

# commission du codex alimentarius



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

ORGANISATION  
MONDIALE  
DE LA SANTÉ



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

Point 9 de l'ordre du jour

CX/RVDF 04/15/7  
Juillet 2004

## PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

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

Quinzième session

Washington, DC (zone métropolitaine), États-Unis d'Amérique, 26-29 octobre 2004

# F

#### AVANT-PROJET DE PARTIE II REVISEE « CONSIDERATIONS GENERALES SUR LES METHODES D'ANALYSE EN VUE DU CONTROLE DES RESIDUS » DES DIRECTIVES POUR LA MISE EN PLACE D'UN PROGRAMME DE CONTROLE REGLEMENTAIRE DES RESIDUS DE MEDICAMENTS VETERINAIRES DANS LES ALIMENTS

Les gouvernements et organisations internationales souhaitant émettre des observations à l'étape 3 sur l'Avant-projet de Partie II révisée « Considérations générales sur les méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus » des Directives pour la mise en place d'un programme de contrôle réglementaire des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, ci-joint, sont invités à le faire **au plus tard le 15 septembre 2004** à l'U.S. Codex Office, Food safety and Inspection Service, US Department of Agriculture, Room 4861, South Building, 14th Independence Avenue, S.W., Washington D.C. 20250, États-Unis (Télécopie: +1 202 720 3157); ou *de préférence* par courrier électronique à [uscodex@usda.gov](mailto:uscodex@usda.gov), et d'en envoyer une copie au Secrétariat de la Commission du Codex Alimentarius, Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italie (Télécopie: +39.06.5705.4593; courrier électronique: [codex@fao.org](mailto:codex@fao.org)).

## HISTORIQUE

1. À sa 14<sup>e</sup> session, le Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CCRVDf) est convenu qu'un groupe de rédaction se chargera de réviser la Partie II « Considérations générales sur les méthodes d'analyse pour le contrôle des résidus » des Directives pour la mise en place d'un programme de contrôle réglementaire des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CAC/GL 16-1993), pour distribution, observations à l'étape 3 et examen complémentaire à sa 15<sup>e</sup> session<sup>1</sup>.
2. Les gouvernements et les organisations internationales intéressées sont invités à soumettre leurs observations à l'étape 3 sur l'Avant-projet de Partie II révisée « Considérations générales sur les méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus » des Directives pour la mise en place d'un programme de contrôle réglementaire des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CAC/GL 16-1993) annexé à ce document de la manière décrite plus haut.

<sup>1</sup> ALINORM 03/31A, paragraphe 105.

**AVANT-PROJET DE PARTIE II REVISEE « CONSIDERATIONS GENERALES SUR LES METHODES D'ANALYSE EN VUE DU CONTROLE DES RESIDUS » DES DIRECTIVES POUR LA MISE EN PLACE D'UN PROGRAMME DE CONTROLE REGLEMENTAIRE DES RESIDUS DE MEDICAMENTS VETERINAIRES DANS LES ALIMENTS (CAC/GL 16-1993)<sup>2</sup>**

1. *Les méthodes d'analyse* utilisées pour déterminer la conformité aux LMRMV doivent être *efficaces et commodes d'emploi permettant de déceler, quantifier et confirmer l'ensemble des résidus de médicaments vétérinaires* et les substances qui peuvent également être utilisées comme médicaments vétérinaires, comme c'est le cas de certains pesticides, *pouvant être présents dans les denrées alimentaires qui sont de la compétence du présent Comité du Codex*. Ces méthodes doivent être adaptées à une utilisation régulière par les autorités des gouvernements membres chargées de faire appliquer la réglementation dans le cadre de leurs programmes de recherche des résidus. Les applications de telles méthodes dans un programme réglementaire englobent l'analyse d'échantillons prélevés de manière aléatoire dans le cadre d'un programme national destiné à déterminer la conformité aux LMRMV établies et l'analyse d'échantillons recherchés lorsqu'il existe des raisons de suspecter une non-conformité aux LMRMV. D'autres utilisations peuvent englober des analyses d'échantillons afin de répondre à une exigence commerciale ou des analyses utilisées pour évaluer l'exposition du consommateur à des résidus par le biais d'aliments. Par ailleurs, des méthodes peuvent être nécessaires pour détecter des résidus de substances dont l'utilisation est interdite chez les animaux destinés à l'alimentation humaine ou pour lesquelles des LMRMV n'ont pas encore été établies.
2. Il peut exister certaines différences dans les exigences concernant les performances, selon l'utilisation prévue de la méthode retenue. Si l'évaluation des performances de la méthode se concentre en général dans une fourchette d'analyse relativement petite comprenant une concentration recherchée de ces substances pour lesquelles une LMRMV a été établie, l'application à des évaluations de l'apport alimentaire peut exiger des méthodes ayant une fourchette d'analyse plus grande et une plus grande capacité à détecter des quantités plus faibles d'une substance recherchée que ce qui est nécessaire pour vérifier la conformité à une LMRMV. Pour les substances pour lesquelles une LMRMV n'a pas encore été établie, ce que l'on appelle le « résidu zéro » devient une concentration recherchée plus petite car la technologie et les aptitudes de détection de l'analyse évoluent. Si ce document se concentre essentiellement sur des méthodes conçues pour vérifier la conformité aux LMRMV, il contient certaines considérations et directives pour les autres applications des méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires et de substances apparentées dans les aliments.
3. *En raison du nombre considérable de résidus de médicaments vétérinaires potentiels qui sont susceptibles de se retrouver dans les produits alimentaires de la compétence du CCRVDF, on ne dispose pas en général de méthodes présentant les caractéristiques ci-dessus pour tous les éventuels composés qui doivent retenir l'attention dans tous les échantillons potentiels. Pour rendre aussi efficaces que possible les programmes officiels de recherche des résidus de médicaments vétérinaires, il faut que les programmes de contrôle des résidus identifient et choisissent d'utiliser des méthodes disponibles adéquates pour vérifier la conformité aux LMRMV du Codex et, lorsqu'il y a lieu, sanctionner conformément à la réglementation les produits incriminés, dans les limites de la fiabilité des données d'analyse. Pour aider les autorités chargées de faire appliquer la réglementation à déterminer les besoins de leurs programmes de contrôle des résidus en matière d'analyse, le présent exposé s'attachera à décrire les méthodes disponibles et à identifier les caractères des méthodes pour établir que les méthodes sont adaptées à cette fin dans les programmes de contrôle des résidus pour s'acquitter des missions décrites plus haut.*

---

<sup>2</sup> Le texte retenu de la Partie II originale est en italique.

4. *Les principaux caractères des méthodes d'analyse utilisées par les programmes de contrôle des résidus dépendent de l'utilisation de la méthode et des informations qu'elle cherche à fournir. Les exigences diffèrent, selon que la méthode vise à simplement détecter, quantifier ou confirmer la présence d'un résidu recherché. Les méthodes qui donnent des résultats quantitatifs doivent être appliquées avec un bon contrôle statistique dans une fourchette d'analyse qui couvre les LMRMV. Dans ces cas, les résultats de la méthode dans cette fourchette et l'inclusion de points d'étalonnage appropriés (y compris le plus petit niveau étalonné) peuvent être plus importants que la caractérisation d'une limite de détection ou d'une limite de quantification. Pour des méthodes appliquées dans le cadre d'études visant à évaluer la dose journalière d'un résidu choisi, l'aptitude de la méthode à mesurer avec précision les ordres de grandeur de concentrations inférieures aux LMRMV peut être importante, de sorte que la limite de quantification et la linéarité de la réponse dans une fourchette d'analyse étendue deviennent des considérations importantes.*

5. *Il existe certaines méthodes qui exigent un complément d'analyse pour justifier l'intervention réglementaire. Seraient à ranger dans cette catégorie des méthodes qui ne fournissent pas suffisamment d'informations sur la structure ou la concentration en résidus. Toutefois, ces méthodes peuvent être intéressantes lorsqu'il s'agit d'analyser des substances à une concentration minimale établie afin d'identifier les produits qui peuvent contenir des résidus qui ne respectent pas les LMRMV. Les résultats obtenus en utilisant ces méthodes ne devraient être considérés que comme de premières estimations de la concentration ou de l'identification de la substance à doser. Les résultats de ces méthodes peuvent être utiles lorsqu'il s'agit de réunir des informations sur les résidus et de décider s'il y a lieu d'appliquer une méthode plus concluante à certains échantillons. Ces méthodes ne devraient pas être utilisées seules aux fins de contrôle des résidus sur des prélèvements officiels sans complément d'information (par exemple, présence de traces d'injection dans l'échantillon) et sans disposer de méthodes déterminatives et/ou de confirmation correctement validées à appliquer à tout échantillon identifié comme ne respectant pas potentiellement une LMRMV.*

6. *Certaines méthodes peuvent être appliquées dans le cadre de programmes de contrôle réglementaire pour la détection de résidus de substances pour lesquelles des LMRMV n'ont pas été établies par la Commission du Codex parce que la toxicologie d'une substance à analyser ne se prête pas à l'établissement d'une LMRMV ou d'une DJA. Les méthodes destinées à analyser des substances comme le chloramphénicol seraient à ranger dans cette catégorie. Pour ces substances, la détermination de la plus petite concentration à laquelle le résidu peut être détecté et l'identité confirmée dans un aliment sont de première importance pour la validation de la méthode. Les caractéristiques de performance liées aux analyses quantitatives peuvent être moins importantes pour ces substances, par rapport à la détection et la confirmation de la présence de la substance sous forme de résidu. La confirmation de l'identité d'un résidu se base sur la comparaison d'un ensemble de caractéristiques d'une substance détectée avec celles d'un étalon connu du résidu suspecté.*

7. *Les caractères, ou caractéristiques, de performance qui doivent être déterminés au cours de la validation de la méthode pour chaque type de méthode – déterminative, de dépistage, de confirmation – sont décrits plus en détail dans la suite de l'exposé.*

#### **CONSIDERATIONS RELATIVES AU CHOIX DES METHODES D'ANALYSE**

8. *Les organismes et les programmes chargés de la sécurité des denrées alimentaires peuvent faire appel à plusieurs types de méthodes pour procéder aux analyses qui peuvent correspondre à leurs exigences. L'emploi de telle ou telle méthode d'analyse devrait dépendre des objectifs recherchés par le programme réglementaire et des performances ultérieures que requiert la méthode choisie en matière d'analyse. Les méthodes pouvant être retenues pour déterminer la conformité aux LMRMV sont celles qui ont été validées avec succès pour l'analyse de combinaisons définies de tissus et d'espèces et de résidus de médicaments vétérinaires. Ces méthodes fournissent soit pour la quantification soit pour l'identification des résultats d'analyse à la suite desquels il est permis d'étayer des mesures réglementaires sans qu'il y ait lieu de procéder à de nouvelles recherches. Dans certains cas, ces méthodes peuvent être considérées comme des méthodes de référence mais il est rare que les méthodes de référence soient celles choisies pour être utilisées dans les conditions ordinaires.*

9. Relativement peu de *méthodes* d'analyse actuellement utilisées par les programmes de contrôle des résidus ont satisfait à une étude multilaboratoires. Les études multilaboratoires sur les performances des méthodes satisfont généralement aux impératifs d'analyse pour être utilisées dans un programme réglementaire, car les informations précieuses sur les performances des méthodes dont disposent différents analystes de différents laboratoires sont obtenues par le biais de ces études. Les méthodes validées par une étude multilaboratoires sont celles qui sont soumises à une étude interlaboratoires conçue dans les règles, pratiquée par des analystes dans des laboratoires indépendants, de sorte que les participants utilisent des sources de réactifs, des supports de chromatographie et un équipement connexe différents. Les méthodes faisant appel à une étude en collaboration réalisée avant 1995 ont été soumises avec succès à une évaluation dans six laboratoires au moins dans le cadre d'une étude acceptable, obéissant à un dispositif statistique. Les méthodes quantitatives faisant appel à une étude en collaboration selon le protocole harmonisé révisé adopté en 1995 ont été soumises à une évaluation dans huit laboratoires au moins, sauf lorsqu'un équipement très complexe ou d'autres exigences inhabituelles ont été identifiés (dans quels cas, il faut la participation de cinq laboratoires au moins). Les études en collaboration des méthodes qualitatives requièrent actuellement la participation de dix laboratoires au moins.

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

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

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

13. La Commission du Codex Alimentarius a fourni des directives pour les laboratoires chargés du contrôle des importations et des exportations de denrées alimentaires<sup>3</sup>. Il s'agit notamment des recommandations spécifiant que ces laboratoires doivent :

- utiliser des procédures de contrôle interne de la qualité conformes aux *Directives harmonisées pour le contrôle interne de la qualité dans les laboratoires d'analyse chimique*<sup>4</sup>;
- participer à des programmes d'essais d'aptitude appropriés et réalisés conformément au *Protocole international harmonisé pour les essais d'aptitude des laboratoires d'analyse (chimique)*<sup>5</sup>;
- suivre les critères généraux pour les laboratoires d'essais figurant dans le Guide ISO/CEI 25: *Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais*<sup>6,7</sup>;
- chaque fois que possible, appliquer des méthodes d'analyse qui ont été validées conformément aux principes établis par la Commission du Codex Alimentarius.

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

15. Un document d'orientation sur la validation des méthodes par un laboratoire unique, « Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique », a été publié comme un rapport technique par l'Union internationale de chimie pure et appliquée<sup>8</sup>. Les prescriptions pour l'utilisation de la validation des méthodes par un laboratoire unique aux fins du Codex ont également été examinées par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage<sup>9</sup>. Les conditions suivantes ont été proposées pour inclusion au Manuel de procédure afin d'établir des critères pour les « cas où la validation par un seul laboratoire peut être utilisée:

- a) aucune méthode validée par une étude inter-laboratoires n'est appropriée
- b) les méthodes validées par un seul laboratoire doivent répondre aux critères suivants:

---

<sup>3</sup> CAC/GL 27-1997. Directives pour l'évaluation de la compétence des laboratoires d'essais chargés du contrôle des importations et des exportations de denrées alimentaires.

<sup>4</sup> M. Thompson et R. Wood. 1995. Directives harmonisées pour le contrôle interne de la qualité dans les laboratoires d'analyse chimique. *Pure & Appl. Chem.* 67: 649-666.

<sup>5</sup> M. Thompson et R. Wood. 1993. Protocole international harmonisé pour les essais d'aptitude des laboratoires d'analyse (chimique). *Pure & Appl. Chem.* 65: 2132-2144.

<sup>6</sup> ISO/CEI. Guide ISO/CEI 25: Prescriptions générales concernant la compétences des laboratoires d'étalonnage et d'essais. Organisation internationale de normalisation, Genève.

<sup>7</sup> Le Guide ISO/CEI 25 a été remplacé par le document ISO/CEI-17025: Prescriptions générales concernant la compétences des laboratoires d'étalonnage et d'essais. Organisation internationale de normalisation, Genève (1999).

<sup>8</sup> M. Thompson et R. Wood. 2002. Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique. *Pure & Appl. Chem.* 74: 835-852.

<sup>9</sup> CX/MAS 02/11.

- i) la méthode est validée conformément à un protocole reconnu au plan international (par exemple le protocole UICPA mentionné ci-dessus);
- ii) l'utilisation de la méthode est intégrée dans un système d'assurance qualité en cours d'accréditation;
- iii) une référence extérieure est donnée au moins par la participation systématique à des essais d'aptitude. Une référence extérieure supplémentaire peut être obtenue par étalonnage en utilisant des matériaux de référence et la comparaison des résultats avec d'autres méthodes. »

## **CONSIDERATIONS RELATIVES A LA MISE AU POINT DES METHODES**

16. *Pour mettre au point une méthode d'analyse, il faut des analystes ayant de l'expérience dans les techniques d'analyse à utiliser, des installations de laboratoire, du matériel et une aide financière. Pour tirer le meilleur parti de ces ressources, il importe de constituer un dossier qui servira à justifier l'élaboration du projet et à évaluer les performances de la méthode retenue. Les programmes de contrôle des résidus devraient faire appel à une méthodologie adaptée à celles des substances à doser qui intéressent la sécurité et la salubrité de l'approvisionnement alimentaire. Il conviendrait de prendre les mesures réglementaires nécessaires et suffisantes contre les produits incriminés, dans les limites de la fiabilité des données d'analyse. Avant de se lancer dans l'élaboration de méthodes d'analyse, il conviendrait de bien s'assurer de la finalité et de la nécessité de chaque méthode vis-à-vis du programme de contrôle des résidus, y compris les caractéristiques de performance nécessaires. Parmi les autres considérations à retenir, il faut citer le champ d'application nécessaire de la méthode (le composé ou la classe de composés à envisager ainsi que les substances susceptibles d'interférer avec eux), les systèmes de mesure potentiels avec leurs propriétés, les propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influer sur les performances de la méthode, la spécificité du système d'analyse recherché et la manière dont elle sera déterminée, la stabilité de la substance à analyser et des réactifs, la pureté de ces derniers, les conditions opératoires à remplir pour satisfaire aux caractéristiques de performance de la méthode, les instructions à suivre pour la préparation des échantillons, les facteurs environnementaux susceptibles d'influer sur la performance de la méthode, les problèmes de sécurité et autres informations intéressant spécifiquement les besoins du programme. Il faut particulièrement évaluer la stabilité de la substance à analyser des étalons et pendant le traitement des échantillons. La stabilité de la substance à analyser dans des conditions normales de stockage d'échantillons avant l'analyse doit également être déterminée, y compris la période pendant laquelle un échantillon peut être stocké en attendant une nouvelle analyse éventuelle à des fins de confirmation.*

## **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DES METHODES D'ANALYSE**

17. L'aptitude d'une méthode d'analyse à détecter et à distinguer le signal d'un composé en présence d'autres composés qui peuvent être présents dans l'échantillon revêt une importance particulière lors de la définition des caractéristiques de performance des méthodes utilisées dans des programmes de contrôle réglementaire des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. Deux aspects doivent être examinés: l'aptitude de la méthode à fournir un signal qui soit exempt d'interférences d'autres composés pouvant être présents dans un échantillon ou un extrait d'échantillon et l'aptitude de la méthode à identifier sans équivoque un signal comme étant exclusivement lié à un certain composé. Ces deux caractères d'une méthode d'analyse sont généralement appelés respectivement la sélectivité et la spécificité de la méthode.

18. La spécificité est définie dans le Manuel de procédure comme « la propriété d'une méthode à répondre exclusivement à la caractéristique ou à la substance à analyser définie dans la norme Codex ». Pour une méthode d'analyse utilisée pour étayer des LMRMV dans un programme réglementaire, la *spécificité* est considérée comme l'aptitude à *distinguer la substance à doser des autres substances qui pourraient être présentes dans la prise d'essai. Une méthode de confirmation de contrôle des résidus doit pouvoir identifier sans ambiguïté le composé mesuré. L'aptitude à différencier quantitativement la substance à doser des homologues, des analogues ou des produits métaboliques dans les conditions d'expérience utilisées est un important facteur du point de vue de la spécificité.* Le CCMAS a proposé que le terme sélectivité, défini comme « la capacité d'une méthode à déterminer un ou des analyte(s) particulier(s) dans des mélanges ou des matrices sans interférences d'autres composants » soit « le terme recommandé en chimie analytique pour exprimer la capacité d'une méthode individuelle à déterminer le ou les analyte(s) en présence d'interférences d'autres composants »<sup>10</sup>. Cette propriété devrait être déterminée par l'analyse des matériaux d'échantillons à blanc connus. Aucune substance interférente ne devrait être détectée lorsque la méthode est appliquée à des échantillons normaux représentatifs de ceux qui seront analysés. La méthode devrait pouvoir distinguer la substance à analyser en présence de substances interférentes potentielles (sélectivité), comme d'autres médicaments qui pourraient être présents sous forme de résidus dans des échantillons normaux.

19. Les informations sur la spécificité et la sélectivité liées à l'analyse d'un résidu de médicament vétérinaire particulier dans un échantillon peuvent être élaborées à partir de plusieurs sources, qui englobent<sup>11</sup>:

- i) données de la chimie utilisée dans les procédures d'extraction et de nettoyage;
- ii) données de la chromatographie ultérieure;
- iii) données de la spectroscopie de détection ou de l'électrochimie;
- iv) données des réactifs à « blanc »;
- v) données des échantillons à « blanc »;
- vi) données de recherches en bibliothèque concernant des correspondances ou des interférences potentielles;
- vii) évaluation critique des données disponibles et interprétation ultérieure de la raison pour laquelle des interférences potentielles ne devraient pas interférer dans la pratique;
- viii) informations disponibles sur la disponibilité et les usages potentiels d'un certain composé; et
- ix) autres données intéressantes ou importantes, comme les antécédents d'échantillonnage et de transport/stockage.

20. Les informations citées ci-dessus peuvent être saisies dans un document d'enregistrement structuré reprenant toutes les informations qui mènent à la conclusion qu'une méthode a détecté un certain composé dans un échantillon, à une concentration mesurée comme cela a été rapporté. Si aucune mesure ou analyse ne peut fournir seule la preuve irréfutable de l'identité du composé et/ou de la quantité présente désirée, les informations combinées qui ont été compilées prouvent que l'analyste a fait un effort consciencieux pour arriver à un résultat logique conforme aux données et autres informations disponibles.

21. La fidélité est définie dans le Manuel de procédure comme « l'étroitesse de l'accord entre des résultats d'essais indépendants obtenus dans les conditions stipulées ». Elle peut s'exprimer en termes de répétabilité (au sein d'un laboratoire) et de reproductibilité (interlaboratoires). Pour la validation des méthodes par un laboratoire unique, la précision en tant que répétabilité devrait être déterminée à partir d'expériences réalisées à des jours différents, avec des lots de réactifs différents et de préférence par des analystes différents. La fidélité exprimée en tant que reproductibilité requiert une étude multilaboratoires de la méthode. *La fidélité d'une méthode s'exprime généralement en écart-type. Une autre expression utile est l'écart type relatif, ou coefficient de variation (l'écart type, divisé par la valeur absolue de la moyenne arithmétique). On peut l'exprimer en pourcentage en multipliant par cent.*

---

<sup>10</sup> CX/MAS 02/5.

<sup>11</sup> R.W. Stephany. 2003. SPECLOG – The Specificity Log. CRD 9, Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, 14<sup>e</sup> session, Arlington, Virginie, 4-7 mars.

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

23. La justesse, parfois appelée « vérité » ou « biais », est définie dans le Manuel de procédure comme « l'écart de l'accord entre le résultat rapporté et une valeur de référence acceptée ». Le Manuel de procédure définit également la « vérité » comme « l'écart de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée » et « biais » comme « la différence entre l'espérance mathématique des résultats d'essais et une valeur de référence acceptée ». La justesse est donc l'aptitude d'une méthode à donner un résultat conforme à la concentration réelle de la substance à analyser présente dans le matériau soumis à des essais. La justesse d'une méthode peut être déterminée par l'analyse d'un matériau de référence certifié, en comparant ces résultats avec ceux obtenus en utilisant une autre méthode pour laquelle les caractéristiques de performance ont été auparavant rigoureusement établies (autrement dit, une méthode de référence reconnue) ou, en l'absence de matériaux ou méthodes de référence, en déterminant la récupération de la substance à analyser fortifiée dans le matériau d'échantillons à blanc connu.

24. *La justesse d'une mesure est étroitement liée à l'erreur systématique (biais de la méthode d'analyse) et à la récupération de la substance à doser (mesurée en pourcentage de récupération). Le degré de justesse exigé des méthodes variera en fonction de l'utilisation que l'on entend faire des résultats dans le cadre de la réglementation. En règle générale, la justesse au niveau de la LMRMV et en dessous, ou niveau retenu, doit être au moins égale à la justesse au-dessus de ce niveau.*

25. *Le pourcentage de récupération de la substance à doser lorsque celle-ci est ajoutée à une prise d'essai en blanc est une mesure qui compare la quantité trouvée par analyse avec la quantité ajoutée à l'échantillon. La récupération a été définie comme la proportion de la quantité de substance à analyser présente ou ajoutée au matériau soumis à des essais qui est extraite et présentée pour être mesurée<sup>8</sup>. Elle s'exprime sous forme de pourcentage de la substance à analyser déterminé par des expériences après fortification du matériau d'échantillons à une concentration connue et devrait être évaluée à des concentrations qui couvrent la fourchette d'analyse de la méthode. Lorsqu'on interprète les pourcentages de récupération, il faut bien savoir que la substance à analyser ajoutée intentionnellement à un échantillon ne se comportera pas nécessairement de la même manière que cette même substance absorbée par la voie biologique (résidu de médicament vétérinaire). Dans de nombreux cas, la quantité d'un résidu absorbé qui est extraite (le produit ou la fraction récupérée) est inférieure au total des résidus absorbés présents, du fait de pertes pendant l'extraction, de la liaison intracellulaire des résidus, de la présence de conjugués ou d'autres facteurs qui ne sont pas entièrement représentés par des expériences de récupération réalisées avec des blancs fortifiés de substance à analyser. Ce problème a été abordé par certaines autorités de réglementation par l'établissement de spécifications pour les performances des méthodes d'analyse réglementaires<sup>12</sup>. Aux concentrations relativement élevées, le pourcentage de récupération analytique devrait approcher 100%. Aux concentrations plus faibles et, en particulier, lorsqu'il s'agit de méthodes faisant appel à plusieurs étapes parmi lesquelles l'extraction, l'isolation, la purification et la concentration, les pourcentages de récupération peuvent être plus faibles. Quels que soient les pourcentages de récupération moyens observés, il est souhaitable que la récupération présente une faible variabilité.*

---

<sup>12</sup> 2002/657/CE: Décision de la Commission portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats, *Journal officiel des Communautés européennes*, L 221/8, 17 août 2002



26. On appelle *sensibilité* d'une méthode sa plus ou moins grande aptitude à déceler la présence d'une substance à doser et à distinguer de faibles écarts de concentration de cette substance. Pour une méthode déterminative, la sensibilité est définie dans le Manuel de procédure comme « le changement dans la réponse divisé par le changement correspondant dans la concentration d'un étalon (courbe d'étalonnage), c.-à-d., la pente,  $s_i$ , de la courbe d'étalonnage d'analyse ». Elle a également été définie comme le « gradient de la fonction d'étalonnage »<sup>6</sup>. La sensibilité implique également l'aptitude à distinguer la substance à doser des composés voisins et des « bruits de fond ». Dans le cas de l'appareillage utilisé pour analyser les résidus, la sensibilité dépend de deux facteurs: la réponse des instruments à la substance à doser et les interférences du milieu, ou « bruit » de l'appareillage, la réponse fournie par celui-ci lorsque la prise d'essai ne contient pas la substance à doser. Pour des mesures au niveau de la LMRMV ou proches de celle-ci, une méthode ayant une sensibilité adéquate peut ne pas permettre à l'analyste de savoir avec certitude si les concentrations de résidus sont supérieures ou inférieures à la LMRMV.

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

28. La *courbe d'étalonnage* devrait être déterminée pour évaluer la réponse du détecteur aux étalons. Les concentrations (un minimum de cinq, plus les blancs) devraient couvrir l'ensemble de la fourchette recherchée d'analyse et la courbe résultante devrait être exprimée statistiquement. La *fonction d'analyse* se rapporte à la réponse pour la substance à analyser récupérée à partir du matériau d'échantillons à différentes concentrations dans la fourchette recherchée d'analyse. Pour les substances à analyser pour lesquelles une LMRMV a été établie dans un matériau d'échantillons particulier (matrice), la réponse est en général déterminée pour un matériau d'échantillons à blanc ou pour des matériaux d'échantillons à blanc fortifiés à chaque 0,5x, 1,0x et 2,0x la LMRMV (il est recommandé d'utiliser 6 sources différentes de blancs). L'expérience de fonction d'analyse peut être combinée avec l'expérience de récupération décrite plus haut et revêt une importance particulière lorsque la présence de produits co-extraits de la matrice modifie la réponse de la substance à analyser par rapport aux étalons d'analyse. Il est de plus en plus fréquent dans les méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments de baser la détermination quantitative sur une courbe-type préparée en plus d'un étalon pour connaître le matériau de matrice à blanc représentatif à un éventail de concentrations appropriées couvrant la valeur recherchée. L'utilisation d'une telle « courbe-type de tissus » pour l'étalonnage intègre une correction de la récupération aux résultats d'analyse obtenus. En général, une réponse linéaire est souhaitable pour la courbe d'étalonnage et la fonction d'analyse, exprimée statistiquement en termes de corrélation linéaire.

29. La linéarité a été définie comme « l'aptitude d'une méthode d'analyse, dans une certaine fourchette, à fournir une réponse des instruments ou des résultats proportionnels à la quantité de la substance à analyser qui sera déterminée dans l'échantillon de laboratoire »<sup>13</sup>. Cette proportionnalité se présente sous la forme d'une expression mathématique définie *a priori*. Les limites de linéarité sont les limites expérimentales de concentrations entre lesquelles un modèle d'étalonnage linéaire peut être appliqué avec un niveau de certitude connu (en général considéré de 1%). Pour une méthode dans laquelle le matériau de matrice à blanc fortifié est utilisé pour la quantification, la linéarité est déterminée à partir des expériences de fonction d'analyse décrites et elle est l'expression statistique de la courbe obtenue pour l'analyse de matériaux d'échantillons fortifiés à des concentrations recherchées couvrant la limite maximale de résidus. Elle est en générale déterminée à partir d'une analyse de régression linéaire des données, en supposant qu'il y a une réponse linéaire.

30. La limite de détection est généralement définie comme l'échantillon-témoin  $+3s$ , le  $s$  étant l'écart-type du signal de l'échantillon-témoin<sup>9</sup>. Elle est également définie comme « la plus petite quantité ou concentration mesurée de substance à analyser qui permet de déduire avec une certitude raisonnable la présence de la substance dans la prise d'essai »<sup>6</sup>. En général, le calcul du signal moyen des échantillons-témoins et de l'écart-type est fait à partir de 20 déterminations ou plus. Cette approche peut donner une estimation optimiste de la limite de détection. Une approche alternative implique le calcul de la limite de détection à partir de l'écart-type  $s_{y/x}$  à partir de l'analyse de régression linéaire de la courbe-type générée par la fonction d'analyse expérimentée ci-dessus<sup>14</sup>. La limite de détection est alors calculée en utilisant le point d'interception  $y$  de la courbe et trois fois  $s_{y/x}$ . Cette approche donne une estimation plus traditionnelle de la limite de détection.

31. La limite de quantification<sup>15</sup>, qui a été définie en terme pratique comme la plus petite concentration de substance à analyser dans une matrice définie qui peut être déterminée avec la justesse et la fidélité nécessaires<sup>16</sup>. Elle peut être exprimée traditionnellement comme 10 fois supérieure à l'écart-type de la valeur moyenne pour 20 déterminations ou plus de la réponse du matériau de matrice à blanc connu. Pour les méthodes utilisées pour étayer des LMRMV établies par la Commission du Codex Alimentarius; la limite de quantification devrait répondre aux critères de fidélité et de justesse (récupération) du tableau 1 et devrait être égale ou inférieure aux concentrations réelles vérifiées pour la conformité à une LMRMV, la validation et l'application ultérieure de la méthode peuvent se baser sur le plus petit niveau étalonné, qui est en général égal à 0,5x la LMRMV. Pour un programme réglementaire, les limites de détection et de quantification sont des paramètres importants si la méthode est destinée à évaluer des expositions à des résidus, bien qu'il puisse être intéressant de contrôler les résidus à des concentrations inférieures à la LMRMV. Pour vérifier la conformité à une LMRMV, il est important d'inclure un plus petit niveau étalonné à l'analyse qui démontre de manière adéquate que la concentration de la LMR doit être déterminée avec certitude. Le plus petit niveau étalonné d'une méthode utilisée pour étayer une LMRMV ne devrait pas être inférieur à la limite de quantification.

32. Le Manuel de procédure recommande le terme « limite de détermination » dans les « Termes à utiliser dans l'approche de critères ». Elle est définie comme étant 6 ou 10 fois supérieure à l'écart-type du signal de valeur moyenne d'un échantillon-témoin, conformément aux définitions de la limite de quantification.

33. *Outre ces caractéristiques principales des méthodes, il existe un certain nombre de caractéristiques annexes que doivent présenter les méthodes d'analyse destinées aux programmes de contrôle réglementaires. Les méthodes doivent être suffisamment robustes, efficaces par rapport à leur coût, relativement peu complexes, portatives et susceptibles de traiter simultanément un ensemble de prélèvements dans un bref laps de temps.*

34. Le Manuel de procédure définit la robustesse comme « l'aptitude d'un procédé de mesure chimique de résister à des changements de résultats lorsqu'il est soumis à des changements mineurs de personnel, de laboratoire, de variables procédurales et environnementales, etc. ». L'analyse de la robustesse doit être réalisée en utilisant une approche normale de plan factoriel afin de déterminer tout point de contrôle critique<sup>17</sup>. Les facteurs typiques à inclure dans un plan englobent les variations des volumes ou concentrations de réactifs, du pH, de la durée et de la température d'incubation ou de réaction, de la qualité des réactifs et des différents lots ou sources d'un réactif ou d'équipement de chromatographie.

35. *Le rapport coût-efficacité dépend de l'emploi de réactifs relativement courants et d'instruments ou de matériel habituellement disponibles et utilisés dans les laboratoires qui se consacrent à l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires.* Les méthodes devraient utiliser des réactifs et des fournitures qui sont facilement disponibles avec la pureté nécessaire auprès des fournisseurs locaux ainsi que de l'équipement dont les pièces et l'entretien sont également facilement disponibles.

36. La portabilité est la caractéristique des méthodes d'analyse qui leur permet d'être transférées d'un endroit à un autre sans perte les caractéristiques de performance d'analyse établies.

<sup>14</sup> J.C. Miller et J.N. Miller. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*, 3<sup>e</sup> édition, Ellis Horwood Ltd., Chichester.

<sup>15</sup> J. Inczedy, T. Lengyel et A.M. Ure ; 1998 ; *Compendium of Analytical Nomenclature (definitive rules 1997)*, 3<sup>e</sup> édition, Blackwell Science, 1998.

<sup>16</sup> P.T. Holland. 1996. *Glossary of Terms Relating to Pesticides. Pure & Appl. Chem.* 68: 1167-1193.

<sup>17</sup> W.J. Youden et E.H. Steiner. 1975. *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*, AOAC International, Gaithersburg, Virginie, États-Unis.

37. *Une méthode de contrôle des résidus sera d'autant plus efficace qu'elle permettra d'analyser simultanément des ensembles ou des lots d'échantillons. Cette caractéristique permet de raccourcir les délais nécessaires à l'analyse des échantillons et entraîne également en général un moindre coût par échantillon, étant donné qu'il existe certains frais fixes liés à l'analyse d'échantillons, qu'elle soit réalisée séparément ou sur de plus grandes séries. L'aptitude d'une méthode à accueillir de multiples échantillons dans un lot a son importance lorsque de grands nombres d'échantillons doivent être analysés rapidement ou dans des délais prescrits.*

38. *Il est indispensable d'établir les caractéristiques de performance d'une méthode. En effet, les organismes chargés de la sécurité des denrées alimentaires ont besoin de les connaître pour pouvoir élaborer et administrer leurs programmes de santé publique. Les caractéristiques de performance des méthodes d'analyse fourniront également la base sur laquelle on s'appuiera pour prendre de bonnes décisions de gestion, qu'il s'agisse de planification, d'évaluation ou du sort à réserver aux différents produits. Pour l'industrie vétérinaire, elles fournissent un cadre qui permet de savoir exactement le degré de performance qu'il convient de rechercher lors de la mise au point des modes opératoires. Au demeurant, le fait de pouvoir compter sur des caractéristiques de performance bien définies sera de l'intérêt de tous. Les exigences en matière de performances varieront, selon que la méthode est utilisée pour la détection, la détermination ou la confirmation d'un résidu pour lequel des limites maximales de résidus ont été établies ou de résidus de médicaments dont l'utilisation a été officiellement interdite chez les animaux destinés à l'alimentation humaine. Dans ce dernier cas, l'autorité compétente se sentira obligée d'adapter ces limites à des concentrations plus petites, ce qui est nécessaire pour refléter des améliorations de la technologie et de la capacité d'analyse. Lorsque de telles limites n'ont pas été officiellement établies par l'autorité compétente, elles sont généralement établies de facto par les aptitudes de détection des méthodes utilisées dans les laboratoires ayant des responsabilités réglementaires.*

## **INTEGRATION DES METHODES D'ANALYSE POUR LE CONTROLE DES RESIDUS**

39. *Les organismes de contrôle des résidus et de normalisation emploient des terminologies différentes pour décrire l'application des méthodes d'analyse. En définitive, les méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments doivent être capables de déceler sans risque d'erreur la présence d'une certaine substance à doser, d'en déterminer la concentration, et d'identifier correctement la substance recherchée. Pour des résidus découlant de l'utilisation de substances approuvées, la présence de résidus à la limite maximale de résidu (LMRMV) fixée et au-dessus devrait être confirmée de manière à pouvoir prendre les mesures prévues par la réglementation. Pour les substances dont l'utilisation a été officiellement interdite chez les animaux destinés à l'alimentation humaine, la présence confirmée de résidus, quelle qu'en soit la concentration, dans un aliment entraînera éventuellement des mesures réglementaires. Les méthodes qui confirment l'identité d'une substance à analyser sont classées comme méthodes de confirmation, étant entendu qu'elles peuvent comporter ou non une composante quantitative ou semi-quantitative.*

40. *Les autres méthodes susceptibles d'être mises en oeuvre dans les programmes de contrôle de résidus, et de renforcer leur action, peuvent être classées dans deux catégories supplémentaires. Il s'agit des méthodes quantitatives, ou déterminatives, et des méthodes de dépistage. Les méthodes quantitatives fournissent des informations précises sur la quantité de substance à doser pouvant être présente, mais en ne renseignant parfois qu'indirectement sur l'identité structurale de la substance. Quant aux méthodes de dépistage, elles doivent permettre de déterminer rapidement la présence d'un ou plusieurs composés, sur le vu d'une ou plusieurs caractéristiques communes à une catégorie donnée de médicaments vétérinaires, et cela de manière qualitative ou semi-quantitative pour une limite de concentration spécifiée. Elles peuvent également indiquer que la substance à doser est en dessous du seuil de détection de la méthode de dépistage.*

41. *Ces trois catégories de méthodes - de confirmation, quantitatives et de dépistage – ont fréquemment en commun un ensemble de caractéristiques de performance décrites plus haut. En outre, elles peuvent présenter d'autres caractéristiques spécifiques. Il importe de bien comprendre les rapports entre ces trois catégories de méthodes pour pouvoir élaborer un programme équilibré de contrôle des résidus et en assurer le bon fonctionnement. Les méthodes de dépistage ont ceci d'utile qu'elles offrent un meilleur rendement à l'analyse (c'est-à-dire que l'on peut procéder à un plus grand nombre d'analyses dans un délai donné) que les méthodes quantitatives et/ou de confirmation. Dans bien des cas, les méthodes de dépistage peuvent être mises en oeuvre en dehors du laboratoire. Les méthodes de dépistage qui peuvent être ainsi pratiquées en dehors du laboratoire reviendront souvent moins cher aux programmes de contrôle que s'il fallait conduire l'ensemble des essais au laboratoire. Les méthodes de dépistage peuvent être utilisées pour faire le tri entre les prises d'essai sans traces décelables de résidus et celles qui témoignent de la présence d'un résidu de médicament vétérinaire au niveau de la LMRMV ou en dessous, ou encore à un certain niveau intéressant l'analyste. Cela permettrait au laboratoire de consacrer davantage de temps à l'analyse quantitative des prises d'essai présumées positives et tombant par conséquent sous le coup de la réglementation.*

42. *En outre, les analyses de dépistage peuvent être utilisées de manière particulièrement rentable dans le cadre du laboratoire dans la mesure où elles permettent d'analyser un plus grand nombre d'échantillons dans un délai donné que les méthodes quantitatives correspondantes. Cependant, l'économie réalisée ne sera pas nécessairement aussi considérable que lorsque les méthodes de dépistage sont utilisées hors du laboratoire, étant donné que les frais de manipulation et d'expédition des échantillons resteront les mêmes. Les résultats présumés positifs fournis en laboratoire par les méthodes de dépistage ne devraient pas être utilisés de manière indépendante pour intervenir sur le plan réglementaire. En revanche, ces données pourront être utilisées pour décider s'il convient de procéder à des analyses supplémentaires et/ou d'élaborer une méthode permettant de faire appliquer les LMRMV dans la pratique quotidienne.*

#### **METHODES DE CONTROLE DES RESIDUS: PROBLEMES D'ELABORATION ET DE VALIDATION DES METHODES**

43. Les laboratoires doivent démontrer que les méthodes utilisées pour l'analyse d'échantillons réglementaires ont été correctement validées. En général, *c'est l'étude multilaboratoires de validation des méthodes qui constitue le facteur le plus important lorsqu'on veut disposer de données d'analyse pour définir les caractéristiques de performance des différentes méthodes.* Toutefois, d'autres modèles ont été développés et comprennent des essais multilaboratoires avec un plus petit nombre de laboratoires que ce qui est nécessaire pour procéder à une étude en collaboration complète ou à une validation par un laboratoire unique<sup>6</sup> basée sur une évaluation interne rigoureuse des performances de la méthode, soutenus par un système de qualité, des audits indépendants et une analyse des aptitudes ou des matériaux de référence, lorsque c'est possible. *Chaque fois que possible, lorsqu'on élabore une méthode de contrôle des résidus, il convient de recueillir des données à partir de trois types d'échantillons. Les prises d'essai témoins prélevées sur des animaux non traités fournissent des informations sur les interférences du bruit de fond et de la matrice en cours d'analyse. Le matériel d'essai fortifié, contenant des quantités connues de la substance à doser délibérément ajoutées au matériau témoin, fournit des informations sur la capacité de la méthode à retrouver la substance recherchée dans des conditions contrôlées. Des tissus dans lesquels la substance est présente, soit biologiquement soit parce qu'elle a été administrée, prélevés sur des animaux et des volailles producteurs de denrées alimentaires ayant été traités par le médicament, fourniront, du point de vue des performances de l'analyse, des informations supplémentaires sur les interactions, notamment biologiques, qui peuvent se produire lorsqu'on analyse des échantillons aux fins de contrôle des résidus. Les tissus devraient être obtenus à partir de plusieurs sources pour couvrir les variations découlant de facteurs comme des régimes différents, des pratiques d'élevage, le sexe et l'élevage des animaux.*

44. *Lorsqu'on élabore des méthodes de recherche des résidus il convient de viser un maximum de simplicité. La simplicité d'analyse permet de réduire au minimum la variété, les dimensions et les modèles de la verrerie et autres équipements nécessaires, de réduire le risque d'erreur d'analyse et d'abaisser les frais de laboratoire et le coût de la méthode. Réactifs et étalons doivent être disponibles dans le commerce ou pouvoir être facilement obtenus à d'autres sources. En ce qui concerne l'appareillage, on s'attachera à le choisir en fonction de ses performances plutôt que de sa provenance (fabricant). Les laboratoires devraient fournir à leurs clients des informations sur l'incertitude de la mesure liée aux résultats quantitatifs produits par chaque méthode déterminative. Cela requiert un examen de la méthode pour déterminer l'erreur potentielle qui peut s'introduire à chaque étape de l'analyse jusqu'à la mesure finale. Plus la méthode est complexe et engagée, plus cette tâche est difficile à accomplir.*

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

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

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

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

49. *Les principes du contrôle de qualité et de l'assurance de qualité sont des composantes essentielles de l'analyse des résidus. Ce sont eux qui garantissent une performance optimale de la méthode, et cela pour toutes les méthodes, quelles qu'en soient les caractéristiques et à chaque fois qu'elles sont mises en oeuvre. Le contrôle de qualité permet de suivre les facteurs qui sont liés à l'analyse d'un échantillon par un même expérimentateur tandis que l'assurance de qualité permet à des observateurs indépendants de s'assurer que le programme d'analyse fonctionne de façon acceptable. Les programmes de contrôle de qualité et d'assurance de qualité sont particulièrement précieux: en effet, ils serviront à appuyer les décisions des organismes responsables du contrôle des résidus, à améliorer la fiabilité des résultats d'analyse et à fournir aux programmes de contrôle des résidus des données de qualité qui leur permettront d'attester la sécurité des produits alimentaires en matière de résidus de médicaments vétérinaires auprès des consommateurs, des producteurs et du législateur. L'établissement de mesures de qualité conformes aux principes établis par l'Union internationale de chimie pure et appliquée est recommandé pour les laboratoires de contrôle réglementaire<sup>1</sup>.*