



Point 8 de l'ordre du jour

CX/PR 19/51/13-(REV)
Mars 2019

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES RÉSIDUS DE PESTICIDES

Cinquante et unième Session
Macao RAS, République de Chine, 8-13 avril 2019

DOCUMENT DE DISCUSSION

SUR L'OPPORTUNITÉ DE RÉVISER LES *DIRECTIVES SUR L'UTILISATION DE LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE (SM) POUR L'IDENTIFICATION, LA CONFIRMATION ET LE DOSAGE DES RÉSIDUS (CXG 56-2005)*

(Préparé par le groupe de travail électronique présidé par la République islamique d'Iran et le Costa Rica)

GÉNÉRALITÉS

1. La 50ème session du Comité du Codex sur les résidus de pesticides (CCPR50, 2018) a examiné une proposition pour une nouvelle activité de l'Iran sur la révision des *Directives sur l'utilisation de la spectrométrie de masse (SM) pour l'identification, la confirmation et le dosage des résidus (CXG 56-2005)* et a souligné les lacunes dans les Directives qui ont requis d'être abordés, par ex. le titre des Directives qui ne correspondent pas au contenu du document qui se concentre sur un essai de confirmation uniquement; les fautes éditoriales apparentes dans le texte; les directives couvrent la spectrométrie de masse qui requiert davantage d'indications détaillées etc.
2. Le CCPR50 a souligné qu'il attachait une grande importance à cette question et a souligné le besoin pour les directives d'être harmonisées avec la *Directive sur les critères de performance pour les méthodes d'analyse en vue de la détermination des résidus des pesticides dans les produits destinés à l'alimentation humaine et animale (CXG 90-2017)*.
3. Le CCPR50 est convenu d'établir un groupe de travail électronique (GTE), présidé par l'Iran et co-présidé par Costa Rica travaillant en anglais avec les mandats de référence suivants (REP50/PR, para. 164-166)
 - (i) Pour préparer un document de discussion sur le contexte et des solutions potentielles pour identifier les lacunes dans les directives y compris un projet de document et une ébauche de la révision proposée de CXG 56 pour examen lors du CCPR51.
 - (ii) Pour harmoniser CXG 56 avec CXG 90 et les autres documents pertinents du Codex.
4. L'invitation pour joindre le GTE a été distribuée mi-juillet 2018 avec une date butoir pour la registration de fin juillet 2018. La liste des participants est fournie en Annexe II.
5. CCPR est invité à examiner le projet de document dans l'Annexe I.

DOCUMENT DE DISCUSSION

5. Lorsque les analyses sont effectuées à des fins de contrôle ou de réglementation, il est particulièrement important que des données confirmatoires soient générées avant de signaler des échantillons contenant des résidus de pesticides qui ne sont pas normalement associés avec ces produits ou lorsque les LMR semblent avoir été dépassées. Les échantillons peuvent contenir des produits chimiques perturbateurs qui peuvent être identifiés à tort comme des pesticides.
6. On peut argumenter que la quantification de l'analyte est dénuée de sens sans la confirmation de son identité alors que dans certains cas, comme celui des composés interdits ou l'analyse quantitative, une confirmation est uniquement nécessaire ou c'est plus important que la quantification.
7. Conventionnellement, pour la confirmation de résultats positifs pour les résidus de pesticides dans l'alimentation ou tout compartiment environnemental, différentes approches ont été adoptées, telles que la chromatographie gazeuse. Avec deux différents détecteurs ou deux colonnes de différentes polarités,

combinaison de deux techniques chromatographiques ou réaction chimique suivie par l'analyse du dérivé. D'autres moyens de confirmation, comme le modèle caractéristique chromatographique, pourrait être appliqué alternativement.

8. Toutefois les approches de confirmation classiques ne fournissent pas des informations structurales suffisantes à propos de l'analyte. Les méthodes de confirmation devraient fournir autant que possible des informations structurales à propos de l'analyte, ce qui est uniquement possible en appliquant des techniques spectrométriques (par ex. MS, IR).

9. Vu l'importance de la confirmation de résultats positifs pour les résidus de pesticides dans l'alimentation en 2005 la Commission du Codex Alimentarius (CAC) a adopté les *Directives sur l'utilisation de la spectrométrie de masse (SM) pour l'identification, la confirmation et le dosage des résidus (CXG 56-2005)*.

10. Les lacunes dans les directives qui ont requis d'indiquer par ex le titre des directives ne correspondent pas au contenu ; CXG56 se concentre sur le test de confirmation uniquement ; des erreurs éditoriales apparentes dans le texte ; CXG56 couvre la spectrométrie de masse en général qui requiert des directives plus détaillées, etc.

11. Chaque section ci-dessous réexamine les matériaux contenus dans CXG 56-2005 et fournissent des recommandations pour révisions. Les Annexes I et II de ce document un projet de document ainsi qu'un aperçu des directives révisées pour la proposition d'une nouvelle activité pour examen par le CCPR. L'Annexe III contient une liste de participants dans ce GTE.

TEST DE CONFIRMATION

13. Le Paragraphe 1 souligne l'importance des résultats générés des données de confirmation avant la soumission d'un rapport de test analytique. Le paragraphe est clos avec un exemple de techniques et confirme qu'il ne correspond pas à l'emploi de la spectrométrie de masse.

14. Les Paragraphes 2, 3 et 6 ; décrivent les techniques de confirmation non relatées aux techniques actuelles de la spectrométrie de masse, ce n'est pas pertinent avec le titre du guide et du champ d'application. Il est recommandé d'éliminer les deux paragraphes.

Chromatographie en phase gazeuse avec spectrométrie de masse ((GC/MS)

15. Des paragraphes 7 à 17, il est proposé d'éliminer les sections actuelles puisqu'elles ne font pas référence aux méthodes de la spectroscopie mais également aux techniques en dehors du champ d'application du document. Il y a un mélange de critères d'acceptation d'autres techniques que les techniques de spectrométrie de masse.

16. On propose d'éliminer les sections La chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (GC / MS), HPLC et HPLC-MS, méthode de chromatographie sur couche mince (TLC) et derivatisation et au lieu d'inclure les sections : Champ d'application, Principes généraux, Sélection de reconnaissance d'ions pour identification, confirmation et détection quantitative.

RECOMMANDATIONS

17. Le groupe de travail électronique a fait les recommandations suivantes au CCPR :

- Recommander l'approbation de la nouvelle activité par la Commission du Codex Alimentarius (CAC42) basée sur le projet de document présenté dans l'Annexe I.
- D'établir un GTE pour effectuer la révision des directives conformément aux points soulevés dans le projet de document.
- De fournir des observations générales sur les directives révisées proposées ainsi que cela est indiqué dans l'Annexe II afin d'assister le GTE dans la future révision des directives.

DESCRIPTIF DE PROJET**PROPOSITION POUR UNE NOUVELLE ACTIVITÉ SUR LA RÉVISION DES DIRECTIVES SUR L'UTILISATION DE LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE (SM) POUR L'IDENTIFICATION, LA CONFIRMATION ET LE DOSAGE DES RÉSIDUS (CXG 56-2005)****(Pour examen)****Objectif et champ d'application**

L'objectif de la nouvelle activité proposée est de réviser les *Directives sur l'utilisation de la spectrométrie de masse (SM) pour l'identification, la confirmation et le dosage des résidus (CXG 56-2005) afin d'améliorer et éclaircir le contenu*. Le guide révisé CXG 56-2005 couvre des aspects généraux sur l'analyse des résidus de pesticides par MS, avec des recommandations sur l'identification, la confirmation ainsi que la détermination quantitative. La révision a pour objectif:

- Formater la directive conformément au cadre normatif Codex
- En se concentrant davantage sur les faits de MS, comme une technique confirmative et quantitative pour la détermination des résidus de pesticides en particulier les méthodes de multi résidus.

Pertinence et actualité

Les pesticides comprennent un large nombre de substances qui appartiennent à beaucoup de groupes chimiques différents. La caractéristique générale est qu'ils sont efficaces contre les ravageurs. Les pesticides comprennent une grande variété de produits chimiques avec différentes structures. Il existe des contrastes entre les modes d'action, l'ingestion, la biotransformation, et l'élimination. Des méthodologies analytiques qui sont capables de mesurer les résidus à des niveaux très faibles et fournissent des preuves de l'identité et magnitude de tout résidu détecté sont requises. MS est une technologie précise et hautement flexible qui a été utilisée pour de nombreuses années dans l'identification et la quantification des résidus de pesticides.

Puisque CXG56 a été adopté par CAC38 en 2005, il y a eu beaucoup d'améliorations dans MS et les techniques de séparation de la chromatographie liquide (LC) et la chromatographie en phase gazeuse qui sont souvent employées avec MS. En conséquence, CXG56 devrait être révisée afin d'inclure les avancements technologiques et les mises à jour sur MS pour la détermination des résidus de pesticides.

La révision des directives provient des requêtes pour des explications plus détaillées concernant l'emploi de MS comme la méthode confirmative et quantitative la plus puissante pour la détermination des résidus des pesticides en particulier dans les méthodes de multi résidus.

Principales questions à traiter

La nouvelle activité proposée par le CCPR devrait couvrir les aspects suivants:

1. Les principes généraux des essais de confirmation dans la détermination des résidus de pesticides en particulier dans les méthodes de multi résidus et démontrant les progrès de la technique MS pour les pesticides applicables à GC et HPLC.
2. Les critères pour la sélection du précurseur et produit d'ions pour identification, confirmation et détection quantitative.
3. Critères pour la confirmation des identités des résidus.
4. Critères de contrôle de la qualité de la quantification des résidus identifiés.

Évaluation au regard des Critères régissant l'établissement des priorités des travaux

Le travail primaire proposé sur la révision de CXG 56- 2005, est de décrire les progrès récents dans la spectrométrie de masse y compris les séparations chromatographiques, les analyseurs de masse différents couplés aux effets de matrice GC/LC dans l'analyse MS et diverses applications de MS dans l'analyse de résidus de pesticides, et diverses applications de MS dans l'analyse de résidus de pesticides . Les méthodes de la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) et la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) continuent à jouer un rôle crucial dans le champ de l'analyse des résidus de pesticides (PRA). Malgré la dominance des méthodes LC-MS, GC-MS est toujours un outil utile pour l'analyse des pesticides qui ne sont pas adaptés à l'ionisation à pression atmosphérique (API) (tels que les organochlorines et pyréthroides) ou dans certaines matrices alimentaires telles que les produits à forte teneur en matières grasses.

Les objectifs de la révision sont:

- Quantifier les composés cibles avec une haute précision et précision à ou au-dessous des niveaux imposés par les niveaux actuels ou inférieurs.
- Autorise l'analyse de multi résidus des composés avec différentes propriétés physiques-chimiques
- Suffisamment robuste pour autoriser une analyse de dépistage élevée.

Les directives devraient inclure des tolérances autorisées avec des intensités ioniques relatives puisque celles-ci varient conformément à la technique utilisée pour analyse. Dans le cas de LCMS-MS, l'amélioré. La sélectivité offerte par l'emploi de MS/MS est crucial dans le cas de coalition des composés ou une identification sans équivoque et confirmation des pics peuvent être accomplis à travers des transitions uniques MRM.

Dans cette révision nous escomptons éclaircir ces aspects.

Pertinence par rapport aux objectifs stratégiques du Codex**Objectif stratégique 1: Établir des normes alimentaires internationales qui abordent les questions actuelles et les enjeux alimentaires émergents.**

Suite au développement des méthodes analytiques pour les résidus de pesticides, la révision de cette directive garantit des résultats pertinents d'analyse des différents laboratoires.

Objectif stratégique 2: Garantit l'application des principes de l'analyse des risques dans le développement des normes Codex.

Le document d'orientation n'abordera pas des résidus de pesticides spécifiques ou des produits alimentaires. En d'autres mots il est destiné à être pertinent pour tous les risques liés aux résidus de pesticides dans toutes sortes d'aliments causant un risque.

Objectif stratégique 3: Faciliter la participation effective de tous les membres du Codex

L'objectif de la directive est applicable pour tout résidu de pesticides de lab. dans tout pays membre Codex.

Objectif stratégique 4: Mise en œuvre de systèmes et de pratiques de gestion efficaces et efficaces

Durant le développement de la directive, tous les documents de travail et les discussions électroniques seront distribuées d'une manière transparente et en temps voulu à travers le e-forum à <http://forum.codexalimentarius.net/>. Comme la révision progresse les dernières versions des essais seront traduites en des langages officiels de la Commission lors des réunions annuels des Comités.

- Informations sur la relation entre la proposition et les documents existants du Codex

La directive remplacera les normes existantes Codex qui se concentre sur les résidus de pesticides. Le document d'orientation du CCPR couvre les méthodes analytiques qualitatives (dépistage, identification, confirmation) et quantitatives qui sont pertinents avec les critères établis dans CXG 90-2017 et suivre étroitement les recommandations du document SANTE 11813 2017.

Identification de tout besoin de contributions techniques à une norme en provenance d'organisations extérieures de sorte que celui-ci puisse être planifié

Aucun besoin additionnel n'a été identifié à cette étape.

Calendrier proposé pour la réalisation des travaux

Soumis à l'approbation par CAC en 2019, une première ébauche des Directives révisées sera soumise à CCPR52 (2020) pour examen. L'adoption finale par le CAC est prévue pour 2022.

ANNEXE II**DIRECTIVES SUR L'UTILISATION DE LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE (SM) POUR
L'IDENTIFICATION, LA CONFIRMATION ET LE DOSAGE DES RÉSIDUS****CAC/GL 56-2019-
Révision préliminaire proposée
Pour observations générales par le CCPR****Introduction**

Lorsque les analyses sont effectuées à des fins de contrôle ou de réglementation, il est particulièrement important que des données confirmatoires soient générées avant de signaler des échantillons contenant des résidus de pesticides qui ne sont pas normalement associés avec ces produits ou lorsque les LMR semblent avoir été dépassées

On peut argumenter que la quantification de l'analyte est dénuée de sens sans la confirmation de son identité alors que dans certains cas, comme celui des composés interdits ou l'analyse quantitative, une confirmation est uniquement nécessaire ou c'est plus important que la quantification.

Les tests de confirmation peuvent être quantitatifs et/ou qualitatifs mais, dans la plupart des cas, les deux types d'informations sont exigés. Des problèmes particuliers surviennent quand des 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 du niveau que de l'identité du résidu.

L'utilité des tests de confirmation peut dépendre du type d'échantillons et des faits antérieurs connus. Certains résidus sont associés à des cultures ou produits spécifiques. Pour une série d'échantillons d'origine similaire contenant des résidus du même pesticide, il peut suffire de confirmer l'identité des résidus sur une petite portion des échantillons choisis au hasard. De même, lorsque l'on sait qu'un pesticide déterminé a été appliqué au produit échantillonné, la confirmation de l'identité du résidu peut être superflue, même s'il vaut mieux confirmer quelques résultats choisis au hasard. Si l'on dispose d'échantillons à blanc, on s'en servira pour déceler la présence éventuelle d'interférents.

Conventionnellement, pour la confirmation de résultats positifs pour les résidus de pesticides dans l'alimentation ou tout compartiment environnemental, différentes approches ont été adoptées, telles que la chromatographie gazeuse. Avec deux différents détecteurs ou deux colonnes de différentes polarités, combinaison de deux techniques chromatographiques ou réaction chimique suivie par l'analyse du dérivé. D'autres moyens de confirmation, comme le modèle caractéristique chromatographique, pourrait être appliqué alternativement. Par exemple, quatre isomères de cyperméthrine constituent un modèle spécifique qui, associé aux temps de rétention peuvent servir de preuve supplémentaire de l'identité de cyperméthrine. Dans de tels cas cependant, on devrait faire attention quand la re isomérisation est possible¹.

Toutefois les approches de confirmation classiques ne fournissent pas des informations structurales suffisantes à propos de l'analyte.

Les méthodes de confirmation devraient fournir autant que possible des informations structurales à propos de l'analyte, ce qui est uniquement possible en appliquant des techniques spectrométriques (par ex. MS, IR). Par conséquent, la plupart des documents établissant les critères de confirmation pour les résidus et les contaminants décrivent la combinaison d'une technique chromatographique avec la spectrométrie de masse comme le principal outil de confirmation.

Champ d'application

Cette directive traite du principe général d'application de la spectrométrie de masse (MS) dans l'identification, la confirmation et la détermination quantitative des résidus de pesticides et devrait être lue conjointement à toutes les méthodes pertinentes d'analyses pour les résidus de pesticides.

Principes généraux

Les analyses de résidus de pesticides effectuées au moyen de méthodes multi résidus consistent en général en deux phases : dépistage et confirmation. Ce procédé est décrit schématiquement à la figure 1. La première

¹ EN12393-3-2013: Foods of plant origin – multiresidue methods for the determination of pesticide residue by GC or LC/MS. Partie 3: Détermination de tests de confirmation

phase consiste à établir la présence des résidus de pesticides probables à partir de l'interprétation des données brutes, en évitant autant que possible les faux négatifs. La seconde phase est la confirmation, qui se concentre sur les pesticides détectés dans la première phase. L'utilisation des résultats à signaler et les décisions de gestion qui en découlent détermineront son importance et les efforts à y consacrer au cours du processus de confirmation. La technique utilisée pour la confirmation sera choisie en fonction de sa disponibilité, de son coût et du temps dont on dispose. Il s'agira soit d'interpréter de manière plus poussée les données chromatographiques et spectrométriques de masse, soit de recourir à des méthodes utilisant différentes propriétés physico-chimiques du composé, ou de combiner différentes méthodes de séparation et de détection. D'autres procédures de confirmation figurent au tableau 1.

Sélection d'ions de reconnaissance pour identification, confirmation et détection quantitative.

La détection par spectrométrie de masse doit être effectuée à l'aide de techniques SM en utilisant les spectres de masse complets (balayages complets) ou la mesure d'ions sélectionnés (SIM), ou la mesure de réactions sélectionnées (SRM), ou d'autres techniques SM ou SM-SMn adaptées, associées aux modes d'ionisation appropriés. En spectrométrie de masse à haute résolution (SMHR), la résolution caractéristique doit être supérieure à 10000 pour toute la plage de masse avec une vallée de 10 %.

Les spectres de référence de l'analyte devraient être générés à l'aide des mêmes instruments et techniques employés pour l'analyse des échantillons. Si des différences majeures sont évidentes entre un spectre et celui généré au laboratoire, la validité de ce dernier doit être démontrée.

Si des spectres de balayage complet sont enregistrés en SM simple, un minimum de quatre ions doit être présent avec une intensité relative ≥ 10 % du pic de base. L'ion moléculaire doit être inclus s'il est présent dans le spectre de référence avec une intensité relative ≥ 10 %. La recherche en bibliothèque assistée par ordinateur² peut être utilisée. Dans ce cas, la comparaison des données spectrales des échantillons d'essai avec celles de la solution d'étalonnage doit dépasser un facteur de correspondance critique. Ce facteur est déterminé au cours de la procédure de validation pour chaque analyte sur la base des spectres pour lesquels les critères ci-après sont remplis. La variabilité des spectres induite par la matrice et les performances du détecteur doit être vérifiée.

Dans le cas des mesures par balayage complet, la soustraction prudente des spectres de fond par déconvolution ou autres algorithmes peut être nécessaire pour assurer que le spectre obtenu à partir du pic de la chromatographie est représentatif. Lorsqu'une correction de fond est appliquée, elle doit l'être uniformément sur l'ensemble du lot et être clairement indiquée.

Si la détermination par spectrométrie de masse est effectuée par SIM, l'ion moléculaire doit être de préférence l'un des ions diagnostiques sélectionnés. Les ions diagnostiques sélectionnés ne doivent pas provenir exclusivement de la même partie de la molécule. Le rapport signal-bruit pour chaque ion diagnostique doit être $\geq 3:1$.

Un grand nombre de faits doivent être considérés lors de la sélection des ions caractéristiques pour développer la méthode SIM. Des interférences notoires, tels les ions connus pour être abondants dans l'environnement, comme les phtalates (m/z 149), les artéfacts de colonne (m/z 73, 207, 221, 281, 327), la matrice, le fond, la perte de fragment spécifique (m/z 18) etc. ne devrait pas être inclus lors du développement de la méthode SIM. Identification et confirmation des résultats.

Les chromatogrammes d'ions extraits devraient avoir des pics de temps de rétention, de rapport forme et réponse similaires à ceux obtenus avec les étalons de calibrage analysés à des concentrations comparables dans le même lot. Les pics chromatographiques provenant de différents ions sélectifs pour l'analyte doivent coïncider pleinement. Quand un chromatogramme d'ion est preuve d'interférence chromatographique significative, il ne sera pas fiable pour l'identification.

Un des problèmes de l'analyse des résidus de pesticides réside dans le manque d'un nombre suffisant d'ions ayant l'abondance requise dans les spectres de masse de certains pesticides. Par exemple, les spectres de masse par ionisation à impact électronique du bitertanol, méthoxychlor, phosmet donnent des ions de quantification dont l'abondance est seulement de l'ordre de ou inférieure à 10% du pic de base, ce qui ne peut pas être utilisé aux fins de quantification en raison de la grande incertitude liée à la mesure. Par ailleurs, ils augmenteraient considérablement la LOQ comme on l'examinera ci-dessous. Dans certains cas, comme avec

² Le logiciel de déconvolution spectrale automatisée (AMDIS) est un programme d'ordinateur que le spectre d'extraits pour les composants individuels dans un fichier de données GC/MS et identifie les composés cibles en alignant ces critères contre une bibliothèque de consultation.

le diméthoate, mévinphos et fenthion les ions diagnostiques ne sont pas spécifiques et les traces d'ions des masses d'identification coïncident souvent avec les composantes de la matrice. Par exemple, trois ions de m/z 109, 127, 192 peuvent être sélectionnés pour l'identification de mévinphos dans le mode SIM, mais deux d'entre eux (109, et 127) apparaissent souvent dans les co-extraits coïncidants³.

Différents types et modes de détecteurs de spectrométrie de masse donnent lieu à des degrés de sélectivité différents correspondant au degré de confiance de l'identification. Les exigences pour l'identification sont reprises au Tableau 2. Celles-ci doivent être considérées comme des critères d'orientation pour l'identification et non pas comme des critères absolus visant à prouver la présence ou l'absence d'un composé.

Quantification

Lorsque l'on utilise la surveillance d'ions déterminés (SID), les intervalles de tolérance pour les proportions d'ions et les temps de rétention fondés sur l'injection de pesticide étalon dans un solvant pur a une concentration proche du niveau critique doivent avoir été établis à ce stade. Les intensités relatives des ions détectés, exprimés en pourcentage de l'intensité de l'ion le plus intense ou transition, doivent correspondre à celles de l'analyte standard, soit des normes de calibration ou des échantillons dopés à des concentrations comparables et mesurées dans les mêmes conditions dans des tolérances de $\pm 30\%$. Lorsque 2 (ou 3) proportions d'ions déterminés se situent dans les intervalles de tolérance établis, le résidu est confirmé. Pour un petit nombre de pesticides, le spectre de masse peut ne montrer qu'un ion spécifique. Dans ce cas, il faut rechercher une autre confirmation.

Lorsque les ions détectés continuent d'indiquer la présence éventuelle d'un résidu, le résultat peut être signalé comme provisoirement identifié. Cependant, si le résultat doit conduire à une action réglementaire, ou si le résultat doit être utilisé dans un but différent, (par exemple, estimation de l'apport alimentaire), il faut rechercher une autre confirmation de l'identité de l'analyte. Ceci peut se faire avec le même équipement CG/SM, en injectant des étalons correspondant à la matrice de l'analyte supposé afin de compenser l'influence de la matrice sur la proportion d'ions. Dans ce cas, il faut faire des injections répétées de l'étalon correspondant à la matrice et de l'échantillon suspect. L'écart entre le TRT de l'analyte dans l'étalon et le pic présumé dans l'échantillon doit normalement être inférieur à 0,1 pour cent. Deux proportions d'ions mesurées dans un même échantillon devraient se situer dans l'intervalle de tolérance calculé sur la base des proportions d'ions dans l'étalon correspondant à la matrice. Le résidu est considéré comme confirmé s'il est conforme à la règle générale énoncée ci-dessus. Si les proportions d'ions ne se situent pas au sein des intervalles de tolérance, une confirmation supplémentaire de l'identité peut être obtenue en utilisant d'autres techniques d'analyse. Des exemples sont cités dans le tableau.

La confirmation des résidus détectés après séparation par CLHP pose généralement plus de problèmes que la chromatographie gazeuse. La CL-SM peut fournir de bonnes preuves, mais du fait que les spectres produits sont généralement très simples et ne montrent que peu de fragmentation caractéristique, les résultats obtenus avec cette technique n'ont guère de chances d'être définitifs. La technique CL-SM/SM est plus efficace, associant sélectivité et spécificité, qui fournit souvent de bonnes preuves de l'identité d'un pesticide. Les techniques CL-SM tendent à être sujettes aux effets de matrices, en particulier la suppression, et dès lors la confirmation de la quantité peut donc exiger le recours à l'addition d'étalons ou à des étalons isotopiquement marqués. La production de dérivés peut aussi être utilisée pour la confirmation de résidus détectés par la CLHR (tableau 1)

Une autre confirmation par spectrométrie de masse peut être réalisée en obtenant « le spectre de masse complet moyennant ionisation par impact électronique » (dans la pratique généralement de m/z 50 à un niveau dépassant la région des ions moléculaires). L'absence d'ions perturbateurs joue un rôle important pour confirmer l'identité. On aura une confirmation supplémentaire de l'identité i) en utilisant une autre colonne chromatographique; ii) en utilisant une autre technique d'ionisation (par exemple, ionisation chimique); iii) en surveillant d'autres produits de réaction d'ions déterminés par spectrométrie de masse en tandem (SM/SM ou SMn); ou iv) en surveillant certains ions à une résolution de masse accrue.

Lorsque des techniques chromatographiques sont utilisées pour le dépistage ou la confirmation, il est essentiel de fixer correctement les intervalles de temps de rétention. Il faut veiller à adapter les instruments correctement avant de commencer l'analyse; un système de test d'aptitude doit être effectué avant chaque lot d'analyse.⁴

³ Soboleva E. Ahad K. Ambrus A. Applicability of some MS criteria for the confirmation of pesticide residues, Analyst, 129, 1123-1129, 2004.

⁴ Soboleva E. Ambrus A., Application of system suitability test for quality assurance and performance optimization of a gas chromatographic system for pesticide residue analysis, J. Chromatogr. A. 1027. 2004. 55-65.

à base de données des temps de rétention doit être adaptée aux conditions actuelles⁵. Dans la phase 1, des intervalles de tolérance de 1,5 à 3 pour cent du temps de rétention absolu peuvent être appliqués pour un GC capillaire en fonction de la forme du pic. Pour une confirmation du temps de rétention, les intervalles de tolérance absolus augmenteront à un temps de rétention supérieur. L'intervalle de tolérance devrait être inférieur à 1 s pour un TR inférieur à 500 s. Pour des temps de rétention situés entre 500 et 5 000 s, un intervalle de 0,2 pour cent du TRT est recommandé. Pour des temps de rétention supérieurs, six secondes est un intervalle approprié.

⁵ Lantos J., Kadenczki L., Zakar F., Ambrus A. validation of gas chromatographic Databases for qualitative identification of active ingredients of pesticide residues in Fajgelj A. Ambrus A. (eds) Principles of Method Validation, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2000, pp 128-137.

Tableau 1. Méthodes de détection appropriées pour le dépistage (phase 1) et la confirmation (phase 2) des résidus.

		Phase 1-Dépistage							
		CG avec colonne capillaire – ECD, NPD,	GC-MS	LC-MS	LC-DAD ou dépistage UV	LC-UV/VIS (longueur d'ondes simple)	LC- fluorescence	GC avec colonne emballée – ECD, NPD, EPD	TLC- enzyme, croissance fongique ou inhibition des chloroplastes
Phase2- Confirmation	GC-colonne capillaire – ECD, NPD, FPD, PFPD	x ¹	x ¹	x	x	x	x	x	x
	GC-MS	x	x ^{1,2}	x	x	x	x	x	x
	LC-MS	x	x		x	x	x	x	x
	Techniques de balayage complet	x	x	x	x	x	x	x	x
	(MS) ⁿ , HRMS, autres techniques d'ionisation	x	x	x	x	x	x	x	x
	LC-DAD ou balayage UV	x	x	x		x	x	x	x
	LC-UV/VIS ((longueur d'ondes simple)	x	x				x	x	x
	LC- fluorescence	x	x		x	x		x	x
	TLC – enzyme, croissance fongique ou inhibition chloroplaste	x	x	x	x	x	x	x	x ^{2, 3}
	Dérivatisation	x	x	x	x	x	x	x	x
Profil d'isomères spécifiques	x	x	x	x	x	x	x		

- 1- Soit utiliser la colonne de polarité différente, qui aboutit à un ordre d'élution différent des résidus et des contaminants éluant à proximité du pic concerné, ou un autre détecteur spécifique.
- 2- La même technique CG-SM peut être utilisée pour la phase 2 (confirmation) si des ions différents sont sélectionnés ou si des intervalles de tolérance sont établis à partir des solutions correspondant à la matrice.
- 3- Utiliser la phase mobile ou stationnaire de polarité différente

Tableau 2. Exigences d'identification pour différentes techniques MS

Détecteur MS / caractéristiques	Systèmes typiques (exemples)	Acquisition	Exigences pour identification	
			Nombres minimum d'ions	Autre
Résolution massique unitaire	quadrupole, piège ionique, TOF	Balayage complet, gamme restreinte m/z, SIM	3 ions	S/N $\geq 3^e)$ Pics de l'analyte dans les chromatogrammes d'ions extraits doivent complètement s'entrecroiser rapport d'ion dans $\pm 30\%$ de moyenne (relative) de normes d'étalonnage de la même séquence
MS/MS	triple quadrupole, ion trap, Q-trap, Q-TOF, Q-Orbitrap	Contrôle de réaction multiple ou sélectionnée (SRM, MRM), (SRM, MRM), résolution pour l'isolement de l'ion précurseur égale ou meilleure que la résolution massique unitaire	2 productions	
Mesure précise de la masse	High resolution MS: (Q-)TOF (Q-)Orbitrap FT-ICR-MS secteur MS	Balayage complet, gamme restreinte m/z, SIM, fragmentation avec ou sans sélection d'ion précurseur ou combinaisons de ceux-ci	2 ions avec l'exactitude de masse ≤ 5 ppma, ^{a,b,c}	
		Étape unique combine SM et MS/MS avec la résolution en masse pour isolation ion précurseur équivalent à ou meilleur que la résolution massique unitaire	2 ions : 1 ion moléculaire ion, (de)protoné molécule ou adduit d'ion avec la masse acc. ≤ 5 ppm ^{a,c} <i>plus</i> 1 MS/MS production ^d	

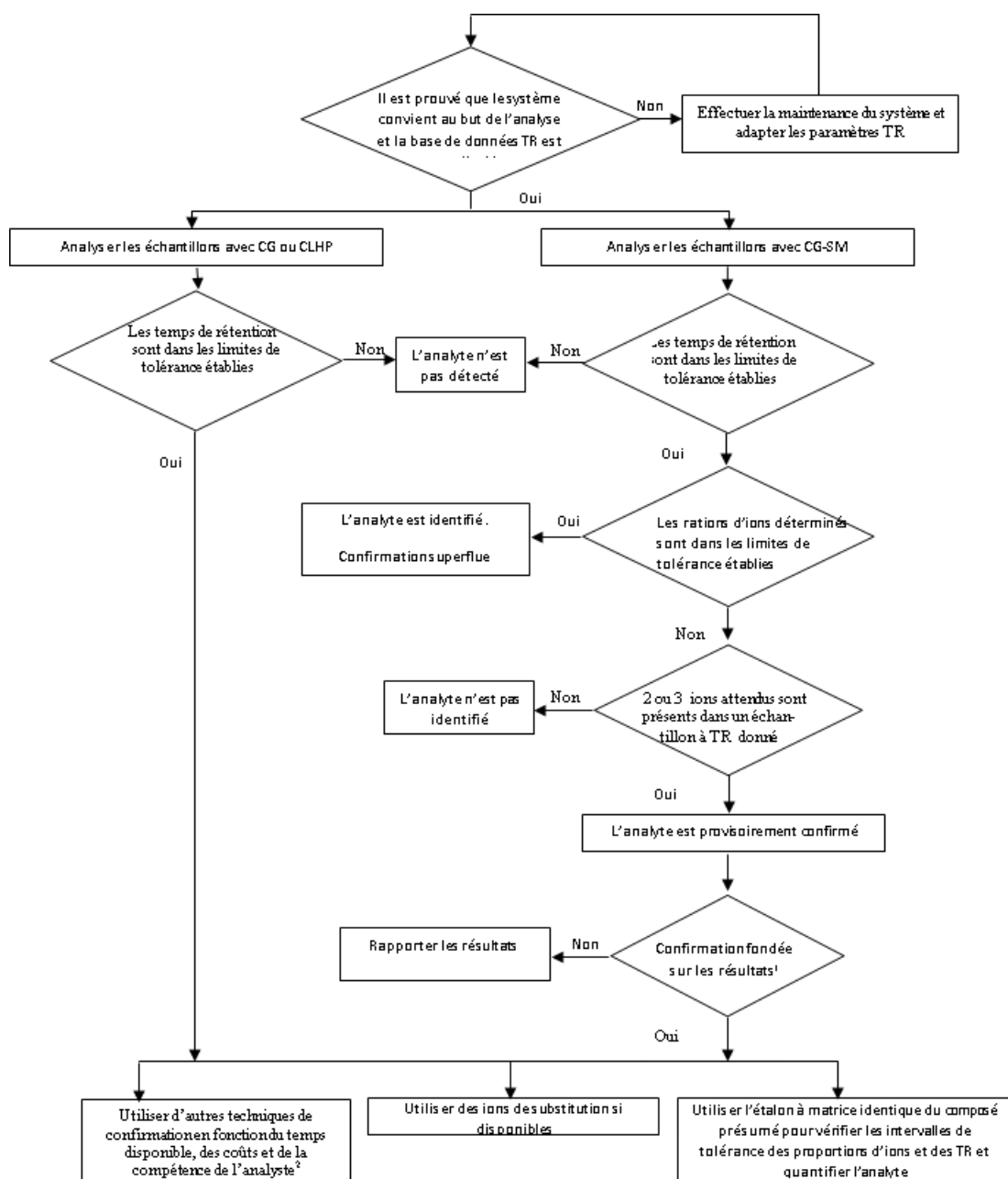
a) Préférentiellement incluant l'ion moléculaire, molécule (dé)protonatée ou ion adduit

b) Incluant au moins un ion fragmentaire

c) < 1 mDa for m/z < 200

d) Aucune exigence spécifique pour l'exactitude de la masse

e) Dans le cas d'absence de bruit, un signal devrait être présent au moins dans 5 vérifications subséquentes



- 1- Valeurs inhabituelles : substances interdites, infraction aux LMR l'évaluation de l'exposition
- 2- Se rapporter au tableau 6 pour d'autres moyens de confirmation
- 3- Pour un petit nombre de pesticides, le spectre de masse peut ne montrer qu'un ion spécifique. Dans ce cas, il faut rechercher une autre confirmation.

Figure 1. Méthodes de détection appropriées pour le dépistage (phase 1) et la confirmation (phase 2) des résidus

GLOSSAIRE DE TERMES

Confirmation	Processus de génération des preuves suffisantes pour assurer la validité d'un échantillon spécifique. Les analytes doivent être identifiés correctement afin d'être quantifiés. L'identité et la quantité de résidus doivent être confirmées. Il est impossible de confirmer l'absence complète de résidus. L'adoption d'une « limite de notification » au niveau de LCL permet d'éviter d'encourir les coûts excessivement élevés liés à la confirmation de la présence, ou de l'absence, de résidus à des niveaux inutilement faibles.
SM/SM	Couplage de spectrométrie de masse, qui inclue ici SM ⁿ Une procédure SM dans laquelle les ions d'un rapport masse-charge sélectionné (m/z) issus du processus d'ionisation primaire sont isolés, fragmentés, généralement par collision, et les ions produits sont séparés (MS/MS or MS ²). Dans les spectromètres de masse à piège ionique, la procédure peut être répétées dans une séquence d'ions produits (MS ⁿ), bien que cela ne soit pas pratique avec des résidus de faible niveau.
Validation	La confirmation par examen et fourniture de la preuve effective que les critères particuliers régissant un emploi spécifique prévu sont respectés.
Détermination	Un résultat quantitatif obtenu à l'aide d'une méthode qui répond aux critères de performance acceptables aux fins quantitatives de l'analyse (par ex., la chromatographie avec détecteur sélectif d'éléments).
Identification	Un résultat qualitative obtenu à l'aide d'une méthode capable de fournir des information structurelles (par ex., en utilisant la détection par spectrométrie de masse (SM) qui répond aux critères acceptables aux fins de l'analyse.
Balayage complet	Quand la détermination par spectrométrie de masse est réalisée par l'enregistrement des spectres de balayage complet, la présence de tous les ions diagnostiques mesurés (ion moléculaire, adduits caractéristiques de l'ion moléculaire, les ions fragments et ions isotopes caractéristiques) avec une intensité relative supérieure à 10% dans le spectre de référence de l'étalon de calibrage est obligatoire.
Mesure d'ions sélectionnés (SIM)	Quand la détermination par spectrométrie de masse est réalisée par fragmentographie, l'ion moléculaire sera de préférence l'un des ions diagnostiques sélectionnés (ion moléculaire, adduits caractéristiques de l'ion moléculaire, les ions fragments caractéristiques et tous leurs ions isotopes). Les ions diagnostiques sélectionnés ne doivent pas exclusivement provenir de la même partie de la molécule. La rapport signal-bruit pour chaque ion diagnostique sera $\geq 3:1$.

Mesure de réactions sélectionnées (SRM)	<p>Données acquises à partir d'un ou plusieurs ions produits spécifiques correspondant à des ions précurseurs sélectionnés par m/z à la suite de au moins deux étapes de spectrométrie de masse.</p> <p>Note 1 : La mesure de réactions sélectionnées dans la spectrométrie de masse en étapes multiples est connue comme mesure de réactions consécutives.</p> <p>Note 2 : La mesure de réactions sélectionnées appliquées à des ions produits multiples issus d'un ou plusieurs ions précurseurs est connue comme mesure de réactions multiples.</p>
Mesure de réactions multiples (MRM)	<p>Application de mesure de réactions sélectionnées à des ions produits multiples issus d'un ou plusieurs ions précurseurs.</p> <p>Note : Cette mesure ne doit pas être confondue avec la mesure de réactions consécutives qui consiste à l'application en série d'au moins trois étapes de mesures de réactions sélectionnées.</p>

ANNEXE II
LISTE DES PARTICIPANTS

PRÉSIDENT: Roya Noorbakhsh / Head of biology reference lab , ISIRI / roybakhsh@yahoo.com

CO-PRÉSIDENTE: Veronica Picado Pomar / Chemist, Servicio Fitosanitario del Estado / vpicado@sfe.go.cr

Nom	Organisation	Pays
Amanda Lasso Cruz	Ministerio de Economía Industria y Comercio	Costa Rica
Humberto Reyes Cervantes	SENASA	Pérou/ Lima
Yolandina Lambur	SENASA	Honduras
Florence gerault	Ministry of agriculture	France
Tania Daniela fosado Soriano	Secretaría de Economía	Mexique
Jakeline Arias Méndez	Coordinadora del SubComité del Codex	Équateur
Roxana Inés Vera Muñoz	Servicio Agrícola y Ganadero	Chili
Volker Wachtler	European Union	UE
Aaron Niman	U.S. Environmental Protection Agency	USA
Rita Kishore	USDA	USA
Joseph T Gesell	Corteva Agriscience / Crop Life International	USA
Aluwani Alice Madzivhandila	Department of Health	Afrique du Sud
Krishna Kumar Sharma	Indian Agricultural Research Institute	Inde
Vidya M	Spices Board	Inde
Lucy Namu	Kenya Plant Health Inspectorate Service	Kenya
Kyunghee Jung	Ministry of Food and Drug Safety	République de Corée
HyoYoung Kim	Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs	République de Corée
Kim Hana	MAFRA	République de Corée
Park Yu-min	Ministry of Food and Drug Safety	République de Corée
Henk van der Schee	NVWA	Les Pays-Bas
Hidetaka Kobayashi	Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries	Japon
Karina Budd	Department of Agriculture and Water Resources	Australie
Xiongwu QIAO	Shanxi Academy of Agricultural Sciences	Chine
Luo Yuanyuan	ICAMA, China	Chine
Yong Gong	ICAMA, China	Chine
Canping Pan	China agaric university	Chine
Ercheng Zhao	Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science	Chine
Elsa Maritza Acosta Piantini	Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social	República Dominicana
Finbarr O'Regan	Department of Agriculture, Food and the Marine	Irlande
Jian Wang	Canadian Food Inspection Agency	Canada
Stephanos Kirkagaslis	European Commission	Belgique
Razzaryonov Alexandr	Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan	Kazakhstan