il peut utiliser la méthode en suivant les paramètres de performance prévus et établis durant la validation de la méthode avant l'analyse des échantillons. Il doit être bien informé des principes de l'analyse des résidus et des exigences des systèmes d'assurance de la qualité de l'analyse. Il doit par ailleurs connaître l'objet de chaque étape de la méthode utilisée et savoir qu'il est important de se conformer exactement aux méthodes prescrites et de noter tout écart inévitable. Il doit également être formé à l'évaluation et à l'interprétation des données qu'il produit. Il sera bon de noter sur un registre la formation et l'expérience de tout le personnel de laboratoire.

2.2 Lorsque l'on installe un laboratoire d'analyse des résidus, une partie de la période de formation du personnel devrait se passer dans un laboratoire bien rodé où aide consultative et formation seraient dispensées par des personnes expérimentées. Si le laboratoire est appelé à analyser une large gamme de résidus de pesticides, le personnel devra peut-être se perfectionner dans plusieurs laboratoires spécialisés.

## 3. RESSOURCES DE BASE

### 3.1 LE LABORATOIRE

3.1.1. Le laboratoire et ses installations devraient être conçus de manière que les opérations puissent être réparties entre des zones bien définies, en vue de garantir un maximum de sécurité et un minimum de risques de contamination des échantillons. Les laboratoires et leurs installations devraient être construits en (et utiliser des) matériaux résistants aux produits chimiques dont l'utilisation paraît probable à l'intérieur de ceux-ci. Ainsi, il faudrait théoriquement installer des pièces distinctes pour la réception et le stockage des échantillons, pour la préparation des échantillons, pour l'extraction et la séparation et pour le rangement des instruments qui serviront à l'analyse elle-même. La zone destinée aux opérations d'extraction et de purification devrait être conforme aux normes établies pour les laboratoires utilisant des solvants et toutes les installations d'évacuation des vapeurs et fumées devraient être d'excellente qualité. La réception, le stockage et la préparation des échantillons devraient avoir lieu dans des zones réservées exclusivement à l'analyse des

résidus. Il faudra en priorité garantir l'intégrité des échantillons et la sécurité personnelle.

3.1.2 La sécurité du laboratoire doit aussi être envisagée sous l'angle de ce qui est nécessaire et souhaitable car il faut reconnaître que les normes très strictes, appliquées dans les laboratoires d'analyse des résidus de certains pays du monde en ce qui concerne les conditions de travail, seraient totalement irréalistes ailleurs. Il doit être interdit de fumer, de manger, de boire et de se maquiller dans la zone de travail. De petites quantités seulement de solvants doivent y être conservées et la majeure partie de ces produits doit être stockée dans une pièce séparée, éloignée de la zone de travail principale. Il convient d'éviter chaque fois que possible l'emploi de solvants et de réactifs ayant des propriétés toxiques aiguës. Tous les solvants usés doivent être gardés en lieu sûr et évacués en toute sécurité et sans porter atteinte à l'environnement, en tenant compte des éventuels règlements nationaux en vigueur.

3.1.3 La zone de travail principale doit être conçue et équipée pour l'utilisation d'une gamme appropriée de solvants destinés à l'analyse. Tout le matériel tel que dispositifs d'éclairage, macérateurs et réfrigérateurs doit être d'un type ne produisant ni étincelles ni explosions. Les opérations d'extraction, de purification et de concentration doivent être menées dans un espace bien ventilé, de préférence dans des hottes fermées.

3.1.4 Il convient d'utiliser des écrans protecteurs lorsque la verrerie est employée sous vide ou sous pression. Il y a lieu de prévoir un ample stock de lunettes protectrices, de gants et autres vêtements de protection, des installations pour se laver en cas d'urgence et les fournitures nécessaires pour le traitement des débordements. Un matériel adéquat de lutte contre les incendies est également indispensable. Le personnel doit savoir que de nombreux pesticides ont des propriétés toxiques aiguës ou chroniques et qu'il faut donc manipuler les produits étalons avec beaucoup de précautions.

## **3.2 MATÉRIEL ET FOURNITURES**

3.2.1 Le laboratoire doit être bien alimenté en électricité et en eau. Des réserves suffisantes de réactifs, de solvants, de verrerie pour les gaz, de chromatographes, etc. sont indispensables.

3.2.2 Il faut assurer l'entretien et l'étalonnage réguliers des chromatographes, balances, spectrophotomètres, etc., et consigner dans un registre toutes les interventions d'entretien ou de réparation. L'étalonnage est indispensable pour la mesure des performances du matériel. Des courbes d'étalonnage et des comparaisons avec les substances étalons peuvent suffire.

3.2.3 Il faut procéder à l'étalonnage et au ré-étalonnage réguliers du matériel lorsque le changement éventuel dans la valeur nominale peut contribuer sensiblement à l'incertitude de la mesure. Les balances et les pipettes/distributeurs automatiques et matériel similaire doivent être régulièrement étalonnés. On surveillera en permanence ou vérifiera à intervalles réguliers les températures de fonctionnement des réfrigérateurs et des congélateurs. Toutes les données doivent être mises à jour et consignées.

3.2.4 Le matériel doit être adapté à l'usage prévu.

3.2.5 Tous les laboratoires doivent disposer de normes de références de pesticides ayant un degré de pureté connu et acceptable. Celui-ci doit comprendre tous les composés initiaux dont le laboratoire surveille les concentrations dans des échantillons de produits, ainsi que leurs métabolites pour lesquels des LMR ont été fixées.

3.2.6 Les produits de référence, les solutions de réserve et les réactifs doivent tous être correctement étiquetés y compris la date de préparation, l'identification de l'analyste, les solvants employés, les conditions de stockage, et les composés dont l'intégrité pourrait être altérée par des processus de dégradation, doivent porter une étiquette indiquant clairement la date limite d'utilisation et être stockés dans des conditions appropriées. Les composés de référence doivent être conservés de manière à minimiser le taux de dégradation, par exemple à basse température, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière. On veillera également à ce que les solutions de pesticides de référence ne soient pas décomposées sous l'effet de la lumière ou de la chaleur durant le stockage ou ne deviennent concentrées par l'évaporation des solvants.

## 4. L'ANALYSE

Les méthodes appliquées pour le dosage des résidus de pesticides devraient en général satisfaire aux critères présentés au tableau 3.

### 4.1 RISQUES DE CONTAMINATION

4.1.1 L'analyse des résidus de pesticides diffère considérablement de la micro-analyse en raison du problème de la contamination et des interférences. Des quantités infimes de contaminants dans les échantillons finals utilisés pour le dosage peuvent donner lieu à des erreurs telles que des faux résultats positifs et des faux résultats négatifs, et causer une perte de sensibilité, ce qui peut empêcher l'analyste de détecter le résidu. La contamination peut être imputable à tout ce qui sert à l'échantillonnage, au transport et au stockage des échantillons, comme aux analyses. Il faut vérifier avant usage que la verrerie, les réactifs, les solvants organiques et l'eau ne contiennent pas de contaminants, en procédant à l'analyse d'un blanc de réactifs.

4.1.2 Les produits d'entretien, les crèmes protectrices, les savons contenant des antiseptiques, les insecticides en aérosols, les parfums et les cosmétiques peuvent tous causer des problèmes d'interférence et sont particulièrement gênants lorsqu'on utilise un détecteur à capture électronique. Il n'y a pas d'autre solution au problème que d'interdire l'utilisation de ces produits dans le laboratoire.

4.1.3 Les lubrifiants, les produits de scellement, les matières plastiques, les caoutchoucs naturels et synthétiques, les gants de protection, l'huile provenant des conduites d'air et les impuretés de fabrication dans les cuvettes d'extraction, les papiers filtres et l'ouate peuvent aussi être sources de contamination.

4.1.4 Les réactifs chimiques, les adsorbants et les solvants utilisés en laboratoire peuvent renfermer, adsorber ou absorber des constituants susceptibles de gêner l'analyse. Il faut parfois purifier les réactifs et les adsorbants et il est généralement nécessaire d'utiliser des solvants redistillés. L'eau déionisée est souvent suspecte et on lui préférera l'eau redistillée. L'eau du robinet ou celle d'un puits est souvent utilisable.

4.1.5 La contamination de la verrerie, des seringues et des colonnes de chromatographie gazeuse peut provenir d'échantillons ou d'extraits précédents. Toute la verrerie doit être nettoyée avec un détergent, rincée à fond avec de l'eau distillée (ou autre eau propre), puis rincée avec le solvant qui sera utilisé. La verrerie qui servira à l'analyse des traces doit être gardée séparément et ne pas être utilisée à d'autres fins.

4.1.6 Il faudrait toujours conserver les pesticides de référence à une température appropriée dans une pièce séparée du laboratoire principal. Les solutions et extraits concentrés de référence devraient être placés ailleurs.

4.1.7 Il faut se méfier des appareils contenant du polychlorure de vinyle (PVC) et, s'il a été démontré qu'ils sont une source de contamination, il faut en interdire l'introduction dans le laboratoire d'analyse des résidus. D'autres matières contenant des plastifiants sont également suspectes, mais le PTFE et les caoutchoucs de silicone sont en général acceptables, ainsi que d'autres produits dans certaines conditions. Les récipients de stockage des échantillons peuvent provoquer une contamination, aussi faut-il toujours utiliser des flacons en verre munis de bouchons rodés. Les instruments d'analyse devraient toujours être rangés dans une pièce séparée. La nature et l'importance de la contamination peuvent varier selon les techniques de détermination utilisées et les concentrations de résidus de pesticides à déterminer. On peut réduire ces problèmes de contamination, qui sont importants si l'on utilise la chromatographie gazeuse ou la chromatographie liquide à haute résolution en complétant la détermination par une analyse spectrophotométrique ou inversement. Si les concentrations de résidus sont relativement élevées, les interférences dues aux solvants et à d'autres substances peuvent être insignifiantes par rapport à la quantité de résidus présente, mais de nombreux problèmes peuvent être résolus à l'aide de détecteurs spécifiques. En outre, si le contaminant ne gêne pas la détermination du résidu recherché, sa présence peut être tolérée.

4.1.8 Les analyses de résidus et de préparations doivent se faire dans des installations de laboratoire complètement séparées. Les échantillons et la préparation des échantillons doivent être séparés de toutes les opérations de laboratoire de résidus afin d'empêcher toute contamination croisée.

## 4.2 RÉCEPTION ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

4.2.1 Chaque échantillon reçu en laboratoire devrait être accompagné de renseignements complets sur l'origine de l'échantillon, sur l'analyse requise et sur les dangers potentiels associés à sa manipulation.

4.2.2 À la réception, il faut attribuer immédiatement à l'échantillon un code d'identification unique qui l'accompagnera à toutes les étapes de l'analyse jusqu'à la présentation des résultats. On utilisera un système approprié de contrôle de l'élimination des échantillons, pour lequel on tiendra un registre complet.

4.2.3 La transformation des échantillons et le sous-échantillonnage devraient être effectués à l'aide de procédés qui fournissent des portions d'essai représentatives et n'ont pas d'effet sur la concentration de résidus présents.

4.2.4 Si des échantillons ne peuvent être analysés immédiatement mais doivent être analysés rapidement, ils doivent être réfrigérés à une température de 1 à 5°C, à l'abri de la lumière solaire directe et analysés dans les jours qui suivent. Toutefois, les échantillons reçus surgelés doivent être conservés à  $\leq -16$  °C jusqu'à l'analyse. Dans certains cas, il peut être nécessaire de stocker les échantillons pendant une période plus longue avant l'analyse. La température de stockage doit alors être d'environ -20°C, température à laquelle la dégradation enzymatique des résidus de pesticides est habituellement très lente. Si l'on ne peut éviter un stockage prolongé, on en vérifiera les effets en analysant des échantillons enrichis dans les mêmes conditions et pendant le même laps de temps. Des informations utiles sur la stabilité au stockage des résidus de pesticides figurent dans les publications annuelles de la FAO intitulées Résidus de pesticides – Évaluations préparées par la JMPR FAO/OMS, complétées par les renseignements fournis par les fabricants pour appuyer l'homologation de leurs pesticides.

4.2.5 Lorsqu'il faut congeler des échantillons, il est recommandé de prélever des portions d'essai avant la congélation afin de réduire au minimum l'effet possible de la séparation de l'eau en cristaux de glace durant le stockage. Il faudra aussi faire en sorte que toute la portion d'essai soit utilisée dans l'analyse.

4.2.6 Les récipients doivent être étanches. Ni les récipients utilisés pour le stockage ni leurs couvercles ou bouchons ne doivent permettre une fuite de ou des analyse(s).

## 4.3 PROTOCOLES NORMALISÉS

4.3.1 Il faut utiliser des protocoles normalisés pour toutes les opérations. Ceux-ci doivent contenir des instructions de travail complètes ainsi que des informations sur l'applicabilité, les performances prévues, les exigences en matière de contrôle de qualité interne (vérification des performances) et le calcul des résultats. Ils devraient également contenir des informations sur tout danger découlant de la méthode, des produits étalons ou des réactifs.

4.3.2 Tout écart par rapport à un protocole normalisé doit être autorisé par l'analyste responsable et consigné.

## 4.4 VALIDATION DES MÉTHODES<sup>1</sup>

4.4.1 Des directives ont été publiées pour la validation de procédures d'analyse de différents types. Les principes décrits dans la présente section sont considérés comme pratiques et adaptés à la validation de méthodes d'analyse des résidus de pesticides. Il ne s'agit pas de directives normatives. L'analyste devrait décider du degré de validation requis pour montrer que la méthode est adaptée à l'objectif prévu, et devrait fournir les données de validation en conséquence. Par exemple, les spécifications concernant les essais de conformité avec les LMR ou la fourniture de données pour l'estimation de l'apport peuvent être forts différentes.

4.4.2 On entend par méthode d'analyse la série de procédés à suivre depuis la réception d'un échantillon jusqu'à la production du résultat final. La validation est le processus permettant de vérifier qu'une méthode est adaptée au but recherché. La méthode peut être élaborée sur place, prise dans la documentation ou

---

<sup>1</sup> Cette section est fondée sur les recommandations élaborées par une Consultation AOAC/FAO/AIEA tenue à Miskolc, Hongrie, en 1999. Le document intégral est disponible sur [www.iaea.org/trc](http://www.iaea.org/trc) et dans A. Fajgelj & A. Ambrus Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of Chemistry, 2000.

obtenue auprès d'un tiers. Elle sera ensuite adaptée ou modifiée afin de répondre aux exigences et aux capacités du laboratoire et/ou au but dans lequel la méthode sera utilisée. En général, la validation a lieu une fois que l'élaboration de la méthode est terminée et l'on suppose que des spécifications telles que l'étalonnage, la pertinence du système, la stabilité de l'analyte, etc., ont été établis de manière satisfaisante. Lorsqu'on valide et qu'on utilise une méthode d'analyse, il faut prendre des mesures dans la fourchette étalonnée du système de détection utilisé. Généralement, la validation précède l'application pratique de la méthode à l'analyse des échantillons, mais la vérification de performance ultérieure est un aspect de continuité important du processus. Les spécifications concernant les données de vérification des performances constituent une sous-série de celles requises pour la validation de la méthode.

Les essais d'efficacité (ou d'autres méthodes d'essais inter-laboratoires), chaque fois que possible, constituent un important moyen de vérifier l'exactitude générale des résultats fournis par une méthode et donnent des informations sur la variabilité des résultats d'un laboratoire à l'autre. Toutefois, les essais d'efficacité ne portent pas habituellement sur la stabilité ou l'homogénéité de l'analyte ni sur l'extractabilité des analytes dans l'échantillon traité.

Lorsque des données sur l'incertitude sont nécessaires, elles doivent inclure des données sur la vérification des performances et ne pas s'appuyer uniquement sur les données de validation de la méthode.

4.4.3 Chaque fois qu'un laboratoire entreprend d'élaborer et/ou de modifier une méthode, les effets des variables analytiques devraient être établis, par exemple en recourant à des essais de robustesse avant la validation. Des contrôles rigoureux doivent être effectués en respectant tous les aspects de la méthode qui peuvent influencer sur les résultats tels que: taille des échantillons, coefficients de partage; variations dans la performance des dispositifs de purification utilisés, stabilité des réactifs ou des dérivés préparés; effets de la lumière, de la température, des solvants et du stockage sur les analyses dans les extraits; effets des solvants, des injecteurs, des systèmes de séparation sur colonne, des caractéristiques des phases mobiles (composition et vitesse d'écoulement), température, système de détection, co-extractifs, etc. sur le procédé de détermination. Il est très important que les rapports qualitatifs et quantitatifs entre le signal mesuré et l'analyte recherché soient établis sans la moindre équivoque.

4.4.4 On donnera la préférence aux méthodes applicables aux analyses multi-résidus ou multi-matrices. L'emploi d'analytes ou de matrices représentatifs est un outil important pour valider les méthodes. À cette fin, il conviendra de différencier suffisamment les produits, mais pas inutilement. Ainsi, certains produits sont disponibles dans une vaste gamme de variantes manufacturées mineures ou de variétés cultivées, ou de races, etc. En général, mais pas obligatoirement, une variante unique d'un produit particulier peut être considérée comme en représentant d'autres du même produit mais, par exemple, une seule espèce de fruit ou une seule espèce de légume ne doit pas être considérée comme représentant tous les fruits ou tous les légumes (tableau 5). Chaque cas doit être considéré en fonction des avantages qu'il présente, mais lorsque l'on sait que des variantes dans un produit diffèrent des autres dans leurs effets sur les performances de la méthode, ces variantes doivent être analysées. Il peut y avoir de très grandes différences d'une espèce à l'autre dans l'exactitude et la précision des méthodes, en particulier concernant le stade de la détermination.

4.4.4.1 Lorsque l'expérience affiche les mêmes performances en ce qui concerne l'extraction et la purification entre des produits/matrices d'échantillons similaires, une approche simplifiée peut être adoptée pour la validation des performances. Un produit représentatif peut être choisi dans le tableau 5 pour représenter chaque groupe de produits ayant des propriétés communes, et utilisé pour la validation du procédé ou de la méthode. Dans le tableau 5, les produits sont classés selon la Classification Codex<sup>2</sup>.

Les données sur la validation d'une méthode peuvent être étendues à d'autres produits de la manière suivante:

- **céréales**, la validation pour les céréales complètes ne peut être considérée comme s'appliquant au son ou au pain, mais la validation pour les grains de blé peut s'appliquer aux grains d'orge ou à la farine de blé;
- **produits animaux**, la validation pour le muscle ne devrait pas être considérée comme s'appliquant à la graisse ou aux abats, mais la validation pour la graisse de poulet peut s'appliquer à la graisse de bovins;

---

<sup>2</sup> Classification Codex des produits destinés à l'alimentation humaine et animale (CAC/MISC 4-1993).

- **fruits et légumes**, la validation pour un produit frais entier ne peut être considérée comme s'appliquant au produit séché, mais la validation pour les choux peut s'appliquer aux choux de Bruxelles.

4.4.4.2 De la même manière, on peut utiliser des analytes représentatifs pour évaluer les performances d'une méthode. Il faut sélectionner des composés pour couvrir les propriétés physiques et chimiques des analytes devant être déterminés par la méthode. La sélection des analytes représentatifs doit être faite sur la base de l'objectif et du champ d'application de l'analyse en tenant compte des éléments suivants:

- (a) Les analytes représentatifs sélectionnés devraient:
  - (i) Posséder une gamme suffisamment large de propriétés physico-chimiques pour inclure celles des analytes représentés;
  - (ii) Figurer parmi ceux qui ont le plus de chances d'être détectés régulièrement, ou pour lesquels des décisions critiques doivent être prises sur la base des résultats.
- (b) Dans la mesure du possible, tous les analytes inclus dans le processus de validation initial devraient être ceux qui doivent être testés régulièrement et qui peuvent être déterminés simultanément par le système de dosage utilisé.
- (c) La concentration des analytes utilisés pour caractériser une méthode devrait être choisie de manière à couvrir les limites acceptées (LA, voir Glossaire) de tous les analytes devant être recherchés dans tous les produits. Il s'ensuit que les analytes représentatifs sélectionnés devraient comprendre, entre autres, ceux qui ont des LA élevées et basses. Il s'ensuit que les niveaux d'enrichissement utilisés dans les essais de performance avec des analytes/produits représentatifs pourraient ne pas correspondre aux LA réelles.

4.4.5 Lorsque des données appropriées sont déjà disponibles, il n'est pas nécessaire que l'analyste effectue tous les essais. Néanmoins, toutes les informations requises doivent être incluses ou mentionnées dans les registres de validation. Le tableau 1 donne une vue d'ensemble des paramètres à évaluer pour la validation d'une méthode selon le statut de la méthode à valider. Des paramètres et critères spécifiques à évaluer sont énumérés au tableau 2. On évaluera uniquement les paramètres convenant à la fois à la méthode et à l'objectif pour lequel la méthode particulière doit être appliquée. Dans de nombreux cas, les caractéristiques de performance par rapport à plusieurs paramètres peuvent être obtenues simultanément en utilisant une seule expérience. Les plans d'expérience où différents facteurs sont modifiés en même temps (plans expérimentaux factoriels), peuvent aider à réduire au minimum les ressources nécessaires. Les performances de la méthode d'analyse devraient être vérifiées, d'abord durant son élaboration, et ensuite durant son utilisation, comme il est indiqué à la section 4.5, selon les critères mentionnés au tableau 3.

4.4.6 Les méthodes individuelles (pour un seul résidu) doivent être entièrement validées avec tous les analytes et les produits à analyser spécifiés à cette fin, ou à l'aide de matrices d'échantillon représentatives de celles qui seront testées par le laboratoire.

4.4.7 Les méthodes spécifiques de groupe (GSM) devraient être validées au départ avec un ou plusieurs produits représentatifs et un minimum de deux analytes représentatifs choisis dans le groupe.

4.4.8 Les méthodes multi-résidus (MRM) peuvent être validées avec des produits représentatifs et des analytes représentatifs.

## 4.5 VÉRIFICATION DES PERFORMANCES

4.5.1 Les principaux objectifs de la vérification des performances sont les suivants:

- *Suivre les performances de la méthode dans les conditions réelles d'utilisation;*
- *Prendre en compte l'effet des variations inévitables dues, par exemple, à la composition des échantillons, aux performances des instruments, à la qualité des substances chimiques, aux performances variables des analystes et aux conditions d'essai en laboratoire;*
- *Démontrer que les caractéristiques de performance de la méthode sont en grande partie similaires à celles établies au moment de la validation de la méthode, montrant que la méthode est sous « contrôle statistique », et l'exactitude et l'incertitude des résultats sont comparables à*

*ceux attendus de la méthode. Dans ce but, les données obtenues durant la validation de la méthode peuvent être mises à jour avec les données collectées à partir de la vérification des performances durant l'utilisation normale de la méthode.*

Les résultats du contrôle interne de la qualité fournissent des informations essentielles sur la reproductibilité à long terme et d'autres caractéristiques de performance de la méthode, y compris les analytes et les produits qui sont incorporés durant l'extension de la méthode.

Les caractéristiques de performance fondamentales à tester et les procédés appropriés sont décrits au tableau 2.

Pour une vérification efficace des performances, il faut procéder simultanément à l'analyse des échantillons et aux analyses de contrôle de la qualité appropriées (détermination des témoins et des taux de récupération, matériaux de référence, etc.). Afin de vérifier les tendances des performances de la méthode et faire en sorte que le contrôle statistique soit maintenu, on utilisera des diagrammes de contrôle.

#### **4.5.2 Établissement et utilisation des diagrammes de contrôle**

4.5.2.1 Le diagramme de contrôle peut être un instrument utile pour démontrer les performances d'une méthode et la reproductibilité du paramètre sélectionné. Exemple, le diagramme de contrôle pour les taux de récupération. Son application sera fonction des tâches du laboratoire. Lorsqu'un grand nombre du même type d'échantillon est analysé pour les mêmes ingrédients actifs, le diagramme de contrôle s'appuie sur le taux de récupération moyen et son écart type obtenus durant l'utilisation normale de la méthode. Lorsqu'un petit nombre de chaque type d'une grande variété d'échantillons est analysé pour un grand nombre d'analytes avec une procédure multi-résidus, les diagrammes de contrôle peuvent être appliqués de la façon habituelle. Dans de tels cas, au départ, un diagramme de contrôle est établi avec le taux de récupération moyen ( $Q$ ) des analytes représentatifs dans des matrices représentatives et le coefficient de variation ( $CV_{Atyp}$ ) de la reproductibilité type en laboratoire, obtenu comme décrit ci-dessous. Lorsque les données sur le taux de récupération moyen et leur coefficient de variation obtenu durant la validation de la méthode pour des analytes/matrices d'échantillon ne sont pas statistiquement différentes, chacune peut être considérée comme une estimation du taux de récupération réel et de la précision de la méthode; en les combinant de façon appropriée, on peut déterminer le taux de récupération type ( $Q_{typ}$ ) et le coefficient de variation ( $CV_{Atyp}$ ) de la méthode et les utiliser pour établir le premier diagramme de contrôle. Les limites d'avertissement et d'action sont  $Q_{typ} \pm 2 * CV_{Atyp} * Q$  et  $Q_{typ} \pm 3 * CV_{Atyp} * Q$ , respectivement.

4.5.2.2 Lorsque la méthode est appliquée pour l'analyse normale de diverses combinaisons analyte/matrice représentées durant la validation de la méthode, chaque taux de récupération est indiqué sur le diagramme. La reproductibilité de la méthode durant son utilisation normale pourrait être légèrement supérieure à celle obtenue durant la validation de la méthode. Par conséquent, si certains taux de récupération dépassent occasionnellement les limites d'avertissement, les limites d'action, mais qu'ils sont dans les fourchettes calculées à partir des valeurs  $CV_A$  spécifiées au tableau 3, il n'y a aucune mesure spéciale à prendre.

4.5.2.3 Sur la base des 15-20 essais de récupération supplémentaires effectués durant l'utilisation normale de la méthode, dans le cadre de la vérification des performances, le taux de récupération moyen ou type et le  $CV_A$  devront être recalculés et un nouveau diagramme de contrôle sera établi reflétant la reproductibilité à long terme de l'application de la méthode. Les nouveaux paramètres établis doivent se situer dans les fourchettes acceptables spécifiées au tableau 3.

4.5.2.4 Si cela est difficile à réaliser, par exemple dans le cas d'analytes particulièrement problématiques, les résultats obtenus à partir des échantillons devraient être signalés comme présentant une exactitude et une précision moindres que celles qui sont normalement associées à la détermination des résidus de pesticides.

4.5.2.5 Durant l'utilisation normale de la méthode, si la moyenne des  $\geq 10$  premiers essais de récupération pour un analyte/matrice d'échantillon particulier s'écarte sensiblement ( $P=0,05$ ) du taux de récupération moyen obtenu pour les analytes/matrices d'échantillons représentatifs, les  $Q_{typ}$  et  $CV_{typ}$  ne sont pas applicables. Il faut alors calculer les nouvelles limites d'avertissement et d'action pour l'analyte/matrice d'échantillon particulier, en appliquant le nouveau taux de récupération moyen et les valeurs de coefficient de variation mesurées.



4.5.2.6 Si les données relatives à la vérification des performances dépassent à plusieurs reprises les limites d'avertissement (sur 20 mesures, on peut en accepter une dépassant la limite), il faut vérifier les conditions d'application de la méthode, détecter les sources d'erreur(s) et prendre les mesures correctrices qui s'imposent avant de continuer à utiliser cette méthode.

4.5.2.7 Si les données relatives à la vérification des performances dépassent les limites d'action affinées établies comme aux points 4.5.2.1 à 4.5.2.3, il faudra répéter l'essai sur le lot analytique (ou du moins sur les échantillons dans lesquels on trouve des résidus  $\geq 0,7$  LA ou  $0,5$  LA, pour des analytes détectés régulièrement ou occasionnellement, respectivement).

4.5.2.8 Procéder à une deuxième analyse des portions d'essai d'échantillons positifs pour mieux vérifier les performances. Les résultats peuvent servir à calculer la reproductibilité globale en laboratoire de la méthode ( $CV_{L_{typ}}$ ) en général ou pour un analyte/matrice d'échantillon particulier. Dans ce cas, le  $CV_{L_{typ}}$  comprendra aussi l'incertitude du traitement de l'échantillon, mais n'indiquera pas si l'analyte est perdu durant ce processus.

## 4.6 ÉPREUVES DE CONFIRMATION

4.6.1 Lorsque les analyses sont effectuées à des fins de suivi ou de contrôle de l'application, il est particulièrement important de produire des données de confirmation avant de signaler que des échantillons contiennent des résidus de pesticides qui normalement, ne devraient pas se trouver dans le produit en cause ou que les LMR semblent dépassées. Les échantillons peuvent contenir des substances chimiques perturbatrices qui peuvent être prises à tort pour des pesticides. En chromatographie gazeuse par exemple, on peut mentionner la réponse des détecteurs à capture électronique aux esters de phthalate et celle des détecteurs spécifiques du phosphore aux composés contenant du soufre et de l'azote. Comme première étape, on peut répéter l'analyse en utilisant la même méthode, si une seule portion a été analysée au départ. Cela confirmera la répétabilité du résultat, si le résidu est confirmé. On notera que la seule preuve à l'appui de l'absence de résidus détectables est fournie par les données de vérification des performances.

4.6.2 Les épreuves de confirmation peuvent être quantitatives et/ou qualitatives mais, dans la majorité des cas, il faudra fournir les deux types d'information. Des problèmes particuliers se posent lorsque les résidus doivent être confirmés au seuil de détermination ou à proximité; toutefois, bien qu'il soit difficile de quantifier les résidus à ce niveau, il est essentiel de fournir une confirmation adéquate tant sur le niveau que sur l'identité.

4.6.3 Les épreuves de confirmation nécessaires peuvent être fonction du type d'échantillons et des faits antérieurs connus. Dans un certain nombre de plantes cultivées ou de produits, on trouve presque toujours certains résidus. Dans le cas d'une série d'échantillons de même origine, qui contiennent des résidus du même pesticide, il peut suffire de confirmer l'identité des résidus dans une petite proportion des échantillons choisis au hasard. De manière analogue, lorsque l'on sait qu'un pesticide déterminé a été appliqué au produit échantillonné, la confirmation de l'identité du résidu peut être superflue; il convient néanmoins d'y procéder sur une partie d'échantillons choisis au hasard. Si l'on dispose d'échantillons à blanc, on s'en servira pour déceler la présence éventuelle de substances perturbatrices.

4.6.4 Suivant la technique de détermination utilisée au départ, il peut être nécessaire d'utiliser une autre procédure (qui peut être une technique de détection différente) pour une vérification de la quantité. S'il s'agit d'une confirmation qualitative (identité) il est souhaitable d'utiliser des données de masse spectrale, ou une combinaison de techniques compte tenu des différentes propriétés physico-chimiques (voir tableau 6).

4.6.5 L'analyste doit décider lui-même de la marche à suivre pour identifier un résidu de façon certaine; il s'efforcera tout particulièrement de choisir une méthode permettant d'amoindrir les effets des substances perturbatrices. Dans le choix de la (des) technique(s), il faudra également tenir compte du matériel et des compétences techniques disponibles. D'autres méthodes de confirmation sont présentées au tableau 6.

## 4.7 SPECTROMÉTRIE DE MASSE

4.7.1 Les données de résidus obtenues à l'aide de la spectrométrie de masse peuvent représenter la preuve déterminante et, si l'on dispose d'un matériel approprié, elle est la technique de choix. Cette technique peut également servir pour le dépistage des résidus. Elle est en général appliquée conjointement avec une technique de séparation chromatographique, ce qui permet d'obtenir des données sur le temps de rétention, le

rapport masse/charge des ions et l'abondance de ceux-ci. La technique de séparation particulière, la spectrométrie de masse, l'interface et la gamme de pesticides à analyser sont en général interdépendants et il n'y a pas de combinaison unique se prêtant à l'analyse de tous les composés. La transmission quantitative d'analytes labiles dans le système chromatographique et l'interface pose des problèmes analogues à ceux posés par d'autres détecteurs. La présence d'un résidu est confirmée de façon certaine avec la formation de son spectre complet de masse moyennant ionisation par impact électronique (dans la pratique généralement de  $m/z$  50 à un niveau dépassant la région des ions moléculaires). L'abondance relative d'ions dans le spectre et l'absence d'ions perturbateurs jouent un rôle important pour confirmer l'identité. Cette méthode d'analyse est l'une des moins sélectives; il faudrait éviter très soigneusement les perturbations dues à des contaminants introduits durant la production ou le stockage d'extraits. Les systèmes de données de spectrométrie de masse permettent de supprimer les signaux de perturbation de fond (par exemple, perte de colonne) moyennant "soustraction" de ces perturbations, mais il faudra utiliser cette technique avec prudence. On peut en général renforcer la sensibilité par une exploration dans une gamme de masses délimitée ou le contrôle d'ions déterminés, mais plus le nombre d'ions surveillés est petit (particulièrement si leur masse est faible), moins les données obtenues seront définitives. On aura une confirmation supplémentaire de l'identité i) en utilisant la colonne de chromatographie; (ii) en utilisant une autre technique d'ionisation (par exemple ionisation chimique); (iii) en surveillant les autres produits de réaction d'ions déterminés par spectrométrie de masse par tandem (SM/SM ou SM<sup>n</sup>); ou iv) en surveillant certains ions à une résolution de masse accrue. Concernant la quantification, les ions surveillés devraient être ceux qui sont les plus spécifiques de l'analyte, qui sont sujets à moins de perturbation et fournissent de bons rapports signal-bruit. Les déterminations par la spectrométrie de masse devraient satisfaire aux mêmes critères de contrôle de la qualité de l'analyse que ceux appliqués aux autres systèmes.

4.7.2 La confirmation des résidus détectés après séparation à l'aide de la CLHR pose généralement plus de problèmes que la chromatographie gazeuse. Si la détection se fait par absorption de rayons UV, la production d'un spectre complet peut fournir une bonne preuve de l'identité. Toutefois, les spectres UV de certains pesticides ne sont pas très utiles pour le diagnostic, étant semblables à ceux produits par de nombreux autres composés possédant des groupes ou structures fonctionnels semblables, et la coélution de composés perturbateurs peut créer d'autres problèmes. Les données sur l'absorption d'UV produites à de multiples longueurs d'onde peuvent appuyer ou réfuter l'identification mais, en général, elles ne sont pas suffisamment caractéristiques par elles-mêmes. Les données sur la fluorescence peuvent être utilisées pour appuyer celles obtenues par l'absorption de rayons UV. La CPL-SM peut fournir de bonnes preuves mais, du fait que les spectres produits sont généralement très simples, montrant peu de fragmentation caractéristique, les résultats obtenus avec cette technique n'ont guère de chances d'être définitifs. La CPL-SM/SM est une technique plus efficace, associant sélectivité et spécificité, et qui fournit souvent de bonnes preuves de l'identité d'un pesticide. Les techniques CPL-SM tendent à être sujettes aux effets de matrices, en particulier la suppression, et la confirmation de la quantité pourrait donc exiger le recours à l'addition de produits étalons ou de produits isotopiquement étiquetés. La production de dérivés peut aussi être utilisée pour la confirmation de résidus détectés par la CLHR (paragraphe 4.6.5.4).

4.7.3 Dans certains cas, l'analyse chromatographique en couche mince est le moyen le plus commode de confirmer les résultats de la chromatographie gazeuse. L'identification repose sur deux critères, la valeur de R<sub>f</sub> et la réaction de visualisation. Les méthodes de détection fondées sur les titrages biologiques (par exemple, enzymes, moisissures, inhibition des chloroplastes) sont particulièrement adaptées à la confirmation qualitative car elles sont spécifiques de certains types de composés, sensibles et normalement très peu affectées par les co-extraits. La documentation scientifique existante contient de nombreuses références à cette technique: L'UICPA Report on Pesticides (13) (Bátora, V., Vitorovic, S.Y., Thier, H.-P. et Klisenko, M.A.; Pure & Appl. Chem., 53, 1039-1049 (1981) fait le point sur cette technique et constitue une bonne introduction. Sur le plan quantitatif toutefois, la chromatographie en couche mince donne des résultats limités. Un prolongement à cette méthode consiste à retirer la partie de la plaque correspondant au R<sub>f</sub> puis à procéder à une élution de la substance à analyser à partir du support, afin de poursuivre la confirmation par analyse chimique ou physique. Il convient toujours de déposer sur la plaque à côté de l'extrait d'échantillon à analyser une tache du pesticide de référence afin d'éviter tout problème de non-répétabilité du R<sub>f</sub>. Le dépôt d'une tache de pesticide de référence par-dessus la tache d'extrait peut aussi donner des informations utiles. Les avantages de la chromatographie en couche mince sont sa rapidité, son faible coût et son applicabilité à des produits sensibles à l'action de la chaleur. Ses inconvénients sont (en général) une sensibilité et une

capacité de séparation inférieures à celles des techniques de détection chromatographiques au moyen d'instruments et le besoin d'une purification plus efficace dans le cas de détections fondées sur des réactions chromatiques des substances chimiques.

#### 4.8 PRODUCTION DE DÉRIVÉS

Ces méthodes de confirmation peuvent être réparties en trois groupes principaux:

##### a) Réactions chimiques

On a fréquemment recours à des réactions chimiques de faible ampleur pour obtenir des produits de dégradation, d'addition ou de condensation des pesticides, qui sont ensuite réexaminés par des techniques chromatographiques. Ces produits n'ont ni le même temps de rétention ni les mêmes modalités d'apparition dans les détecteurs que les composés initiaux. Un échantillon de pesticides de référence doit être traité à côté du résidu présumé, de manière à pouvoir comparer directement les résultats. Un extrait enrichi doit également être inclus afin de prouver que la réaction s'est produite en présence d'un échantillon du produit à analyser. Il peut y avoir une perturbation lorsque des produits dérivés sont détectés par les propriétés du réactif dérivé. Un inventaire des réactions chimiques utilisées pour les épreuves de confirmation, a été fait par Cochrane, W.P. (Chemical derivatisation in pesticide analysis, Plenum Press, NY (1981)). Les réactions chimiques ont l'avantage d'être rapides et faciles à effectuer, mais il peut être nécessaire d'acheter des réactifs spéciaux et de les purifier.

##### b) Réactions physiques

Il peut être intéressant de déterminer une altération photochimique d'un résidu de pesticide en vue d'obtenir un ou plusieurs produits ayant un chromatogramme reproductible. Un échantillon de pesticide de référence et un extrait enrichi doivent toujours être traités parallèlement. Si les échantillons contiennent plus d'un seul résidu de pesticides, l'interprétation des résultats peut être difficile. En tels cas, on peut séparer au préalable certains résidus par chromatographie en couche mince, chromatographie en phase liquide à haute résolution ou par fractionnement de la colonne.

##### c) Autres méthodes

De nombreux pesticides peuvent être dégradés/transformés par des enzymes. Contrairement aux réactions chimiques normales, ces processus sont très spécifiques et entrent généralement dans l'une des catégories suivantes: oxydation, hydrolyse ou de-alkylation. Les produits de conversion ont des caractéristiques chromatographiques différentes du pesticide de départ et la comparaison avec les produits de conversion obtenus avec des pesticides de référence peut être utile pour la confirmation.

#### 4.9 LE CONCEPT DE CONCENTRATION ÉTALONNÉE LA PLUS FAIBLE (CEPF)

4.9.1 Lorsque l'analyse a pour objectif de suivre et de vérifier le respect des LMR ou d'autres limites acceptées (LA), les méthodes appliquées aux résidus doivent être suffisamment sensibles pour déterminer de façon fiable les résidus qui pourraient être présents dans une plante cultivée ou dans un échantillon du milieu à ou à proximité de la LMR ou des LA. Toutefois, il n'est pas nécessaire d'utiliser des méthodes ayant une sensibilité permettant de déterminer des quantités de résidus deux ou trois fois inférieures. Les méthodes élaborées pour mesurer les résidus à des concentrations très faibles sont habituellement très chères et difficiles à appliquer. L'emploi des CEPF (voir glossaire) aurait l'avantage de réduire la difficulté technique d'obtenir les données et en outre réduirait les coûts. Les propositions suivantes concernant les CEPF dans divers échantillons pourraient être utiles et permettre aux analystes des résidus de concevoir des méthodes appropriées.

4.9.2 Pour les ingrédients actifs pour lesquels il existe des LMR, les CEPF peuvent être indiquées sous forme de fraction de la LMR. Pour faciliter l'analyse, cette fraction variera et pourrait être comme suit:

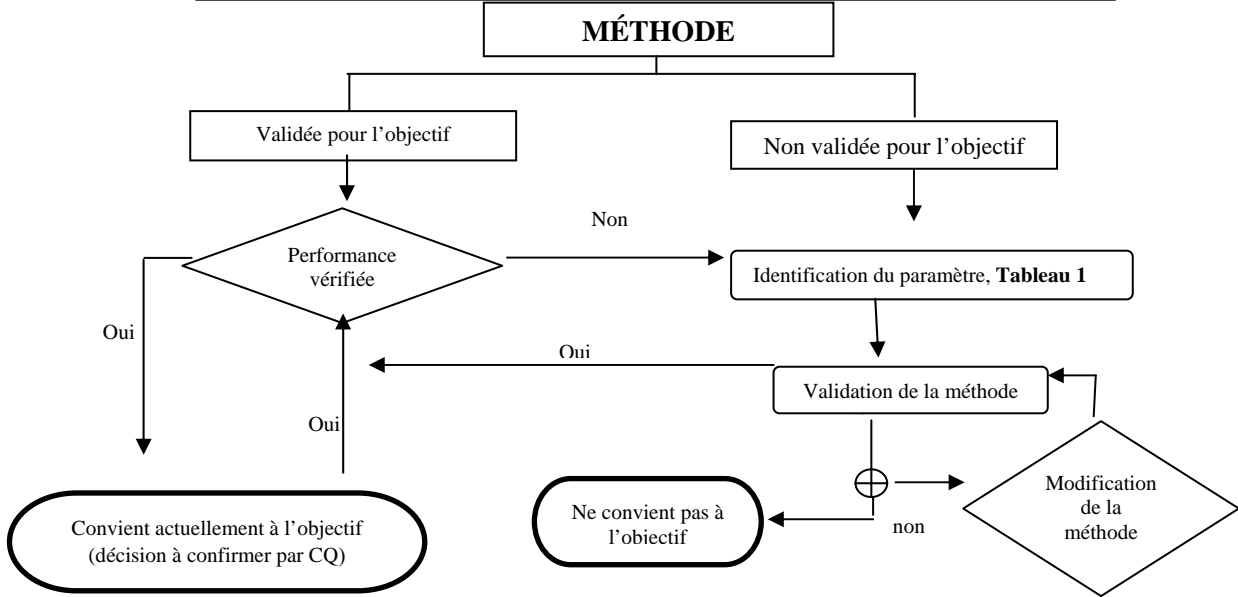
LMR (mg/kg)	CEPF (mg/kg)
5 ou plus	0,5
0,5 à 5	0,1 passant à 0,5 pour des LMR plus élevées
0,05 à 0,5	0,02 passant à 0,1 pour les LMR
moins de 0,05	0,5 x LMR

Lorsque la LMR est fixée à la limite de détermination de la méthode d'analyse, la CEPF sera également à ce niveau.

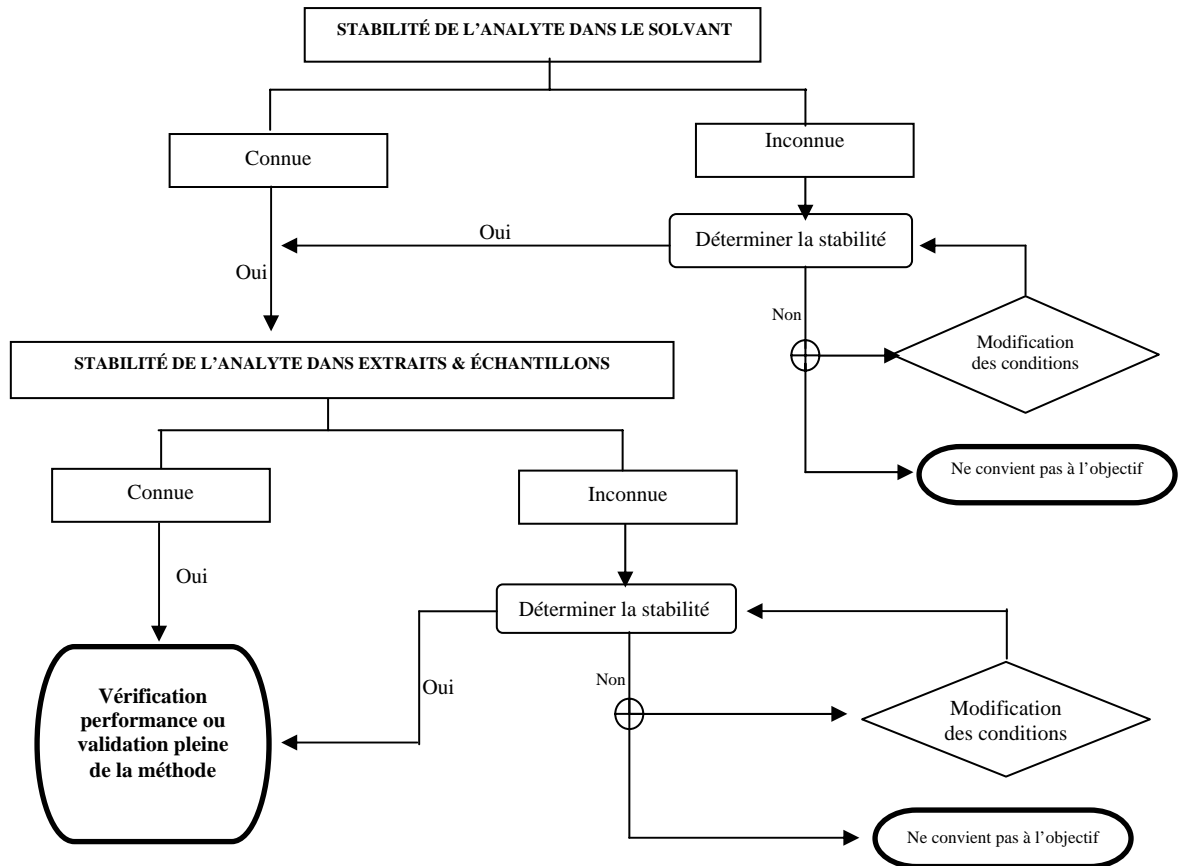
#### **4.10 EXPRESSION DES RÉSULTATS**

À des fins réglementaires, seules des données confirmées seront enregistrées, exprimées telles que définies par la LMR. Les valeurs nulles devraient être consignées comme étant inférieures à la concentration étalonnée la plus faible, plutôt qu'inférieures à la concentration calculée par extrapolation. En général, les résultats ne sont pas corrigés en fonction de la récupération, et ils ne peuvent être corrigés que si le taux de récupération s'écarte sensiblement de 100 pour cent. Si les résultats sont donnés corrigés en fonction de la récupération, il faut donner à la fois les valeurs mesurées et les valeurs corrigées. Il faut aussi indiquer la base adoptée pour la correction. Lorsque des résultats positifs obtenus par des déterminations répétées (par exemple sur différentes colonnes de CG, avec différents détecteurs ou sur la base d'ions différents des spectres de masse) d'une seule portion d'essai (sous-échantillon), on consignera la valeur la plus basse obtenue. Lorsque des résultats positifs dérivent de l'analyse de plusieurs portions d'essai, on enregistrera la moyenne arithmétique des valeurs les plus faibles obtenues dans chaque portion d'essai. Prenant en compte, en général, une précision relative de 20-30 pour cent, les résultats devraient être exprimés seulement avec 2 chiffres significatifs (par exemple: 0,11, 1,1, 11 et  $1,1 \times 10^2$ ). Étant donné qu'à de plus faibles concentrations, la précision peut être de l'ordre de 50 pour cent, les valeurs de résidus inférieures à 0,1 devraient être exprimées par un chiffre significatif uniquement.

**Figure II.1** Tableau synoptique de la validation de la méthode



**Figure II.2.** Vérification de la stabilité de l'analyte



**Tableau 1 Résumé des paramètres à évaluer pour la validation des méthodes**

PARAMÈTRES À TESTER	Méthode d'analyse existante dont la validité a déjà été démontrée par des essais antérieurs du paramètre, pour une ou plusieurs combinaisons analyte/matrice					Modification d'une méthode existante	Nouvelle méthode, pas encore validée	Types d'expériences pouvant être associés
	Vérification des performances*	Matrice supplémentaire	Analyse supplémentaire	Concentration beaucoup plus basse de l'analyte	Un autre laboratoire			
Spécificité (montrer que le signal détecté est dû à un analyte et non à un composé)	Non (à condition que critères concernant matrices témoins et confirmation de l'analyte soient observés)	Oui, si le contrôle de la qualité montre l'interférence de la matrice	Oui	Oui, si le contrôle de la qualité montre l'interférence de la matrice	Contrôles rigoureux non nécessaires si la performance du système de dosage est similaire ou meilleure	Oui ou non. Des contrôles rigoureux peuvent être nécessaires si le système de dosage est fondamentalement différent ou si l'ampleur des interférences de la matrice est incertaine	Oui. Des contrôles rigoureux peuvent être nécessaires si le système de dosage est différent ou si l'ampleur des interférences des matrices est incertaine, par rapport aux méthodes existantes	
Gamme d'analyse, récupération par extraction, purification, production de dérivés et mesures	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Gamme d'étalonnage Gamme d'analyse LD/LQ Effet de la matrice
Gamme d'étalonnage pour la détermination de l'analyte	Non	Non	Oui	Oui	Oui, pour des analytes représentatifs	Oui, pour des analytes représentatifs	Oui, pour des analytes représentatifs	Linéarité, reproductibilité et signal/bruit
LD et LQ	Non	Oui, (partiel si la matrice provient d'une classe représentée)	Oui, partiel pour les analytes représentés	Oui	Oui	Oui	Oui	Concentration étalonnée la plus faible et données de récupération de matériau enrichi à faible concentration

PARAMÈTRES À TESTER	Méthode d'analyse existante dont la validité a déjà été démontrée par des essais antérieurs du paramètre, pour une ou plusieurs combinaisons analyte/matrice					Modification d'une méthode existante	Nouvelle méthode, pas encore validée	Types d'expériences pouvant être associés
	Vérification des performances*	Matrice supplémentaire	Analyse supplémentaire	Concentration beaucoup plus basse de l'analyte	Un autre laboratoire			
Limite de notification, CEPF	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non	
Stabilité de l'analyte dans extraits d'échantillon <sup>≡</sup>	Non	Oui, sauf si la matrice provient d'une classe représentée	Oui, sauf si l'analyte est représenté	Oui	Non	Non, à moins que l'extraction/solvant final soit différente, ou que la purification soit moins poussée.	Oui, si l'extraction /solvant final est différente de celle utilisée dans une méthode existante, ou si la purification est moins poussée par rapport aux autres méthodes utilisées.	
Stabilité de l'analyte durant le stockage de l'échantillon <sup>≡9</sup>	Oui	Oui	Oui,	Idéalement	Non	Non	Non	
Efficacité de l'extraction <sup>≡v</sup>	Non	Idéalement	Idéalement	Idéalement	Non	Non, sauf dans des conditions d'extraction différentes	Oui, sauf si on utilise une procédure d'extraction déjà testée.	
Homogénéité <sup>≡</sup> des échantillons à analyser	Oui <sup>≡</sup>	Non, sauf si la matrice est sensiblement différente	Non	Non	Non, à moins que l'équipement ne soit changé	Non, à moins que l'équipement ne soit changé	Oui, sauf si on utilise un procédé de transformation de l'échantillon déjà testé	Voir plus bas

PARAMÈTRES À TESTER	Méthode d'analyse existante dont la validité a déjà été démontrée par des essais antérieurs du paramètre, pour une ou plusieurs combinaisons analyte/matrice					Modification d'une méthode existante	Nouvelle méthode, pas encore validée	Types d'expériences pouvant être associés
	Vérification des performances*	Matrice supplémentaire	Analyse supplémentaire	Concentration beaucoup plus basse de l'analyte	Un autre laboratoire			
Stabilité de l'analyte dans la transformation de l'échantillon <sup>≡</sup>	Non	Oui, à moins qu'il ne s'agisse d'une matrice représentée	Oui, à moins qu'il ne s'agisse d'un analyte représenté	Idéalement	Non	Non, à moins que le procédé ne comporte température plus élevée, laps de temps plus long, broyage plus grossier, etc.	Non, à moins que le procédé ne comporte température plus élevée, laps de temps plus long, broyage plus fin, etc. que les procédés validés.	Répétabilité, reproductibilité

\* Contrôle de qualité en cours

<sup>≡</sup> Si on ne dispose pas d'informations pertinentes

<sup>=</sup> Il faut choisir des analytes représentatifs sur la base des caractéristiques de l'hydrolyse, de l'oxydation et de la photolyse.

<sup>9</sup> Les données sur la stabilité dans/sur des produits représentatifs devraient fournir des renseignements suffisants. Des essais supplémentaires sont nécessaires, par exemple, lorsque:

a les échantillons sont stockés pendant un laps de temps dépassant la période d'essai (par exemple stabilité testée pendant 4 semaines et qu'une perte de l'analyte mesurable se produit durant cette période, échantillons non analysés dans un délai de 6 semaines),

b les essais de stabilité sont effectués à  $\leq -18^{\circ}\text{C}$ , mais que les échantillons sont stockés en laboratoire à  $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ;

c les échantillons sont normalement stockés à  $\leq -15^{\circ}\text{C}$ , mais la température de stockage monte jusqu'à  $+5^{\circ}\text{C}$ .

<sup>v</sup> L'information sur l'efficacité de l'extraction peut être disponible auprès du fabricant ou de la société qui s'occupe d'homologuer le composé.

<sup>≡</sup> Occasionnellement, avec une analyse répétée de portions d'essai d'échantillons positifs.



**Tableau 2 Paramètres à évaluer pour la validation de la méthode dans des conditions différentes**

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
<b>1. Performances de la méthode optimisée en laboratoire (un seul laboratoire)</b>					
1.1 Stabilité de l'analyte dans les extraits et solutions étalons	$A \leq LA$ , ou avec des résidus bien détectables	<p>≥5 répliques à chaque point approprié dans le temps (y compris zéro) et pour chaque analyte/produit représentatif. Enrichir les extraits de l'échantillon à blanc pour tester la stabilité des résidus. Comparer la concentration de l'analyte dans des solutions étalons stockées/ récemment préparées.</p>	Aucun changement significatif dans la concentration de l'analyte dans les extraits et produits étalons à analyser stockés ( $P = 0,05$ )	A la fin de la période de stockage, les résidus ajoutés à la CEPF sont détectables	Il faudra procéder à un essai de stabilité si la méthode d'analyse est interrompue durant le procédé de détermination, et il est probable que le matériau sera stocké plus longtemps que pour déterminer la précision, ou si l'on obtient de faibles taux de récupération durant l'optimisation de la méthode. Si les extraits de récupération sont stockés durant l'optimisation de la méthode, le taux de récupération sera mesuré par rapport aux produits d'étalonnage aussi bien "vieux" que "récemment préparés". Le temps de stockage devrait comprendre la période la plus longue qui sera probablement nécessaire pour terminer l'analyse.
1.2 Fonction d'étalonnage  Effet de la matrice	CEPF à 2 (3) fois la LA	<p>Tester les fonctions de réponse de tous les analytes inclus dans la méthode avec ≥2 répliques à ≥3 concentrations de l'analyte plus échantillon à blanc. Pour réponse non linéaire, déterminer la courbe de réponse à ≥7 concentrations et ≥3 répliques.</p> <p>Tester l'effet de la matrice avec tous les analytes et matrices représentatifs. Appliquer les produits étalons préparés dans le solvant et échantillonner les extraits au hasard.</p>	<p>Pour étalonnage linéaire: coefficient de régression des solutions de produits étalons à analyser (<math>r</math>) ≥ 0,99. ET de résidus (<math>S_{y/x}</math>) ≤ 0,1</p> <p>Pour la fonction polynomiale (<math>r</math>) ≥ 0,98. L'effet de la matrice est confirmé si la différence est significative pour <math>P = 0,05</math>.</p>	<p>Pour étalonnage linéaire: coefficient de régression (<math>r</math>) ≥ 0,98. ET de résidus ≤ 0,2</p> <p>Pour la fonction polynomiale (<math>r</math>) ≥ 0,95</p>	<p>On peut établir des paramètres d'étalonnage durant l'optimisation du procédé, la détermination de la précision ou la capacité de détection. Préparer des solutions d'étalonnage à des concentrations différentes.</p> <p>Pour les MRM, procéder à l'étalonnage avec des mélanges d'analytes ("mélange de produits étalons"), qui peuvent être correctement séparés par le système chromatographique.</p> <p>Utiliser des produits étalons concordant avec la matrice pour de nouveaux essais si l'effet de la matrice est significatif. La validation de la méthode pourrait ne pas donner d'information définitive sur les effets de la matrice, car ceux-ci changent avec le temps, avec l'échantillon (parfois), avec la colonne, etc.</p>

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
1.3 Gamme à analyser, exactitude, justesse, précision, limite de détection (LD), limite de quantification (LQ)	CEPF à 2 (3) fois la LA*	Analyser combinaisons matrices/analytes représentatifs: $\geq 5$ portions à analyser enrichies à zéro, CEPF, LA et $\geq 3$ répliques à des concentrations de 2-3 LA. Les essais de récupération devraient être partagés entre tous les analystes qui utiliseront la méthode et les instruments qui serviront pour l'analyse.	La LQ devrait convenir à l'objectif. Taux de récupération moyen et $CV_A$ voir tableau 3. Valeur moyenne des résidus* mesurée dans le matériau de référence ne diffère pas sensiblement de la valeur convenue ( $P = 0,05$ ).	Toutes les récupérations sont détectables à la CEPF	Les analystes devraient démontrer que la méthode convient pour déterminer la présence de l'analyte à la LA appropriée, avec le maximum d'erreurs (faux négatifs et faux positifs) spécifié. Pour les MRM, le niveau d'enrichissement des échantillons à blanc devrait comprendre les LA des analytes représentés. Par conséquent, celles-ci pourraient ne pas correspondre à la LA effective pour les analytes représentatifs. Enrichir les portions à analyser avec des mélanges de substances étalons. Les gammes d'exactitude et de précision déterminées pour les combinaisons analyte/matrice représentatives peuvent être considérées typiques de la méthode, et seront utilisées comme critères d'applicabilité pour l'extension à de nouveaux analytes et produits, et premières orientations pour le contrôle interne de la qualité de la méthode. Consigner les résultats non corrigés, le taux de récupération moyen et le $CV_A$ des répliques. Le $CV_A$ équivaut à la reproductibilité en laboratoire de l'analyse des échantillons. * Corriger les résultats pour le taux de récupération moyen si celui-ci est très différent de 100 %. Lorsque la méthode ne permet pas d'estimer le taux de récupération, l'exactitude et la précision seront celles de l'étalonnage.
1.4 Spécificité et sélectivité de la détection de l'analyte	A la concentration étalonnée la plus faible (CEPF)	Identifier par la spectrométrie de masse, par une technique similaire ou en combinant de façon appropriée les techniques de séparation et de détection disponibles. Analyser $\geq 5$ blancs de chaque	La réponse mesurée est due uniquement à l'analyte. Les résidus mesurés sur deux colonnes différentes devraient être compris dans la	Le taux d'échantillons avec de faux résultats négatifs (erreur $\beta$ ) à la LA devrait être en général $< 5\%$ .	S'applique uniquement à une combinaison particulière de techniques de séparation et de détection. Au lieu d'échantillons non traités, on pourra utiliser des échantillons qui ont été soumis à des traitements que l'on connaît, pour des analytes autres que ceux appliqués durant le traitement.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
		produit représentatif, obtenus de préférence auprès de sources différentes. Consigner l'équivalent de l'analyte dans la réponse du blanc. Déterminer et consigner la sélectivité ( $\delta$ ) du détecteur et les facteurs de réponse relatifs (fRR) des analytes représentatifs avec les détecteurs spécifiques utilisés.	gamme critique des déterminations chromatographiques répétées.		La maturité des matrices de l'échantillon peut influencer dans une large mesure sur la réponse de l'échantillon à blanc. Il faudra contrôler régulièrement les valeurs du blanc durant la vérification des performances (voir Section 4 ci-dessous). Consigner les pics typiques présents dans les extraits d'échantillons à blanc. La CEPF devrait de préférence être $\leq 0,3$ LA, sauf lorsque la LA est fixée à la limite de quantification ou à proximité. L'essai peut être effectué en même temps que la détermination de la limite de décision et la capacité de détection et fournira aussi des informations sur les tRR et fRR des composés. Modifier les conditions chromatographiques si l'échantillon à blanc influe sur l'analyte ou utiliser un autre système de détection. La combinaison appropriée de détecteurs sélectifs augmente la spécificité, car la quantité d'informations sur l'analyte augmente.
1.5 Sélectivité de la séparation	A la LA	Déterminer les valeurs de tRR pour tous les analytes à tester par la méthode (pas seulement les composés de référence). Lorsqu'on utilise des techniques chromatographiques sans détection spectrométrique, il faut appliquer différents principes de séparation et/ou déterminer les tRR sur des colonnes à polarité différente. Déterminer et consigner la résolution ( $R_S$ ) et les facteurs de traîne ( $T_f$ ) des pics critiques.	Le pic maximal le plus proche devrait être séparé du pic désigné de l'analyte par au moins une largeur entière à 10% de la hauteur du pic; sinon, une détection plus sélective de tous les analytes est nécessaire.	Identification provisoire de tous les analytes testés (il n'est pas nécessaire de séparer tous les analytes)	A moins d'utiliser la séparation chromatographique et la détection spectrométrique en combinaison, consigner les valeurs de tRR sur des colonnes de polarité différente, qui permettent de séparer (minimum $R \geq 1,2$ ) tous les analytes testés. L'essai peut être associé avec la détermination de la fonction d'étalonnage et l'effet de la matrice (voir 1.7)

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
1.6 Homogénéité de l'analyte dans l'échantillon à analyser	A proximité de la limite acceptée ou résidus bien détectables	Analyser $\geq 5$ portions identiques d'un échantillon d'essai d'un produit représentatif de chaque groupe (Tableau 5), après traitement. Déterminer le $CV_{Sp}$ avec l'analyse de la variance. On vérifiera l'homogénéité de l'analyte avec des analytes dont la stabilité a été reconnue.	$CV_{Sp} \leq 10\%$ .	$CV_{Sp} \leq 15\%$ Pour les méthodes de dépistage, il est parfois préférable de prélever une portion dans laquelle on peut prévoir qu'il y aura plus de résidus (par exemple peau d'agrumes) et il n'est pas toujours nécessaire qu'elle soit homogène.	Utiliser de préférence des produits dont les résidus d'origine à la surface sont <u>stables</u> ou traiter la surface d'une petite partie des unités naturelles (<20%) de l'échantillon de laboratoire avant de couper ou de hacher pour représenter le scénario le plus défavorable pour le traitement de l'échantillon. Traitement validé pour l'utilisation avec tout procédé ultérieur. Validation applicable à d'autres produits ayant les mêmes propriétés physiques et indépendante de l'analyte. On peut en même temps tester la stabilité de l'analyte (voir Section 1.7 de ce tableau) Déterminer la constante d'échantillonnage <sup>3</sup> <sup>4</sup> Pour calculer la taille de la portion à analyser requise pour satisfaire aux critères de qualité du $CV_{Sp} \leq 10\%$ spécifié. Il peut ne pas être nécessaire de déterminer séparément le $CV_{Sp}$ si le $CV_L$ des résidus d'origine se situe dans les limites spécifiées au tableau 2.
1.7 Stabilité de l'analyte durant le traitement de l'échantillon	A proximité de la LA	Enrichir les produits avec des quantités connues d'analytes avant de traiter l'échantillon. Analyser $\geq 5$ répliques de chaque produit, après traitement. Appliquer un composé marqueur théoriquement stable avec les analytes soumis à l'essai. Pour les MRM et les méthodes pour des groupes spécifiques, il est possible de tester ensemble plusieurs analytes.	Il n'est pas nécessaire de spécifier la stabilité de l'analyte si le taux de récupération global moyen de l'analyte ajouté avant le traitement de l'échantillon (y compris la récupération du procédé) et le $CV_A$ se situent dans les fourchettes indiquées au tableau 3.	L'analyte ajouté à la CEPF reste détectable après le traitement.	La température de l'échantillon durant le traitement peut être critique. Traitement validé pour être utilisé avec tout procédé ultérieur. La validation peut être spécifique de l'analyte et/ou de la matrice de l'échantillon. Pour tester la stabilité, déterminer le taux de récupération moyen et le $CV_L$ des composés marqueurs labiles et stables. Utiliser ces composés pour des contrôles internes de la qualité (voir section 4). Exprimer le ratio de la concentration moyenne des composés labiles et stables pour indiquer la stabilité des résidus. Les CV des composés stables indiqueront également la répétabilité en laboratoire.

<sup>3</sup> Wallace, D. et Kratochvil, B., Analytical Chemistry, **59**, 1987, 226.

<sup>4</sup> Ambrus, A., Solymosné, E.M. et Korsós, I., J. Environ. Sci. and Health, **B31**, 1996, 443.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
			Quantifier la stabilité si la récupération globale et la récupération du procédé différent sensiblement ( $P=0,05$ ).		
1.8 Efficacité de l'extraction	A proximité de la LA ou résidus facilement mesurables	<p>Analyser <math>\geq 5</math> portions identiques d'échantillons ou de matériau de référence avec des résidus d'origine.</p> <p>Comparer le procédé de référence (ou différent) avec celui faisant l'objet de l'essai.</p> <p>Pour les MRM, il serait préférable que les analytes testés aient une large gamme de coefficients de partage octanol/eau. On les déterminera uniquement en utilisant les résidus d'origine.</p>	<p>Pour les échantillons contenant des résidus d'origine, le résultat moyen obtenu avec le procédé de référence et le procédé à l'essai ne devrait pas différer sensiblement de la concentration <math>P=0,05</math> en appliquant <math>CV_L</math> dans le calcul.</p> <p>Ou, la valeur convenue du matériau de référence et la moyenne des résidus ne devraient pas différer sensiblement à une concentration de <math>P=0,05</math> lorsqu'elles sont calculées avec le <math>CV_A</math> de la méthode testée. Lorsque le <math>CV_A</math> de la méthode dépasse 10%, il faudrait augmenter le nombre d'analyses répétées pour maintenir l'écart-type relatif de la moyenne <math>&lt; 5\%</math>.</p>	La moyenne de résidus d'origine, qui sont présents à ou à proximité de la LQ ou de la CEPF, est détectable dans les échantillons.	<p>La température de l'extrait, la vitesse du mélangeur ou Ultra Turrax, la durée de l'extraction et le rapport solvant/eau/matrice peuvent avoir un effet sensible sur l'efficacité de l'extraction. On peut vérifier l'effet de ces paramètres en effectuant un essai de robustesse. Les conditions optimisées devraient être maintenues constantes autant que possible.</p> <p>La validation est généralement applicable aux produits appartenant à un même groupe et aux analytes représentés ayant des propriétés physiques et chimiques similaires. La validation est indépendante des procédés qui seront appliqués ultérieurement.</p> <p>Le taux de récupération moyen de chaque méthode devra être déterminé sur des portions à analyser enrichies. Corriger les résultats avec un taux de récupération moyen de l'analyse s'il est très différent de 100%.</p> <p>Selon certains règlements, la capacité des nécessaires de dépistage doit être testée pour détecter un résultat positif avec un taux de confiance de 95%.</p>

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
			Sinon, quantifier et consigner l'efficacité de l'extraction (non compris la récupération de la phase analytique après l'extraction).		
1.9 Stabilité de l'analyte durant le stockage de l'échantillon	A proximité de la limite acceptée	Analyser des échantillons venant d'être homogénéisés contenant des résidus d'origine, ou homogénéiser et enrichir des échantillons à blanc (temps 0), puis analyser les échantillons stockés selon les procédés normaux du laboratoire (en général à $\leq -18$ °C). La durée du stockage devrait être $\geq$ à l'intervalle le plus long prévu entre l'échantillonnage et l'analyse.  $\geq 5$ répliques à chaque point dans le temps. Quand les portions stockées sont analysées $\geq 4$ occasions, tester $\geq 2$ portions enrichies, et $\geq 1$ portion témoin enrichie au moment de l'analyse. Les portions à analyser devraient être dégelées juste avant ou pendant l'extraction.	Aucune perte significative de l'analyte durant le stockage (P = 0,05)	L'analyte ajouté à la concentration étalonnée la plus faible (CEPF) reste détectable après le stockage	L'entreposage est validé pour l'emploi avec tout procédé ultérieur. La validation est propre à l'analyte. Toutefois, en général, les données sur la stabilité à l'entreposage obtenues avec des matrices d'échantillons représentatifs peuvent être considérées valides pour des matrices semblables. Les matrices devront être choisies compte tenu de la stabilité chimique (par exemple hydrolyse) de l'analyte et l'utilisation prévue de la substance. L'information utile sur la stabilité durant le stockage peut être obtenue avec les évaluations de la JMPR <sup>5</sup> ou dans la documentation présentée pour l'enregistrement des composés.  Consigner la concentration initiale de résidu, la concentration du résidu restante et la récupération de l'analyte dans le procédé.  On évitera de stocker inutilement l'échantillon en planifiant soigneusement l'échantillonnage et l'analyse consécutive, moyennant un arrangement administratif qui ne fait pas partie de la méthode d'analyse.

<sup>5</sup> FAO, Résidus de pesticides dans les aliments – Évaluations; publié annuellement dans la série FAO Production végétale et protection des plantes

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
<b>2. Extension de la méthode validée</b>					
2.1 Stabilité de l'analyte durant le stockage et la transformation des échantillons, et dans les extraits et solutions de substances étalons.	Voir 1.1, 1.2 et 1.9				Seulement si on ne dispose pas encore de données sur la stabilité dans les conditions de transformation et sur la matrice représentative.
2.2 Fonction d'étalonnage effet de la matrice	CEPF à 2 (3) fois la LA:	Étalonnages en trois points qui comprennent la limite acceptée avec et sans substances étalons à analyser concordant avec la matrice	Pour l'étalonnage linéaire: coefficient de régression pour les solutions de substances étalons à analyser $(r) \geq 0,99$ . ET des résidus relatifs $(S_{y/x}) \leq 0,1$ Pour la fonction polynomiale $(r) \geq 0,98$ .	Pour l'étalonnage linéaire: coefficient de régression $(r) \geq 0,98$ . ET des résidus relatifs $\leq 0,2$ Pour la fonction polynomiale $(r) \geq 0,95$ .	La validation de la méthode peut ne pas donner d'informations précises sur les effets de la matrice, du fait que ceux-ci changent dans le temps, avec l'échantillon (parfois), avec la colonne, etc.
2.3 Exactitude, précision, LD, LQ	A la LA	Dans le cas d'une détection prévue: a) Analyser 3 portions de matrices d'échantillons représentatifs intéressant l'analyste enrichis à la limite acceptée. Dans le cas d'une détection imprévue: b) Enrichir deux ou, mieux, trois portions supplémentaires de l'échantillon à analyser à peu près à la concentration du nouvel analyte. Calculer le taux de	Les résidus récupérés devraient se situer dans les limites de répétabilité de la méthode: Trois portions: $C_{\max} - C_{\min} \leq 3.3CV_{Atyp}Q$ Deux portions: $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8*CV_{Atyp}Q$ $CV_{Atyp}$ est le coefficient de répétabilité type de	Les analytes ajoutés aux échantillons à blanc à la concentration visée indiquée devraient être mesurables dans tous les essais.	Utiliser le $CV_{Atyp}$ établi durant la validation de la méthode. La méthode ne devrait être testée qu'avec des produits représentant l'utilisation prévue (mauvaise utilisation possible) de l'analyte.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
		récupération de l'analyte ajouté. Utiliser une matrice d'échantillon similaire pour l'essai de récupération si on ne dispose pas d'une quantité suffisante d'échantillon à analyser.	variation de la méthode à adapter. Q =récupération moyenne du nouvel analyte; il doit être conforme au tableau 3.		
2.4 Spécificité et sélectivité de la détection de l'analyte	A la CEPF	<p>Identifier par spectrométrie de masse, ou en combinant de façon appropriée les techniques de séparation et de détection disponibles.</p> <p>Dans le cas d'une détection prévue:</p> <p>a) Analyser un échantillon à blanc représentatif de chaque groupe de produits intéressant l'analyste (dans lesquels le nouvel analyte sera probablement présent). Analyser une nouvelle matrice avec des composés représentatifs.</p> <p>Dans le cas d'une détection imprévue:</p> <p>b) Vérifier la réponse de l'échantillon à blanc (si disponible), ou démontrer que la réponse obtenue correspond seulement à l'analyte, en utilisant la meilleure technique disponible au laboratoire.</p> <p>Vérifier <math>\delta</math> et la fRR de détection</p>	<p>La réponse mesurée est due uniquement à l'analyte.</p> <p>Le système de détection utilisé devrait afficher une performance du détecteur égale ou supérieure à celle appliquée durant la validation de la méthode.</p> <p>Les résidus mesurés sur deux colonnes différentes devraient se situer dans la fourchette critique des déterminations par chromatographie des répliques. Les tRR des analytes représentatifs obtenus durant la validation de la méthode ne devraient pas dépasser 2 % pour la détermination par CPG et 5 % pour la détermination par CLHR.</p>	<p>Le taux d'échantillons donnant de faux résultats négatifs (erreur <math>\beta</math>) à la limite acceptée devrait être &lt; 5%.</p>	<p>Lorsque l'on prévoit d'étendre la méthode à un nouvel analyte, il faut vérifier l'applicabilité de la méthode pour toutes les matrices d'échantillons représentatifs dans lesquelles l'analyte peut être présent.</p> <p>Lorsqu'un analyte est détecté de façon imprévue, le contrôle de la performance peut être effectué pour la matrice réelle seulement</p> <p>Voir aussi 1.4.</p> <p>Les réponses des échantillons à blanc ne doivent pas interférer avec les analytes, qui seront probablement mesurés dans l'échantillon. Consigner les pics typiques présents dans les extraits d'échantillons à blanc.</p> <p>Le bruit de fond d'un extrait d'une nouvelle matrice doit être compris dans la fourchette obtenue pour les produits/matrices d'échantillon représentatifs.</p> <p>Si la sélectivité de la détection n'élimine pas la réponse de la matrice, utiliser une combinaison appropriée de colonnes de chromatographie qui permet de séparer les analytes des pics de la matrice. Voir d'autres options au tableau 6.</p>



Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
		ainsi que les tRR des analytes représentatifs. Comparer les tRR et la réponse du nouvel analyte avec d'autres analytes testés durant la validation de la méthode et avec les réponses des blancs obtenues durant l'extension de la méthode et la validation antérieure de la méthode.			
2.5 Sélectivité de la séparation	Voir 1.5	Voir 1.5	Voir 1.5	Voir 1.5	Voir 1.5 Seulement si on ne dispose pas d'informations
2.6 Efficacité de l'extraction	Voir 1.8	Voir 1.8	Voir 1.8	Voir 1.8	Voir 1.8 Seulement si on ne dispose pas d'informations
<b>3. Adaptation de la méthode validée dans un autre laboratoire</b>					
3.1 Pureté et adéquation des substances chimiques, réactifs et ad(ab)sorbants		Tester un blanc de réactif et l'applicabilité des ad(ab)sorbants et réactifs. Produire des dérivés avec et sans échantillon.	Aucune réponse d'interférence dépassant 0,3 CEPF.	Aucune réponse d'interférence dépassant 0,5 CEPF.	Quelques-uns des problèmes les plus communs dans le transfert des méthodes concernant des différences dans le choix des réactifs, des solvants, des milieux de chromatographie ou dans les dotations en équipement. Chaque fois que possible, essayer de confirmer les matériels et l'équipement utilisés par le concepteur de la méthode, si cette information n'est pas fournie avec la méthode ou la publication reçue. Une fois que la méthode fonctionne dans le laboratoire, on peut essayer d'effectuer des substitutions.
3.2 Stabilité de l'analyte dans des extraits et solutions de substances étalons	Voir 1.10	Voir 1.1	Voir 1.1	Voir 1.1	Cet essai peut être omis si des informations complètes sont fournies avec la méthode sur la stabilité de l'analyte ou si la méthode en remplace une autre utilisée précédemment pour l'analyte, et que des données sur la stabilité de l'analyte ont déjà été fournies pour la méthode précédente.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
3.3 Fonction d'étalonnage Effet de la matrice	CEPF à 2 (3) fois la LA	Tester les fonctions de réponse des analytes représentatifs inclus dans la méthode à $\geq 3$ concentrations d'analytes plus le blanc. Pour une réponse non linéaire, déterminer la courbe de réponse à $\geq 7$ concentrations et $\geq 3$ répliques.  Tester l'effet de la matrice avec des analytes et matrices représentatifs.	Pour l'étalonnage linéaire: coefficient de régression pour des solutions de substances étalons à analyser $(r) \geq 0,99$ . ET des résidus relatifs $(S_{y/x}) \leq 0,1$ Pour la fonction polynomiale $(r) \geq 0,98$ .	Pour l'étalonnage linéaire: coefficient de régression $(r) \geq 0,98$ . ET des résidus relatifs $\leq 0,2$ Pour la fonction polynomiale $(r) \geq 0,95$ .	Voir: 1.2
3.4 Gamme d'analyse Exactitude et précision, limite de détection, limite de quantification	Extrait en blanc et/ou à la LA	Analyser des combinaisons analyte/matrice représentatives: $\geq 5$ portions à analyser de chaque échantillon à blanc enrichi à 0 et à la LA, et 3 portions enrichies à 2 LA.  Les essais de récupération doivent être répartis entre tous les analystes qui utiliseront la méthode et les instruments qui serviront à l'analyse.	La récupération moyenne et le $CV_A$ doivent être compris dans les fourchettes indiquées au tableau 3.	Toutes les récupérations seront détectables à la CEPF. Matériels de référence à la LA: analyte détecté.	Voir observations à la section 1.3.
3.5 Spécificité et sélectivité de la détection de l'analyte	A la LA	Vérifier les caractéristiques de performance des détecteurs utilisés et les comparer avec celles spécifiées dans la méthode. Vérifier la réponse d'un blanc de chaque produit représentatif, ou effectuer l'essai selon la description à la section 1.4.	La réponse mesurée est due uniquement à l'analyte. Les performances du détecteur (sensibilité et sélectivité) doivent être égales ou supérieures à celles spécifiées dans la méthode. Voir section 1.4	Le taux d'échantillons donnant de faux résultats négatifs (erreur $\beta$ ) à la LA doit être en général $< 5\%$ .	La réponse relative des détecteurs spécifiques peut varier sensiblement d'un modèle à l'autre. Une vérification correcte de la spécificité de la détection est critique pour obtenir des résultats fiables. Comparer la réponse du blanc observée avec les pics typiques signalés dans les extraits en blanc. Voir d'autres observations à la section 1.4.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
3.6 "Homogénéité" de l'analyte	A proximité de la LA ou résidus bien détectables	Tester deux produits représentatifs de nature différente	$CV_{sp} < 10\%$	$CV_{sp} < 15\%$ Pour les méthodes de dépistage, il est parfois préférable de prélever une portion dans laquelle on peut prévoir qu'il y aura plus de résidus (par exemple peau d'agrumes) et il n'est pas toujours nécessaire qu'elle soit homogène.	Les essais sont menés pour confirmer la similitude des conditions d'application et l'applicabilité des paramètres obtenus par le laboratoire validant la méthode. Quand l'essai donne des résultats indiquant un $CV_{sp}$ similaire, les conditions de transformation de l'échantillon peuvent être considérées analogues et il ne sera pas nécessaire de procéder à d'autres essais pour la validation de la méthode.
3.7 Stabilité de l'analyte dans les extraits et solutions étalons	Voir 1.1	Voir 1.1	Voir 1.1	Voir 1.1	Cet essai peut être omis si des informations complètes sont fournies avec la méthode sur la stabilité de l'analyte ou si la méthode en remplace une autre utilisée précédemment pour l'analyte, et que des données sur la stabilité de l'analyte ont déjà été fournies pour la méthode précédente.

**Tableau 3. Critères pour la validation en laboratoire des méthodes d'analyse de résidus de pesticides**

Concentration	Répétabilité		Reproductibilité		Justesse <sup>2</sup> Gamme de taux moyens de récupération
	CV <sub>A</sub> % <sup>3</sup>	CV <sub>L</sub> % <sup>4</sup>	CV <sub>A</sub> % <sup>3</sup>	CV <sub>L</sub> % <sup>4</sup>	
≤1 µg/kg	35	36	53	54	50–120
> 1 µg/kg ≤ 0,01 mg/kg	30	32	45	46	60–120
> 0,01 mg/kg ≤ 0,1 mg/kg	20	22	32	34	70–120
> 0,1 mg/kg ≤ 1 mg/kg	15	18	23	25	70–110
> 1 mg/kg	10	14	16	19	70–110

1. Avec les méthodes multi-résidus, il peut y avoir des analytes dans lesquels ces critères de performance quantitatifs ne peuvent pas être strictement observés. L'acceptabilité des données produites dans ces conditions dépendra du but des analyses, par exemple lorsque l'on vérifie la conformité aux LMR, les critères indiqués devraient être observés dans la mesure où cela est techniquement possible, tandis que toute donnée au-dessous de la LMR pourrait être acceptable avec la plus grande incertitude.
2. Ces gammes de taux de récupération sont appropriées pour les méthodes multi-résidus. Des critères plus stricts peuvent être nécessaires dans certains buts, par exemple méthodes pour des analytes uniques ou des résidus de médicaments vétérinaires (voir Codex Volume 3, 1996).
3. CV<sub>A</sub>: Coefficient de variation pour l'analyse excluant la transformation de l'échantillon. Le paramètre peut être estimé à l'aide d'essais effectués avec des matériaux de référence ou des portions à analyser enrichies avant l'extraction. En l'absence d'un matériel de référence certifié, on peut utiliser un matériel de référence préparé au laboratoire.
4. CV<sub>L</sub>: C'est le coefficient de variation global d'un résultat de laboratoire, prévoyant jusqu'à 10% de variabilité des résidus entre les portions à analyser (CV<sub>Sp</sub>). Note: On peut calculer la variabilité des résidus entre les portions à analyser à partir de l'incertitude de la mesure des portions réplique des échantillons (CV<sub>L</sub>) contenant des résidus;  $CV_L^2 = CV_{Sp}^2 + CV_A^2$ .

**Tableau 4 Spécifications pour la vérification des performances**

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
<b>4. Contrôle de la qualité (vérification des performances)</b>					
<b>4.1 Méthodes utilisées régulièrement</b>					
4.1.1 Adéquation des substances chimiques, adsorbants et réactifs		Pour chaque nouveau lot: tester un blanc de réactifs, l'applicabilité des ad(ab)sorbants et des réactifs. Procéder à la production de dérivés sans échantillon.	Pas de réponse d'interférence $\geq 0,3$ CEPF.	Pas de réponse d'interférence $\geq 0,5$ LA.	Autrement, si l'échantillon à blanc, l'étalonnage et la récupération sont satisfaisants, l'adéquation des réactifs, etc. est confirmée.
4.1.2 Étalonnage et gamme de l'analyse		L'étalonnage en un point unique peut être utilisé avec des mélanges de substances -étalons, si l'intersection de la fonction d'étalonnage est proche de 0.  Appliquer l'étalonnage en des points multiples (3x2) pour la confirmation quantitative.	Le lot à analyser peut être considéré comme étant sous contrôle statistique si les substances-étalons à analyser et les extraits d'échantillon sont injectés alternativement, et l'écart-type calculé des résidus relatifs est $\leq 0,1$ .	L'analyte est détecté à la CEPF.	La solution étalon et les échantillons doivent être injectés alternativement. L'échelonnement avec des injections de substances-étalons appropriées peut constituer une alternative à l'étalonnage multipoints qui fera gagner du temps, en particulier si on ne dispose pas d'un échantillonneur automatique. Etant donné que la réponse du système change souvent, on peut procéder à un étalonnage multipoints régulièrement pour confirmer que l'intersection est proche de zéro. L'étalonnage multipoints n'est pas nécessaire pour la confirmation quantitative si le produit étalonné a une concentration très proche de celle de l'échantillon.
4.1.3 Exactitude et précision	Dans la gamme de l'analyse	Inclure dans chaque lot à analyser $\geq 1$ échantillon enrichi avec un mélange de substances étalons, ou effectuer une nouvelle analyse d'une portion réplique d'un échantillon positif,	La performance du détecteur et la colonne de chromatographie seront égales ou supérieures à celles spécifiées dans la méthode. Il est préférable que tous les taux de récupération restent dans la limite d'avertissement du diagramme de contrôle établi selon la section 4.5.2. Pour un essai long, un sur 20 ou 100 échantillons peut dépasser les limites d'avertissement et d'action, respectivement. Le lot à analyser devrait être répété si un des taux de récupération s'inscrit en dehors des limites		Enrichir la portion à analyser avec un ou plusieurs mélanges de substances-étalons. Modifier ces mélanges en différents lots afin d'obtenir des taux de récupération pour tous les analytes intéressant l'analyste à intervalles réguliers. Effectuer alternativement des études de récupération à la LA ainsi qu'à la CEPF et à 2 fois la LA, selon le cas, pour confirmer l'applicabilité de la méthode dans la gamme d'analyse. Les études de récupération à la LA devront être deux ou trois fois plus fréquentes que celles menées à d'autres niveaux. L'analyse répétée d'échantillons positifs peut remplacer l'essai de récupération dans un lot particulier.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
			<p>d'action, ou si les résultats des analyses répétées de l'échantillon positif dépassent la gamme critique.</p> $C_{\max} - C_{\min} > 2.8 * CV_{L_{\text{typ}}} Q$ <p>Q est le résidu moyen obtenu à partir des mesures répétées, le <math>CV_{L_{\text{typ}}}</math> est la mesure de la reproductibilité en laboratoire qui comprend l'incertitude combinée de la transformation et de l'analyse de l'échantillon.</p>		<p>Pour les MRM, préparer des mélanges de substances étalons spécifiques du produit échantillon provenant des analytes pouvant se trouver dans un échantillon particulier. La sélection des analytes pour un mélange devrait assurer la séparation /détection sélective sans poser de problème.</p> <p>Pour une identification provisoire: préparer des lots à analyser contenant le mélange approprié pour l'essai de détection et les échantillons.</p> <p>Pour la détermination/confirmation quantitative, inclure dans le lot à analyser le mélange d'essai de détection, un nombre approprié de mélanges d'étalonnage, un ou plusieurs échantillons à blanc enrichis, ou un échantillon réplique positif et les nouveaux échantillons positifs.</p> <p>Injecter alternativement substances-étalons et échantillons.</p>
4.1.4 Sélectivité de la séparation, spécificité de la détection, performance des détecteurs		<p>Inclure un mélange d'essai de détection approprié dans chaque lot de chromatographie. Inclure un produit non traité (si disponible) dans le lot à analyser. Ajouter des substances étalons si aucun échantillon non traité est disponible (semblables à celles analysées dans le lot)</p> <p>Confirmer l'identité et la quantité de chaque analyte présent à <math>\geq 0,7</math> de la LA.</p>	<p>Les valeurs <math>R_s</math>, <math>T_f</math> des composés soumis à l'essai, et fRR et <math>\delta</math> de la détection devraient être comprises dans la fourchette indiquée.</p> <p>Les tRR ne devraient pas dépasser 2 % pour la détermination avec la CGL et 5 % pour la détermination avec la CLHR. La performance du détecteur devrait être comprise dans les limites spécifiées. Les co-extractifs d'échantillon interférant avec l'analyte ne devraient pas être présents à <math>\geq 0,3</math></p>	<p>La performance du détecteur doit être comprise dans les limites spécifiées. L'analyte doit être <math>&gt; CEPF</math> ou <math>CC\alpha</math> pour les composés interdits.</p>	<p>Appelé aussi parfois essai d'“adéquation du système”. Préparer un mélange pour l'essai de détection pour chaque méthode de détection. Sélectionner les éléments du mélange afin d'indiquer les paramètres caractéristiques de la séparation chromatographique et de la détection.</p> <p>Adapter la base de données sur la rétention relative pour les composés du mélange d'essai de détection et les analytes utilisés pour l'étalonnage. Définir la valeur de fRR spécifique pour le système de détection.</p> <p>Procéder à une confirmation quantitative avec des substances étalons préparées dans un extrait de matrice en blanc si l'effet de la matrice est important.</p>

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
			CEPF. La récupération de la substance-étalon ajoutée devrait être comprise dans une gamme de récupération acceptable de l'analyte.		
4.1.5 Homogénéité de l'analyte dans l'échantillon traité	A une concentration de l'analyte facile à détecter.	Choisir au hasard un échantillon positif. Répéter l'analyse d'une ou deux autres portions à analyser.	Les résidus mesurés deux jours différents doivent être compris dans la limite de reproductibilité des portions répliques à analyser: $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8 * CV_{Ltyp} Q$ Q est la moyenne de résidu obtenue à partir des mesures des répliques, $CV_{Ltyp}$ est l'incertitude combinée du traitement et de l'analyse de l'échantillon obtenue durant la validation de la méthode.		Effectuer les essais alternativement de manière à couvrir chaque produit analysé. Tester l'homogénéité au début de la période de croissance ou au début de l'analyse du type donné d'échantillons. Les résultats acceptables de l'essai confirment également que la reproductibilité des analyses ( $CV_A$ ) était appropriée.
4.1.6 Efficacité de l'extraction					L'efficacité de l'extraction ne peut être contrôlée durant l'analyse. Pour garantir une efficacité appropriée, la procédure d'extraction validée devrait être effectuée sans aucun changement.
4.1.7 Durée de l'analyse			Les échantillons, extraits, etc. ne doivent pas être stockés pendant un laps de temps dépassant la période pour laquelle la stabilité au stockage a été testée durant la validation de la méthode. Les conditions de stockage doivent être régulièrement contrôlées et consignées.		Des exemples concernant le besoin d'essais de stabilité supplémentaires au stockage figurent au tableau 1.

Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
<b>4.2 Analyte détecté occasionnellement</b>					
Effectuer les essais décrits en 4.1 avec les exceptions ci-après					
4.2.1 Exactitude et précision	A proximité de la LA	Analyser une autre portion d'essai; Ajouter des substances étalons à la concentration de l'analyte mesurée.	Les résidus mesurés deux jours différents doivent être compris dans la fourchette critique: $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8 * CV_{Ltyp} Q$ Q est la moyenne de résidu obtenue à partir des mesures répétées, tandis que le $CV_{Ltyp}$ est obtenu durant la validation de la méthode. Le taux de récupération après l'addition de substances-étalons doit être compris dans les limites d'action.		Vérifier l'exactitude si on trouve un résidu à $\geq 0,5$ LA.
<b>4.3 Méthodes utilisées à intervalles irréguliers</b>					
Effectuer les essais décrits en 4.1 avec les exceptions ci-après					
4.3.1 Exactitude et précision (répétabilité)	A la LA et à la CEPF	Inclure un échantillon enrichi à la CEPF et deux échantillons à la LA dans chaque lot à analyser. Ajouter des substances étalons si on ne dispose pas d'un échantillon non traité (semblable à celles utilisées dans le lot). Procéder à l'analyse avec $\geq 2$ portions à analyser.	Au minimum deux taux de récupération doivent être dans la limite d'avertissement et un dans la limite d'action. Les résidus mesurés dans les portions répliques doivent être compris dans la fourchette critique: $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8 * CV_{Ltyp} Q \text{ or } C_{\max} - C_{\min} \leq f_{(n)} * CV_{Ltyp} Q$ Q est la moyenne de résidu obtenue à partir des mesures répétées, tandis que le $CV_{Ltyp}$ est obtenu durant la méthode de validation, $f_{(n)}$ est le facteur pour le calcul des valeurs extrêmes qui est fonction du nombre d'échantillons répliques.		Les résultats acceptables démontrent également l'adéquation des substances chimiques, adsorbants et réactifs utilisés. Confirmer les résidus dépassant 0,5 LA. Si les critères de performance ne sont pas observés, la méthode devra être mise en pratique et ses caractéristiques de performance ( $Q$ , $CV_{Atyp}$ , $CV_{Ltyp}$ ) devront être réétablies durant la nouvelle validation partielle de la méthode.



Paramètre	Concentration(s)	Nombre d'analyses ou type d'essai requis		Critères	Observations
			Méthode quantitative	Méthode de dépistage	
<b>4.4. Changements dans l'application de la méthode</b>					
<b>Changement</b>	<b>Paramètres à tester</b>	<b>Pour les méthodes d'essai et les critères d'acceptabilité, voir les sections appropriées de l'annexe 1.</b>			
4.4.1 Colonne de chromatographie	Tester la sélectivité de la séparation, de la résolution, de l'inertie et des valeurs tRR	Les caractéristiques de performance ne devraient pas être affectées		Appliquer des mélanges d'essai appropriés afin d'obtenir des renseignements sur la performance de la colonne.	
4.4.2 Équipement pour traitement échantillons	Homogénéité de l'échantillon traité; Stabilité des analytes	Effectuer les essais décrits en 1.6 et 1.7; ils devraient donner des résultats conformes aux critères pertinents.		On procédera à l'essai d'homogénéité uniquement si le produit est moins bien haché et/ou mélangé que le produit original. Il faudra tester la stabilité des analytes si la durée et la température du traitement ont sensiblement augmenté.	
4.4.3 Équipement pour l'extraction	Comparer les concentrations de résidus d'origine détectés avec l'ancien et le nouvel équipement dans $\geq 5$ répliques	La moyenne des résidus ne devrait pas être très différente à la concentration $p=0,05$ .		Essai nécessaire si un nouveau type d'équipement est utilisé	
4.4.4 Détection	Tester la sélectivité de la séparation et la sélectivité et la sensibilité de la détection	Les caractéristiques de performance devraient être les mêmes ou supérieures à celles spécifiées dans la description de la méthode.		Tester aussi la détectabilité séparément avec de nouveaux réactifs de détection.	
4.4.5 Analyste	$\geq 5$ essais de récupération pour chaque concentration (CEPF, LA et 2 (3) fois la LA), nouvelle analyse d'un échantillon à blanc et de deux échantillons positifs (non connus de l'analyste)	Tous les résultats devraient être compris dans les limites d'avertissement fixées pour la méthode dans le laboratoire. L'analyse des échantillons répliques sera faite dans la fourchette critique.		Il s'agit d'une prescription minimale. Certains laboratoires utilisent un protocole plus détaillé qui comprend: (1) production d'une courbe type dans les critères d'acceptabilité; (2) au minimum 2 analyses pour chaque matrice contenant des analytes représentatifs enrichis par l'analyste à un minimum de 3 concentrations dans la réplique; (3) au minimum une analyse avec des échantillons enrichis ou avec des résidus d'origine, 3 concentrations dans la réplique non connus de l'analyste. Tous les résultats doivent répondre aux critères d'acceptabilité ou être répétés.	
4.4.6 Laboratoire	Justesse et précision $\geq 3$ essais de récupération à chaque concentration (CEPF, LA et 2 (3) fois la LA) par différents analystes, des jours différents.	Tous les résultats devraient être compris dans les limites d'avertissement fixées pour la méthode dans le laboratoire.		La reproductibilité de la méthode dans les nouvelles conditions doit être établie, si possible par plus d'un analyste.	

**Tableau 5. Produits/échantillons représentatifs pour la validation des méthodes d'analyse des résidus de pesticides**

Groupe de produits	Propriétés communes	Classe de produits <sup>6</sup>	Espèce représentée
<b>Produits végétaux</b>			
I.	Forte teneur en eau et en chlorophylle	Légumes feuillus Légumes feuillus du genre Brassica Légumineuses	Épinard ou laitue Brocoli, chou, kale Haricots verts
II.	Forte teneur en eau et peu ou pas de chlorophylle	Fruits à pépins, Fruits à noyau Baies Petits fruits Légumes-fruits Légumes-racines	Pomme, poire pêches, cerises Fraises Raisins, tomates, piment cloche, melon champignon pomme de terre, carotte, persil
III.	Forte teneur en acide	Agrumes	Orange, citron
IV.	Forte teneur en sucre		Raisins, dates
V.	Riche en huile ou en graisse	Oléagineux Fruits à coque	Avocat, graines de tournesol, noyers, noix pacane, pistaches
VI.	Matières sèches	Céréales	Blé, riz ou maïs en grains
		Produits céréaliers	Son de blé, farine de blé
	Produits nécessitant un essai individuel		Par exemple thé, ail, houblon, thé, épices, grosse canneberge d'Amérique
<b>Produits d'origine animale</b>			
		Viandes	Viande de bovins, viande de volaille
		Abats comestibles	Foie, rognons
		Graisses	Graisse de viande
		Laits	Lait de vache
		Oeufs	Oeuf de poule

Note: La méthode devrait être validée à l'aide de pesticides représentatifs pour chaque groupe de produits. Pour les produits difficiles à analyser, on procédera à des essais individuels.

<sup>6</sup> Classification Codex des produits destinés à l'alimentation humaine et animale (CAC/MISC 4-1993).

**Tableau 6. Exemples de méthodes de détection convenant pour les épreuves de confirmation des substances**

Méthode de détection	Critère
CL ou CG et spectrométrie de masse	Si on contrôle un nombre suffisant d'ions de diagnostic
CL-DAD ou exploration par UV	Si le spectre UV est caractéristique
CL – fluorescence	Associée à d'autres techniques
2-D CCM – (spectrophotométrie)	Associée à d'autres techniques
CG-DCE, DTI, DPF	Seulement si associées à une ou plusieurs techniques de séparation <sup>1</sup>
Production de dérivés	Si ce n'était pas la première méthode de choix
CL-immunogramme	Associée à d'autres techniques
CL-UV/VIS (une seule longueur d'onde)	Associée à d'autres techniques

1. D'autres systèmes chromatographiques (appliquant des phases stationnaires/mobiles de sélectivité différente) ou d'autres techniques.

## GLOSSAIRE DE TERMES

<b>Limite acceptée (LA)</b>	Valeur de concentration pour un analyte correspondant à une limite réglementaire ou à une valeur de référence qui constitue l'objet de l'analyse, par exemple LMR, LMP; norme commerciale, limite de concentration visée (évaluation de l'exposition d'origine alimentaire), niveau d'acceptation (environnement), etc. Pour une substance sans LMR ou pour une substance interdite, il peut ne pas y avoir de LA (en réalité, elle peut être de zéro ou elle peut faire défaut) ou il peut s'agir de la concentration visée au-dessus de laquelle les résidus détectés devraient être confirmés (limite d'action ou limite administrative).
<b>Exactitude</b>	Étroitesse de l'accord entre un résultat d'expérience et la valeur de référence acceptée.
<b>Erreur alpha (<math>\alpha</math>)</b>	Probabilité que la concentration de l'analyte dans l'échantillon de laboratoire est inférieure à une valeur particulière (par exemple la LA) lorsque les mesures effectuées sur une ou plusieurs portions à analyser/d'essai indiquent que la concentration dépasse cette valeur (faux positif). Les valeurs acceptées pour cette probabilité sont généralement de l'ordre de 1 à 5%.
<b>Analyte</b>	Substance chimique recherchée ou déterminée dans un échantillon.
<b>Homogénéité de l'analyte (dans l'échantillon)</b>	Uniformité de la dispersion de l'analyte dans la matrice. La variabilité dans les résultats d'analyse due à la transformation de l'échantillon est fonction de la dimension de la portion à analyser. La constante d'échantillonnage <sup>7</sup> décrit le rapport entre la dimension de la portion à analyser et la variation prévue dans un échantillon d'analyse bien mélangé: $K_S = w (CV_{Sp})^8$ , où $w$ est la masse de la portion à analyser et $CV_{Sp}$ est le coefficient de variation de la concentration de l'analyte dans des portions à analyser répétées de $w$ (g) qui sont prélevées sur l'échantillon analytique.
<b>Portion à analyser</b>	Quantité représentative d'un matériau prélevée sur l'échantillon à analyser et dont la taille convient pour la mesure de la concentration de résidu.
<b>Échantillon à analyser</b>	Matériau préparé pour l'analyse à partir de l'échantillon de laboratoire, par séparation de la portion du produit à analyser, puis par mélange, broyage, hachage, etc. dans le but de prélever des portions à analyser avec une erreur d'échantillonnage minimale.
<b>Applicabilité</b>	Les analytes, matrices et concentrations pour lesquelles il a été démontré qu'une méthode d'analyse est satisfaisante.
<b>Erreur beta (<math>\beta</math>)</b>	Probabilité que la concentration effective de l'analyte dans l'échantillon de laboratoire est supérieure à une valeur particulière (par exemple la LA) lorsque des mesures prises sur une ou plusieurs portions à analyser indiquent que la concentration ne dépasse pas cette valeur (faux négatif). Les valeurs acceptées pour cette probabilité sont généralement de l'ordre de 1 à 5%.
<b>Biais</b>	Différence entre la valeur moyenne mesurée pour un analyte et une valeur de référence acceptée pour l'échantillon. Le biais est l'erreur systématique totale par opposition à l'erreur aléatoire. Il peut y avoir un ou plusieurs éléments d'erreur systématiques contribuant au biais. Une différence systématique importante par rapport à la valeur de référence acceptée se traduit par une valeur de biais plus élevée.

<sup>7</sup> Wallace, D. et Kratochvil, B., Analytical Chemistry, 59, 226-232, 1987

<sup>8</sup> Ambrus, A., Solyomosné, E. et Korsós, I.J. Environ. Sci. Health, B31, (3) 1996

<b>Groupe de produits</b>	Groupe de produits destinés à la consommation humaine ou animale ayant en commun des caractéristiques chimiques suffisantes qui les rendent similaires aux fins d'analyse par une méthode. Les caractéristiques peuvent être fondées sur des constituants importants (par exemple, teneur en eau, graisse, sucre et acide) ou sur des rapports biologiques, et peuvent être définies par des règlements.
<b>Méthode de confirmation</b>	<p>Méthode qui fournit des informations complètes ou complémentaires permettant d'identifier l'analyte avec un degré acceptable de certitude [à la limite acceptée ou niveau qui intéresse l'analyste]. Autant que possible, les méthodes de confirmation fournissent des informations sur les propriétés chimiques de l'analyte, de préférence à l'aide de techniques de spectrométrie. Si une technique particulière ne présente pas une spécificité suffisante, on peut recourir à des procédés supplémentaires, par exemple en combinant de manière appropriée purification, séparation chromatographique et détection sélective. Les titrages biologiques peuvent aussi fournir quelques données de confirmation.</p> <p>Outre l'identité de l'analyte, il faudra aussi confirmer sa concentration, par exemple par l'analyse d'une deuxième prise d'essai et/ou d'une nouvelle analyse de la prise d'essai initiale à l'aide d'une autre méthode appropriée (par exemple colonne ou détecteur différents). La confirmation qualitative et quantitative peut aussi être effectuée à l'aide de la même méthode, le cas échéant.</p>
<b>Limite de décision (CC<math>\alpha</math>)</b>	<p>Limite à laquelle on peut décider que la concentration de l'analyte présent dans un échantillon dépasse effectivement cette limite, avec une probabilité d'erreur de <math>\alpha</math> (faux positif). Dans le cas d'une substance pour laquelle la limite acceptée est zéro, la CC<math>\alpha</math> est la concentration la plus basse, à laquelle une méthode peut faire la différence avec une probabilité statistique de <math>1 - \alpha</math> si l'analyte identifié est présent. La CC<math>\alpha</math> équivaut à la limite de détection (LD) selon certaines définitions (en général pour <math>\alpha = 1\%</math>).</p> <p>Dans le cas de substance ayant une LA établie, la CC<math>\alpha</math> est la concentration mesurée, au-dessus de laquelle on peut décider avec une probabilité statistique de <math>1 - \alpha</math> que la concentration de la substance à doser est effectivement supérieure à la LA.</p>
<b>Capacité de détection (CC<math>\beta</math>)</b>	<p>C'est la concentration effective la plus faible de l'analyte pouvant être détectée, identifiée et quantifiée dans un échantillon avec une erreur beta (faux négatif). Dans le cas de substances interdites, la CC<math>\beta</math> est la concentration la plus faible à laquelle une méthode est capable de déterminer l'analyte dans des échantillons contaminés avec une probabilité statistique de <math>1 - \beta</math>. Dans le cas de substances pour lesquelles une LMR a été fixée, CC<math>\beta</math> est la concentration à laquelle la méthode est capable de détecter des échantillons qui dépassent cette LMR avec une probabilité statistique de <math>1 - \beta</math>.</p> <p>Quand il est appliqué à la concentration détectable la plus faible, ce paramètre vise à fournir une information équivalente à la limite de quantification (LQ), mais CC<math>\beta</math> est toujours associée à une probabilité statistique spécifiée de détection, ce qui explique qu'on la préfère à la LQ.</p>

<b>Mélange d'essais de détection</b>	Mélange de substances étalons qui permettent de vérifier les conditions de séparation chromatographique et de détection. Le mélange d'essais de détection devrait contenir des analytes fournissant des informations sur la sélectivité et les facteurs de réponse pour les détecteurs, l'inertie (caractérisée par exemple par le facteur de traîne $fT$ ) et la capacité de séparation (par exemple la résolution $R_s$ ) de la colonne, ainsi que sur la reproductibilité du $t_{RR}$ . Le mélange d'essais de détection pourrait devoir être spécifique de la colonne et du détecteur.
<b>Faux résultat négatif</b>	Voir erreur beta
<b>Faux résultat positif</b>	Voir erreur beta
<b>Méthode spécifique de groupe</b>	Méthode conçue pour déceler des substances ayant un même groupement ou une structure chimique analogue, par exemple : acides phénoxyacétiques, dithiocarbamates, carbamates de méthyle.
<b>Résidus d'origine</b>	Résidus d'un analyte dans une matrice provenant de la voie par laquelle les résidus à l'état de traces devraient normalement parvenir, par opposition aux résidus provenant de l'enrichissement d'échantillons en laboratoire. Appelés aussi résidus météorisés.
<b>Méthode individuelle</b>	Méthode apte à déterminer la présence d'un ou de plusieurs composés spécifiés. Une méthode individuelle distincte peut être nécessaire, par exemple pour déterminer certains métabolites inclus dans la définition des résidus d'un pesticide ou d'un médicament vétérinaire particulier.
<b>Échantillon de laboratoire</b>	L'échantillon tel qu'il arrive au laboratoire (non compris l'emballage).
<b>Limite de détection (LD)</b>	La plus petite concentration à laquelle l'analyte peut être identifié. Défini communément comme la plus petite concentration d'analyte dans la prise d'essai pouvant être mesurée avec une probabilité établie que l'analyte est présent à une concentration supérieure à celle de l'échantillon témoin. L'UICPA et l'ISO ont recommandé le sigle LD. Voir aussi limite de décision.
<b>Limite de quantification (LQ)</b>	Concentration la plus faible de l'analyte qui peut être quantifiée. Définie communément comme la concentration minimale de l'analyte dans l'échantillon d'essai pouvant être mesurée avec une précision (répétabilité) et une exactitude acceptables dans les conditions de l'essai. Voir aussi capacité de détection.
<b>Concentration étalonnée la plus faible (CEPF)</b>	Concentration la plus faible de l'analyte détectée et mesurée dans l'étalonnage du système de détection. Elle peut être exprimée comme une concentration de la solution dans la prise d'essai ou en tant que masse et ne doit pas comprendre la contribution du témoin.
<b>Matrice</b>	Matériau ou composant échantillonné à des fins d'analyse, à l'exclusion de l'analyte.
<b>Matrice témoin</b>	Échantillon dans lequel les analytes recherchés ne sont pas détectables.
<b>Étalonnage ajusté à la matrice</b>	Étalonnage à l'aide de pesticides de référence préparés dans un extrait du produit analysé (ou d'un produit représentatif). Il s'agit de neutraliser les effets des co-extractifs sur la méthode de détermination. Ces effets sont souvent imprévisibles, mais l'ajustement à la matrice peut être inutile lorsque les co-extractifs ont un effet négligeable.
<b>Méthode</b>	Série d'opérations depuis la réception d'un échantillon à analyser jusqu'à la production du résultat final.
<b>Validation de la méthode</b>	Procédé visant à vérifier qu'une méthode est adaptée à l'objectif.

<b>Méthode multi-résidus, MRM</b>	Méthode convenant pour l'identification et la quantification d'une gamme d'analytes, habituellement dans un certain nombre de matrices différentes.
<b>Résultat négatif</b>	Résultat indiquant que l'analyte n'est pas présent à ou au-dessus de la concentration étalonnée la plus basse (voir aussi limite de détection)
<b>Vérification des performances</b>	Séries de données sur le contrôle de la qualité produites durant l'analyse des lots d'échantillons pour valider les analyses en cours. Les données peuvent être utilisées pour affiner les paramètres de performance de la méthode.
<b>Résultat positif</b>	Résultat indiquant que l'analyte est présent à une concentration à ou au-dessus de la concentration étalonnée la plus basse.
<b>Précision</b>	Étroitesse de l'accord entre des résultats d'essais indépendants obtenus dans des conditions stipulées.
<b>Méthode quantitative</b>	Méthode pouvant donner des résultats, exprimés en valeurs numériques dans des unités appropriées, avec une exactitude et une précision appropriées à l'objectif. Le degré d'exactitude et de précision doit être conforme aux critères spécifiés au tableau 3.
<b>Récupération</b>	Fraction ou pourcentage d'un analyte récupéré après extraction et analyse d'une prise d'essai en blanc à laquelle l'analyte a été ajouté à une concentration connue (échantillon enrichi ou matériau de référence).
<b>Blanc de réactifs</b>	Analyse complète effectuée sans inclure d'échantillons à des fins de contrôle de qualité
<b>Matériau de référence</b>	Matière dont une ou plusieurs concentrations d'analyte sont suffisamment homogènes et bien établies pour être utilisées pour l'évaluation d'une méthode de mesure, ou pour attribuer des valeurs à d'autres matériaux. Dans le contexte du présent document, le terme "matériau de référence" ne se réfère pas aux matières utilisées pour l'étalonnage des appareils.
<b>Méthode de référence</b>	Méthode d'analyse quantitative dont la fiabilité a été démontrée par une exactitude, une spécificité, une précision et une capacité de détection bien établies. Ces méthodes ont généralement fait l'objet d'études inter-laboratoires et s'appuient le plus souvent sur la spectrométrie moléculaire. Le statut des méthodes de référence est valide uniquement si la méthode est appliquée dans un régime approprié d'assurance de qualité.
<b>Procédure de référence</b>	Procédure dont l'efficacité a été démontrée. Lorsque cela n'est pas possible, une procédure de référence pourrait être une procédure en théorie très efficace et fondamentalement différente de celle à l'essai.
<b>Répétabilité</b>	Précision dans des conditions de répétabilité, c'est-à-dire des conditions dans lesquelles des résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des portions d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même équipement dans un court intervalle de temps (ISO 3534-1)
<b>Analyte représentatif</b>	Analyte choisi pour représenter un groupe d'analytes qui ont des chances d'avoir le même comportement durant l'application d'une méthode d'analyse multi-résidus, si l'on en juge par leurs propriétés physico-chimiques, par exemple structure, solubilité dans l'eau, $K_{ow}$ , polarité, volatilité, stabilité hydrolytique, pKa, etc.
<b>Analyte représenté</b>	Analyte dont les propriétés physico-chimiques sont comprises dans la gamme des propriétés des analytes représentatifs.

<b>Reproductibilité</b>	Étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus par la même méthode sur des portions d'essai identiques avec des opérateurs différents utilisant des équipements différents (dans le cadre de la reproductibilité en laboratoire). De la même manière, lorsque les essais sont effectués dans différents laboratoires, on obtient la reproductibilité inter-laboratoires.
<b>Produit représentatif</b>	Aliment destiné à la consommation humaine ou animale utilisé pour représenter un groupe de produits à des fins de validation d'une méthode. Un produit sera considéré comme représentatif sur la base de la composition immédiate de l'échantillon, par exemple teneur en eau, graisse/huile, acide, sucre et chlorophylle, ou de similitudes biologiques des tissus, etc.
<b>Robustesse</b>	Capacité d'une méthode de mesure chimique de limiter les variations de résultats d'essais lorsqu'elle est soumise à de faibles variations liées à l'environnement, aux procédures, aux laboratoires, au personnel, etc.
<b>Préparation de l'échantillon</b>	Procédé utilisé, si nécessaire, pour convertir l'échantillon de laboratoire en une prise d'essai, en enlevant les parties (terre, cailloux, os, etc.) ne servant pas pour l'analyse.
<b>Transformation de l'échantillon</b>	Le (ou les) procédé(s) (par exemple découpage, broyage, mélange) utilisés pour rendre la portion d'essai suffisamment homogène pour ce qui concerne la distribution de l'analyte, avant le retrait de la partie à analyser. L'élément transformateur de la préparation doit être conçu de manière à éviter des changements induits dans la concentration de l'analyte.
<b>Méthode de dépistage</b>	Méthode utilisée pour détecter la présence d'un analyte ou d'une classe d'analytes à ou au-dessus de la concentration la plus faible recherchée. Elle devrait être conçue de manière à éviter les faux résultats négatifs à un degré de probabilité spécifié (généralement $\beta = 5\%$ ). Il est parfois nécessaire de confirmer les résultats qualitatifs positifs à l'aide d'épreuves de confirmation ou de référence. Voir Limite de décision et capacité de détection.
<b>Sélectivité</b>	Mesure du degré auquel l'analyte a des chances d'être séparé des autres composants, soit par séparation (par exemple chromatographie), soit par réponse relative du système de détection.
<b>Spécificité</b>	Mesure dans laquelle une méthode fournit des réponses à partir du système de détection qui peuvent être considérées propres à l'analyte.
<b>Addition de solutions étalons</b>	Procédé par lequel des quantités connues de l'analyte sont ajoutées à des parties d'un extrait d'échantillon contenant l'analyte (sa concentration mesurée au départ étant X), afin de produire de nouvelles concentrations nominales (par exemple, 1,5X et 2X). On mesure les réponses de l'analyte produites par les parties enrichies et l'extrait original, et on détermine la concentration de l'analyte dans l'extrait original (sans ajouter d'analyte) à partir de la pente et de l'intersection de la courbe de réponse. Si la courbe de réponse obtenue n'est pas linéaire, il faut faire preuve de prudence pour interpréter la valeur de X.
<b>Facteur de traîne</b>	Mesure de l'asymétrie du pic de la chromatographie; à 10% de la hauteur maximale du pic, rapport des segments opposés de la largeur du pic, lorsqu'il est séparé par une ligne verticale passant par le pic maximal.
<b>Portion d'essai</b>	Voir "Portion à analyser"
<b>Échantillon d'essai</b>	Voir "Échantillon à analyser"
<b>Fidélité</b>	Étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et la valeur de référence acceptée.



<b>Incertitude de la mesure</b>	Paramètre unique (en général un écart-type ou un intervalle de confiance) exprimant la gamme possible de valeurs autour du résultat mesuré, dans laquelle on prévoit que la vraie valeur aura un degré établi de probabilité. Elle devrait prendre en compte tous les effets reconnus agissant sur le résultat, y compris la précision globale à long terme (dans les limites de la reproductibilité en laboratoire) de la méthode complète; le biais de la méthode; les incertitudes concernant le sous-échantillonnage et l'étalonnage et toutes autres sources connues de variations dans les résultats.
---------------------------------	---

## ABRÉVIATIONS

<b>C<sub>max</sub></b>	Résidu le plus élevé décelé dans les portions réplique à analyser	<b>MRM</b>	Méthode multi-résidus
<b>C<sub>min</sub></b>	Résidu le plus faible décelé dans les portions réplique à analyser	<b>fRR</b>	Facteur de réponse relative
<b>CV<sub>Atyp</sub></b>	Coefficient type de variation des résidus déterminés dans une portion à analyser	<b>tRR</b>	Valeur de rétention relative pour un pic
<b>CV<sub>Ltyp</sub></b>	Coefficient type de variation des analyses des portions d'un échantillon de laboratoire	<b>Rs</b>	Résolution de deux pics chromatographiques
<b>CV<sub>SP</sub></b>	Coefficient de variation des résidus dans les portions à analyser	<b>EC</b>	Écart-type
<b>BPL</b>	Bonnes pratiques de laboratoire	<b>S<sub>y/x</sub></b>	Écart-type des résidus calculés à partir de la fonction d'étalonnage linéaire
<b>GSM</b>	Méthode spécifique de groupe	<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>LRM</b>	Limite maximale de résidus		