

C O D E X A L I M E N T A R I U S

NORMES ALIMENTAIRES INTERNATIONALES



Organisation des Nations
Unies pour l'alimentation
et l'agriculture



Organisation
mondiale de la Santé

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

**DIRECTIVES POUR LA CONCEPTION ET LA MISE EN OEUVRE D'UN PROGRAMME NATIONAL DE
RÉGLEMENTATION D'ASSURANCE DE LA SÉCURITÉ ALIMENTAIRE CONCERNANT LES RISQUES
LIÉS À L'UTILISATION DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES SUR DES ANIMAUX PRODUCTEURS
D'ALIMENTS**

CAC/GL 71-2009

Adoptée en 2009. Révisée en 2014.

Table des matières

1. INTRODUCTION

2. CHAMP D'APPLICATION

3. PRINCIPES GÉNÉRAUX

4. APPROCHE BASÉE SUR LE RISQUE

5. DÉFINITIONS (AUX FINS DES PRÉSENTES DIRECTIVES)

6. STRUCTURE RÉGLEMENTAIRE

6.1. Rôles

6.2. Autorisation par les autorités compétentes

6.3. Information sur les médicaments vétérinaires

6.4. Vente et utilisation

6.5. Responsabilités des exploitants d'entreprise (orientation en matière de meilleures pratiques)

7. Programmes de vérification

7.1. Objectif

7.2. Principes généraux concernant la conception

7.3. Conception des programmes de vérification du système et ciblés

7.4. Établissement d'un profil de risque

8. Choix du programme de vérification

8.1. Programmes de vérification du système

8.2. Programmes de vérification ciblés sur les risques

8.3. Études

8.4. Examen

9. Prélèvement d'échantillons

9.1. Principes généraux

9.2. Traçabilité/retraçage des produits

10. Considérations statistiques

10.1. Généralités

10.2. Consignation des chargements pendant les analyses de laboratoire

10.3. Interprétation des résultats

11. Programmes de contrôle au port d'entrée (exigences spécifiques)

11.1. Action réglementaire

11.1. Analyse d'infractions

11.2. Mesures en cas d'infraction : Conduite

11.3. Mesures en cas d'infraction : Produit

11.4. Mesures correctives en cas d'infraction

12. INTERACTION ENTRE LES PROGRAMMES DE CONTRÔLE DE DEUX AUTORITÉS COMPÉTENTES

Méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus

Considérations générales sur les méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus

13. INTRODUCTION

14. INTÉGRATION DES MÉTHODES D'ANALYSE POUR LE CONTRÔLE DES RÉSIDUS

15. CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU CHOIX ET À LA VALIDATION DES MÉTHODES D'ANALYSE

15.1. Identification des prescriptions des méthodes

15.2. Mise en œuvre des autres directives de la Commission du Codex Alimentarius

15.3. Validation de la méthode et aptitude au but poursuivi

15.4. Validation par un laboratoire unique – Approche par critères

Caractéristiques des méthodes d'analyse pour la recherche de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments

16. INTRODUCTION

17. CONSIDÉRATIONS RELATIVES À LA MISE AU POINT DES MÉTHODES**18. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MÉTHODES D'ANALYSE**

- 18.1. Caractéristiques de performance des méthodes de dépistage
- 18.2. Caractéristiques de performance des méthodes quantitatives
- 18.3. Caractéristiques de performance des méthodes de confirmation
- 18.4. Caractéristiques de performance des méthodes destinées à un programme
- 18.5. de contrôle réglementaire

19. CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU DÉVELOPPEMENT ET À LA VALIDATION DES MÉTHODES DE CONTRÔLE DES RÉSIDUS

- 19.1. Choix du matériel d'essai approprié pour la validation
- 19.2. Incertitude de la mesure
- 19.3. Utilisation d'étalons internes
- 19.4. Considérations environnementales
- 19.5. Choix du modèle de validation
- 19.6. Contrôle de qualité et assurance de qualité

Annexe A - Stratégies d'échantillonnage**A1. Échantillonnage sans erreur systémique**

- A1.1. Objectif
- A1.2. Considérations statistiques sur la taille des populations d'échantillonnage
- A1.3. Rapport de certitude de l'échantillonnage

A2. Échantillonnage ciblé**A2.1. Objectif****Annexe B - Échantillonnage de denrées****B1. Champ d'application****B2. Définitions****B3. Procédures d'échantillonnage****B4. Instructions spécifiques de préparation des échantillons pour le miel****B5. Considérations statistiques**

- B5.1. Échantillonnage aléatoire stratifié
- B5.2. Échantillonnage systématique
- B5.3. Échantillonnage biaisé ou du pire cas estimé

B6. Préparation des échantillons définitifs de laboratoire**B7. Envoi des échantillons définitifs de laboratoire****B8. Interprétation des résultats dans le laboratoire****B9. Documentation d'échantillonnage****Instructions de prélèvement de la quantité minimale requise pour différents produits**

Tableau A : Produits carnés (y compris la chair de volaille)

Tableau B : Lait, œufs, produits laitiers et produits d'animaux aquatique

Tableau C : Produits de l'aquaculture

Annexe C - Caractéristiques de performance des méthodes multi-résidus (MMR) pour les médicaments vétérinaires

- C1. Champ d'application
- C2. Définitions
- C3. Résumé des paramètres de performance à caractériser et à définir pour les méthodes d'analyse multi-résidus
- C4. Caractéristiques de performances des MMR
- C5. Caractéristiques de performances méthodes de dépistage
- C6. Caractéristiques de performances MMR quantitative
- C7. Caractéristiques de performances des méthodes de confirmation
- C8. Validation de la MMR pleinement caractérisée

1. INTRODUCTION

Les systèmes modernes de production alimentaire devraient être conçus et gérés de manière à garantir que l'exposition des animaux destinés à l'alimentation à des médicaments vétérinaires ne présente aucun risque pour la santé humaine.

Les organisations commerciales participant à la production et à la mise sur le marché des aliments sont les principales responsables de la garantie de la sécurité alimentaire. Le rôle des autorités compétentes consiste à contrôler l'utilisation des médicaments vétérinaires et à vérifier que des pratiques adéquates sont appliquées et que des mesures efficaces sont en place dans la distribution des médicaments vétérinaires et dans les systèmes de production alimentaire afin d'assurer la protection efficace de la santé des consommateurs et de favoriser des pratiques commerciales équitables, conformément aux objectifs du Codex Alimentarius. Toutes les parties ont également la responsabilité de fournir des informations aux consommateurs et de sensibiliser ces derniers afin de faciliter les choix éclairés lors de l'achat de denrées alimentaires d'origine animale.

L'application d'un programme basé sur le risque à tous les types d'aliments devrait garantir que le niveau de contrôle et de vérification nécessaire est fonction de la charge de risque que le type d'aliments représente pour les consommateurs. L'application d'une approche basée sur le risque à tous les groupes d'aliments et à toutes les catégories de risques devrait permettre une concentration plus précise des ressources dans les domaines qui sont les plus susceptibles de produire de réels avantages en matière de protection de la santé.

Les profils des différents risques peuvent varier selon le pays, la région, la catégorie et/ou le système programme de production. L'application d'un système programme d'assurance du contrôle et de la vérification basé sur le risque devrait fournir la base nécessaire permettant aux pays d'exportation de certifier la sécurité des aliments exportés et aux pays d'importation d'avoir confiance pour accepter ces chargements.

On reconnaît que les pays en développement en particulier peuvent nécessiter une période de transition et/ou une assistance technique pour la pleine mise en œuvre de ces directives.

2. CHAMP D'APPLICATION

Ce document vise à présenter aux gouvernements les principes généraux et des conseils concernant la conception et la mise en œuvre de programmes nationaux d'assurance de la sécurité alimentaire au niveau commercial pour les risques résiduels liés à des médicaments vétérinaires. Les annexes actuelles et futures à ce document peuvent affiner davantage les conseils concernant des questions qui peuvent être pertinentes pour les programmes de contrôle et de vérification pour les produits de certaines catégories. Ces annexes devraient être étudiées conjointement avec les principes énoncés dans ce document.

3. PRINCIPES GÉNÉRAUX

Les programmes de contrôle des risques résiduels liés à des médicaments vétérinaires dans les aliments devraient :

- (i) se baser sur le risque en utilisant des profils de risque réalistes considérés comme pouvant raisonnablement être liés à des aliments dérivés du ou des système(s) de production concerné(s);
- (ii) se concentrer sur la prévention sur la base des profils de risque possibles liés à l'utilisation probable ou connue de médicaments vétérinaires agréés, non agréés et prohibés dans le système de production;
- (iii) inclure des mesures proportionnelles au risque relatif pour la santé humaine lié à ces risques par rapport à d'autres risques liés à des aliments;
- (iv) garantir que toutes les parties participant au système de production, de mise sur le marché et de transformation des animaux et/ou des produits alimentaires dérivés de ces animaux sont chargées de veiller à ce que des produits d'origine animale dangereux ne seront pas vendus suite à leur action ou inaction;
- (v) reconnaître que les contrôles et les pratiques avant la récolte seront principalement responsables de garantir des aliments sans danger;
- (vi) reconnaître que le rôle essentiel des vérifications et programmes d'échantillonnage consiste à vérifier la mise en application et l'efficacité des contrôles et pratiques avant la récolte;
- (vii) se concentrer sur des assurances basées sur le système et la population; et
- (viii) être rentable et bénéficier du soutien des parties prenantes.

Il faut reconnaître que les médicaments vétérinaires sont réglementés dans de nombreux pays pour un éventail de raisons, comme la santé animale, le bien-être des animaux et la protection de l'environnement. Certaines de ces utilisations et les normes connexes ne sont pas directement liées à la protection de la santé des consommateurs de produits d'origine animale ou à la mission de la Commission du Codex Alimentarius, elles devraient être clairement identifiées et justifiées lorsque, pour des raisons d'efficacité, elles font partie du programme de contrôle des résidus des autorités compétentes.

Les procédures d'échantillonnage recommandées par la Commission du Codex Alimentarius pour les additifs alimentaires, résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments sont exemptées des procédures générales d'échantillonnage des denrées alimentaires mises au point par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage. Par conséquent, ces directives reprennent les procédures d'échantillonnage applicables à l'ensemble du programme de contrôle.

La sécurité des aliments est obtenue par la mise en œuvre de règles appropriées appliquées depuis la production primaire ou l'importation jusqu'à la vente au détail ou l'exportation et requiert la participation de toutes les parties prenantes. Les autorités compétentes devraient vérifier que les programmes sont correctement mis en œuvre et, le cas échéant, si des actions ont été prises.

La fiabilité des résultats de laboratoire est importante pour la prise de décisions par les autorités compétentes. Ainsi, les laboratoires officiels devraient utiliser des méthodes validées comme aptes au but poursuivi et aux travaux dans le cadre des principes de gestion de la qualité acceptés au niveau international (par exemple, ISO 17025).

Un programme de contrôle conçu et mis en œuvre conformément aux présentes directives donne une assurance aux pays d'importation afin qu'ils acceptent des chargements dont la sécurité est certifiée par le pays d'exportation.

4. APPROCHE BASÉE SUR LE RISQUE

Une approche basée sur le risque appliquée tout au long de la chaîne de production et à tous les groupes d'aliments et à tous les risques potentiels permettrait aux autorités compétentes de concentrer de manière plus précise les ressources dans les domaines qui sont les plus susceptibles de produire de réels avantages en matière de protection de la santé.

L'application continue de bonnes pratiques et un contrôle régulier contribuent davantage à la sécurité des aliments que le contrôle des produits finis.

Les risques résiduels peuvent être préjudiciables aux consommateurs de plusieurs manières, notamment :

- (a) des effets négatifs toxicologiques chroniques;
- (b) des effets pharmacologiques aigus sur les consommateurs ou la microflore de leur tractus gastro-intestinal;
- (c) des potentiels allergiques.

La présence de différents types de contrôles et de systèmes programmes de surveillance peut être justifiée lorsque l'évaluation des risques identifie un ou plusieurs de ces autres effets négatifs comme conséquents pour la santé humaine. Plusieurs détectations de résidus non conformes (par ex., ceux dépassant les LMR d'application) justifient un suivi réglementaire.

Les animaux et/ou les systèmes de production peuvent être exposés à un éventail de médicaments vétérinaires et autres sources et de types de produits chimiques qui peuvent dès lors être présents dans les produits qui en sont dérivés. Leur importance pour la protection de la santé du consommateur varie toutefois en fonction du type et de la source.

Une compréhension des circonstances nécessaires pour chaque facteur de production de médicaments vétérinaires pouvant constituer une menace pour les consommateurs de produits d'origine animale, ainsi qu'une estimation relative de la probabilité que cela se produise, sont des éléments essentiels du processus visant à déterminer quels contrôles et quels programmes de vérification devraient être intégrés dans la conception de programmes nationaux de vérification et de contrôle des risques résiduels.

L'application d'un programme de contrôle et de vérification basé sur le risque devrait fournir la base nécessaire permettant aux pays d'exportation de certifier la sécurité des aliments exportés et aux pays d'importation, sous réserve de toute évaluation supplémentaire qu'ils jugent nécessaire, d'accepter ces chargements.

Des principes basés sur le risque identiques à ceux qui ont été appliqués à la conception et à la mise en œuvre des programmes nationaux d'assurance devraient s'appliquer à tous les programmes d'assurance des exportations.

5. DÉFINITIONS (AUX FINS DE CES DIRECTIVES)

Autorités compétentes : Organisme gouvernemental officiellement habilité¹.

Agréé : Officiellement autorisé ou reconnu par une autorité compétente.

Basé sur le risque : Concentré sur et proportionnel à une estimation de la probabilité et de la gravité d'un effet négatif se produisant chez les consommateurs.

Le profil de risques est défini dans le Manuel de procédure du Codex. Pour les médicaments vétérinaires, il relie un système de production à un risque potentiel pour la santé du consommateur. Il sous-tend les autorisations et les restrictions d'utilisation.

La vérification du système signifie l'obtention d'informations générales sur l'étendue de l'application des pratiques et contrôles.

Programmes de vérification ciblés sur le risque : inspection/vérification et/ou analyse d'échantillonnage/laboratoire de fournisseurs ou produits spécifiques visant à détecter des infractions.

Échantillonnage sans erreur systématique : échantillonnage aléatoire de populations spécifiées d'animaux à l'abattage pour fournir des informations sur les cas de résidus non conformes, en général réalisé à l'échelle nationale, chaque année. Les composés choisis pour un échantillonnage sans erreur systématique dépendent en général des profils de risques et de la disponibilité de méthodes de laboratoire convenant à des fins réglementaires. Les résultats de l'échantillonnage sans erreur systématique sont une mesure de l'efficacité et de l'adéquation des contrôles et pratiques dans un segment plus large du système de production.

Étude : collecte de données supplémentaires pour l'analyse des résidus liés à un type de production ou à une utilisation de médicaments vétérinaires spécifique.

Le temps de retrait/d'attente (restriction pour la récolte des aliments) est défini dans le *Glossaire de termes et définitions (pour les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments)* (CAC/MISC 5-1993). Un délai peut également être représenté par une combinaison d'événements ou autres facteurs.

Système de production : Méthodes ou activités utilisées pour produire des aliments pour la consommation humaine.

Le contrôle de qualité (dans les laboratoires d'analyse des résidus) permet de suivre les facteurs qui sont liés à l'analyse d'un échantillon par un même expérimentateur.

L'assurance de qualité (dans les laboratoires d'analyse des résidus) permet à des observateurs indépendants de s'assurer que le programme d'analyse fonctionne de façon acceptable.

Le système de gestion de la qualité garantit qu'un laboratoire est géré et exploité de manière à répondre aux exigences d'une norme de qualité reconnue au niveau international pour produire des données et résultats de qualité (par exemple ISO 17025 : 2005).

6. STRUCTURE RÉGLEMENTAIRE

6.1. Rôles

Les exploitants d'entreprise/organisations commerciales participant à la production, à la transformation et à la mise sur le marché des aliments sont les principaux responsables de la garantie de la sécurité alimentaire.

Les autorités compétentes réglementent l'utilisation de médicaments vétérinaires, vérifient que des pratiques adéquates sont appliquées et que des mesures efficaces sont en place dans la distribution des médicaments vétérinaires et dans les systèmes de production alimentaire afin d'assurer une protection efficace du consommateur et de faciliter le commerce, conformément aux objectifs du Codex Alimentarius.

Les autorités compétentes chargées de donner au consommateur des assurances sur les aliments doivent avoir une connaissance et un contrôle suffisants des médicaments vétérinaires qui sont vendus et utilisés dans les systèmes de production et avoir une connaissance suffisante de la sécurité alimentaire.

6.2. Autorisation par les autorités compétentes

6.2.1 Critères

¹ Définition utilisée dans les *Directives Codex concernant la production, la transformation, l'étiquetage et la commercialisation des aliments issus de l'agriculture biologique* (CAC/GL 32-1999).

Des critères d'autorisation adéquats devraient être établis. Ces critères d'autorisation peuvent accepter les évaluations d'autres autorités compétentes reconnues lorsque ces dernières utilisent des modèles qui sont susceptibles d'être similaires.

Les systèmes d'autorisation devraient :

- (a) nécessiter une évaluation de la sécurité de résidus de médicaments vétérinaires pour la santé humaine se basant sur une analyse des risques et établissant, au besoin, des limites maximales de résidus;
- (b) tenir compte des besoins des producteurs afin de réduire la tentation d'utiliser des médicaments vétérinaires non agréés ou des substances interdites.

Les systèmes d'autorisation devraient tenir compte du fait que les profils de risque et les options de gestion peuvent varier fortement entre régions et systèmes de production.

6.2.2. Restrictions de l'autorisation

Les conditions d'autorisation de médicaments vétérinaires devraient être stipulées dans les règlements nationaux pertinents.

Pour atténuer le risque potentiel, des restrictions peuvent être imposées sur :

- (a) les formulations;
- (b) les critères d'utilisation (par exemple durée, espèces) et les voies d'administration;
- (c) indications concernant l'utilisation; et
- (d) le temps de retrait/d'attente/restriction pour la récolte des aliments

6.2.3. Registre national

Toutes les formules de médicaments vétérinaires autorisées devraient être inscrites dans un registre national.

6.3. Information sur les médicaments vétérinaires

Des programmes d'information et/ou d'éducation concernant l'utilisation adéquate pour l'efficacité et la protection des consommateurs devraient être fournis pour chaque formule de produit vétérinaire autorisée.

6.4. Vente et utilisation

Des réglementations nationales/régionales devraient être établies pour faire valoir quels médicaments vétérinaires peuvent être vendus dans le pays et la manière dont ils peuvent être utilisés. Les formules non inscrites au registre national ne devraient pas être utilisées et il devrait y avoir des sanctions pour dissuader une telle utilisation.

Lorsque cela est justifié par un profil de risque approprié, les autorités compétentes pourraient imposer d'autres conditions de vente et d'utilisation de certains médicaments vétérinaires pour contribuer à garantir une utilisation appropriée et éviter les mauvais usages ou les abus.

Les conditions de vente et d'utilisation peuvent consister à :

- (a) demander que toutes les ventes fassent l'objet d'une prescription de vétérinaires ou d'un autre organe réglementaire ou de professionnels ayant les compétences agréées;
- (b) ne confier la gestion qu'à des personnes ou des professionnels ayant les compétences nécessaires;
- (c) demander que tous les animaux/systèmes de production traités soient identifiés de manière spécifiée;
- (d) demander que toutes les utilisations soient enregistrées et/ou notifiées dans une ou plusieurs base(s) de données unifiées(s).

L'efficacité et la nécessité continues de ces contrôles supplémentaires devraient être révisées par rapport au profil de risque local. Ce faisant, il faudrait tenir compte du fait que la non-disponibilité des traitements nécessaires peut encourager l'utilisation de médicaments vétérinaires non agréés ou de substances interdites.

Les autorités compétentes peuvent établir une législation/réglementation qui permet, à titre d'exception, l'utilisation de médicaments vétérinaires non agréés en dehors des indications figurant sur l'étiquette,

conformément à des conseils vétérinaires directs et écrits. Cette législation devrait être conforme aux documents d'orientation nationaux et/ou internationaux et aux informations techniques sur cette question.

Seuls les médicaments vétérinaires spécifiquement agréés pour être utilisés chez des animaux en lactation, des poules pondeuses et des abeilles domestiques devraient être utilisés pour des animaux lors de la collecte, respectivement, du lait, des œufs ou du miel pour la consommation humaine. Des exemptions spécifiques peuvent être développées pour une utilisation en dehors des indications figurant sur l'étiquette.

6.5. Responsabilités des exploitants d'entreprise (orientation en matière de meilleures pratiques)

Les producteurs ne devraient utiliser que des médicaments vétérinaires qui ont été agréés pour être utilisés chez des animaux producteurs d'aliments. Des médicaments vétérinaires non agréés ne devraient pas être utilisés. Les médicaments vétérinaires devraient être utilisés strictement en accord avec des instructions agréées/reconnues officiellement. Les médicaments vétérinaires ne devraient être utilisés en dehors des indications figurant sur l'étiquette que conformément à des conseils donnés directement et par écrit par un vétérinaire conformément à la législation et à la réglementation de compétence nationale. Ces conseils devraient être conformes aux documents d'orientation nationaux et/ou internationaux et aux informations techniques sur cette question.

Les producteurs devraient être encouragés à chercher conseil auprès de vétérinaires ou d'autres professionnels compétents concernant l'application d'un délai de retrait correct, lorsque les instructions d'utilisation figurant sur l'étiquette ne sont pas disponibles ou pas claires.

Il faut conserver des documents contenant tous les détails du traitement et du délai d'attente/retrait avant que l'animal ou le produit d'origine animale puisse être récolté pour la consommation humaine.

Les exploitants d'entreprise (qu'il s'agisse de producteurs primaires ou autres) devraient être obligés de communiquer toute restriction concernant la récolte des aliments (délai de retrait/attente) toujours en vigueur pour l'animal ou le produit d'origine animale au moment de la vente aux acheteurs ultérieurs de(s) l'animal(aux).

Les transformateurs devraient être obligés de garantir qu'ils n'achètent et/ou ne transforment des animaux et/ou des produits d'origine animale que des fournisseurs (qu'il s'agisse de producteurs primaires ou autres) qui peuvent attester de manière crédible l'adéquation/sécurité de l'animal ou du produit d'origine animale pour l'usage auquel il est destiné.

Les producteurs devraient disposer de mesures d'assurance de la sécurité alimentaire au niveau de l'exploitation concernant l'utilisation et/ou l'exposition d'animaux producteurs d'aliments à des médicaments vétérinaires. Toutes les personnes travaillant directement avec les animaux devraient bien connaître ces mesures.

Les producteurs devraient pouvoir identifier tous les animaux, ou lots d'animaux producteurs d'aliments, traités ou exposés à des médicaments vétérinaires afin de veiller au respect des délais d'attente/retrait.

Des mesures continues d'assurance de la sécurité alimentaire, comme la conservation de documents, devraient garantir que les produits (par exemple lait, œufs, miel) ne sont récoltés que si les délais d'attente/retrait ont été respectés.

Les animaux traités ou exposés dont le délai d'attente/retrait n'est pas terminé devraient être maintenus à l'écart des animaux qui n'ont pas été traités ou qui ont été positivement identifiés pour réduire le risque d'erreurs.

Les produits provenant d'animaux soumis à des restrictions concernant la récolte devraient être manipulés de manière à empêcher qu'ils se mélangent avec ceux récoltés pour la consommation humaine. Tout équipement utilisé doit pouvoir être bien nettoyé avant d'être utilisé avec d'autres animaux.

7. PROGRAMMES DE VÉRIFICATION

7.1. Objectif

Un programme de vérification qui combine contrôles/inspections au point de récolte et de différents points de contrôle devrait être mis en œuvre. Cette approche réduira le besoin d'analyses chimiques et fournira un niveau plus élevé d'assurance.

L'objectif général de la mise en œuvre de programmes de vérification est de fournir un niveau approprié de certitude que les pratiques et contrôles en place sont appropriés et qu'ils sont appliqués dans la mesure nécessaire pour garantir la santé des consommateurs de produits d'origine animale. Ils tenteront donc de veiller à ce que l'exposition à des résidus dans des concentrations supérieures à la DJA soit rare.

Les programmes de vérification pourraient contribuer à :

- (a) vérifier des hypothèses utilisées lors de la procédure d'homologation;
- (b) identifier des chaînes de production et de mise sur le marché et/ou des chaînes de conseils inacceptables;
- (c) évaluer l'efficacité des informations figurant sur l'étiquette des médicaments vétérinaires en termes de sécurité de l'aliment;
- (d) évaluer l'efficacité d'autres programmes de formation ou d'atténuation du risque;
- (e) évaluer l'efficacité des systèmes de qualité;
- (f) vérifier l'application et l'efficacité des mesures correctives.

7.2. Principes généraux concernant la conception

Les programmes de vérification devraient couvrir, selon le cas, l'ensemble de la chaîne alimentaire. Un système combiné de vérifications/inspections et d'analyses d'échantillonnage/laboratoire devrait être mis en œuvre. La fréquence, le point et le type d'activité devraient se baser sur une évaluation du risque afin de fournir le contrôle le plus efficace.

Les programmes de vérification peuvent être classés comme suit selon les critères appliqués à la sélection des échantillons et/ou à leurs objectifs :

- (a) les programmes de vérification du système;
- (b) les programmes de vérification ciblés sur le risque;
- (c) les études;
- (d) les programmes de contrôle au port d'entrée.

Les programmes de vérification peuvent se concentrer sur l'évaluation de :

- (a) l'efficacité d'un système de contrôle; et/ou
- (b) le respect par des personnes ou des groupes.

7.3. Conception des programmes de vérification du système et ciblés

Les programmes de vérification devraient :

- (a) définir leur objectif;
- (b) définir la population échantillonnée;
- (c) déterminer si l'échantillonnage est sans erreur systémique ou ciblé (dirigé); et
 - baser le nombre d'échantillons pour les protocoles d'échantillonnage sans erreur systémique de façon statistique;
 - déterminer à l'avance les critères de ciblage appliqués à l'échantillonnage ciblé;
- (d) déterminer à l'avance les critères à appliquer à l'analyse des résultats;
- (e) définir des procédures d'analyse et d'échantillonnage qui permettent de retracer l'origine de chaque échantillon et de confirmer de manière indépendante les conclusions en cas de litige.

7.4. Établissement d'un profil de risque

Il incombe aux autorités compétentes de déterminer les profils de risque pour leur pays et/ou système de production.

La fréquence et l'intensité de la vérification de chaque résidu de médicament choisi pour être surveillé dans le cadre du programme de vérification du système devraient dépendre du médicament vétérinaire et du profil d'utilisation.

Les considérations concernant le profil de risque de médicaments vétérinaires englobent :

- (a) le type de risque présent;
- (b) la catégorie et la gravité de l'effet négatif sur la santé de ce risque résiduel (par exemple toxicité chronique, réaction allergique pharmacologique aiguë ou perturbation microbiologique);
- (c) les circonstances d'utilisation et/ou de production nécessaires, et la probabilité qu'elles surviennent, pour que le risque résiduel soit présent dans les aliments dérivés du système de

production à des concentrations et des fréquences approchant celles qui pourraient poser un risque réel pour la santé humaine;

- (d) la consommation alimentaire nécessaire pour que le risque résiduel constitue réellement un risque pour la santé des consommateurs.

Les autorités compétentes devraient tenter de faire des estimations réalistes des types, quantités et modèles d'utilisation de médicaments vétérinaires dans leur juridiction.

Il faudrait ensuite prêter attention aux éléments suivants :

- (a) les circonstances nécessaires pour que chaque médicament vétérinaire provoque un effet négatif sur la santé des consommateurs;
- (b) la probabilité que ces circonstances se produisent.

Lors de l'examen et du classement des risques résiduels liés aux médicaments vétérinaires susceptibles d'être présents à une étape du système de production, les sources potentielles et les voies d'exposition devraient être décrites.

Les sources suivantes de risques résiduels de médicaments vétérinaires devraient être envisagées :

- (a) les médicaments vétérinaires agréés dans la juridiction des autorités compétentes;
- (b) les médicaments vétérinaires que l'on sait, ou soupçonne, d'être mal utilisés.

Les voies d'exposition de risques de médicaments vétérinaires suivantes devraient être envisagées :

- (a) administration volontaire, à savoir directe, aux animaux;
- (b) administration indirecte aux animaux par ajout à l'eau ou à la nourriture;
- (c) contamination involontaire, par ex. via l'eau, la nourriture ou l'environnement.

Selon les profils de risque déterminés à l'avance dans le pays et/ou le système de production, les autorités compétentes devraient envisager les points de contrôle avant la récolte ci-après pour une vérification/inspection au sein du programme de vérification :

- (a) les vendeurs et les acheteurs de médicaments vétérinaires, pour vérifier quels composés sont vendus et comment ils ont été mis sur le marché;
- (b) les utilisateurs de médicaments vétérinaires (y compris les fermiers, les vétérinaires et les préparateurs d'aliments), pour vérifier la manière dont les médicaments sont utilisés en réalité dans les systèmes de production (par ex., conformément à l'étiquette), les dossiers qui sont conservés et la manière dont l'état du traitement des animaux est identifié;
- (c) les distributeurs d'animaux et de produits d'origine animale, pour vérifier si des restrictions concernant la récolte des aliments liées à l'animal ou au produit sont communiquées et de quelle manière;
- (d) les systèmes d'assurance utilisés par les transformateurs et/ou les producteurs, pour garantir l'adéquation des animaux ou des produits qu'ils reçoivent pour l'usage auquel ils sont destinés.

8. CHOIX DU PROGRAMME DE VÉRIFICATION

8.1. Les programmes de vérification du système

Lors de l'établissement de programmes de vérification les éléments suivants devraient être envisagés :

- (a) un examen des points applicables du système de contrôle;
- (b) un échantillonnage sans erreur systémique d'une population définie ayant des caractéristiques largement similaires de sorte que les résultats peuvent être utilisés pour déduire une certitude statistique quant à l'ampleur du contrôle pour l'ensemble de cette population.

Les programmes de vérification du système peuvent se concentrer sur l'étendue du niveau d'application de contrôles spécifiques dans le processus ou sur la surveillance des résidus chez les animaux/produits au moment de la récolte ou juste avant.

Les programmes d'échantillonnage sans erreur systémique devraient être utilisés afin de déterminer si l'un des contrôles au sein du système doit être ajusté. Ils ne devraient pas servir de base à l'évaluation de produits.

Une fois que les autorités compétentes ont relié l'autorisation d'un médicament vétérinaire à des conditions/restrictions d'utilisation particulières pour éviter les mauvais usages ou les abus, l'adéquation des

conditions/restrictions d'utilisation devrait être régulièrement vérifiée au moyen des programmes de vérification ciblés sur le risque, en termes d'efficacité et de nécessité de gérer le risque que pose l'utilisation du médicament vétérinaire.

En général, les protocoles d'échantillonnage sans erreur systémique ne sont pas efficaces pour détecter des faibles niveaux d'infraction. Lorsque ces niveaux posent un risque potentiel important pour la santé humaine, d'autres programmes d'assurance devraient être utilisés.

8.2. Programmes de vérification ciblés sur les risques

Lors de l'établissement de programmes de vérification ciblés sur le risque, les éléments suivants devraient être envisagés :

- (a) performance antérieure, antécédents d'infraction;
- (b) les composants du système de gestion de la qualité généralement utilisés;
- (c) les facteurs potentiels de risque qui peuvent être liés à une plus grande utilisation de médicaments vétérinaires comme :
 - une numération élevée des cellules somatiques dans le lait, ou
 - des constatations importantes ante- ou post-mortel, par exemple des lésions au site d'injection ou une pathologie résolutive;
- (d) toute autre information concernant les infractions et l'utilisation de médicaments.

Les autorités compétentes peuvent compléter les programmes de vérification avant la récolte ciblés sur le risque par des programmes établis de vérification après la récolte ciblés sur le risque.

8.3. Études

Les études devraient peuvent être réalisées pour :

- (a) évaluer la situation initiale avant le lancement d'un programme de vérification;
- (b) évaluer l'efficacité et l'adéquation d'aspects spécifiques des programmes de contrôle;
- (c) surveiller l'impact que de variables comme la situation géographique, la saison ou l'âge peuvent affecter la présence, l'absence ou la concentration du risque résiduel.

8.4. Examen

Les programmes de contrôle et de vérification devraient être régulièrement révisés pour garantir leur efficacité et/ou nécessité continue ainsi que pour examiner l'impact potentiel de changements dans les profils de risque.

Lorsqu'un niveau élevé d'infraction est identifié pendant une année et que des changements ultérieurs ont été mis en œuvre dans le programme de contrôle, un niveau plus élevé de vérification devrait être envisagé pour l'année suivante afin de contribuer à garantir que les changements sont adéquats pour résoudre le problème. Certains des composés choisis avec un profil de risque plus faible devraient être examinés pour une rotation des composés dans le programme sur la base des performances afin de garantir que le plus vaste éventail possible est couvert.

9. PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS

9.1 Principes généraux

Il faut mettre en place des mécanismes pour prévenir un éventuel conflit d'intérêts lors de la sélection et du prélèvement d'échantillons.

Dans l'idéal, les échantillons devraient être prélevés avant que les animaux et/ou les produits soient mélangés avec des animaux ou produits d'autres fournisseurs.

9.2 Traçabilité/retraçage des produits

Les autorités compétentes devraient veiller à ce que l'origine de tous les échantillons puisse, tout au long du processus d'échantillonnage, de stockage, d'expédition, d'analyse et de rapport, être retracée.

Chaque échantillon doit être clairement identifié afin que des actions adéquates de suivi puissent être appliquées de manière appropriée en cas de résultat non conforme.

Si des sous-unités d'un chargement sont échantillonnées, il faudrait veiller à identifier clairement chacune de ces sous-unités. Il faut prélever suffisamment d'échantillons afin de pouvoir conserver des sous-unités non traitées pour permettre une confirmation indépendante éventuelle des conclusions.

10. CONSIDÉRATIONS STATISTIQUES

10.1 Généralités

Le nombre d'échantillons destinés aux programmes de vérification du système peut être statistiquement déterminé à l'avance (voir l'annexe A pour des conseils supplémentaires).

Lors de la conception d'un protocole d'échantillonnage, il est essentiel de définir l'objectif du programme et la population d'intérêt. Il est également important de définir les critères à appliquer lors de l'analyse des résultats concernant la nécessité/opportunité d'actions supplémentaires, et en particulier concernant la manière dont ces critères et réactions sont directement liés à la protection de la santé humaine.

En définitive, la « population » composée « d'unités d'aliments de consommation » est la plus importante pour la santé humaine. Toutefois, étant donné que c'est l'application de pratiques et contrôles appropriés avant la récolte qui garantit la sécurité alimentaire, une stratégie d'échantillonnage qui a pour effet de vérifier l'adéquation et l'étendue de ces pratiques et contrôles avant la récolte, ainsi que le niveau de conformité, peut être utilisée pour apporter les assurances indiquant qu'il est peu probable que la santé des consommateurs puisse être menacée. Par conséquent, en général, la population présentant le plus grand intérêt pour cibler certaines informations de vérification de conformité/adéquation avant la récolte sera les unités de population auxquelles des pratiques et contrôles courants devraient être appliqués, par ex. :

- (a) le vendeur du facteur de production chimique dans le système de production;
- (b) le producteur;
- (c) le fournisseur des animaux ou des produits d'origine alimentaire au transformateur; ou
- (d) le transformateur lui-même.

Toutefois, vu que les conséquences éventuelles sur la santé humaine sont bien plus importantes lorsque de grandes unités de production (exploitations) sont hors de contrôle, la population généralement échantillonnée de manière aléatoire avant la récolte est une unité normalisée de production vendue à un moment quelconque, par ex., des animaux individuels, des cuves de lait, des tonneaux de miel ou un certain poids de produit d'aquaculture. Ainsi, cela devrait faire en sorte que les plus grands producteurs/fournisseurs soient plus susceptibles d'être échantillonnés tout en conservant le caractère aléatoire du protocole d'échantillonnage.

En général, des conclusions seront tirées de la prévalence, ou de l'absence de prévalence, de résultats non conformes dans les unités échantillonnées au cours de la saison de production ou de l'année civile. Toutefois, en cas de problèmes lors de la saison de production, des mesures correctives peuvent souvent avoir déjà été appliquées et avoir commencé à exercer un effet positif bien avant la fin de la saison de production ou de l'année civile. Pour de petites populations, et pour des cas d'expositions relativement stables ou à faible risque, plusieurs saisons de production ou années civiles peuvent être utilisées/nécessaires pour collecter le nombre d'échantillons statistiquement déterminés pour donner le niveau de certitude nécessaire.

Lorsqu'il est possible de préciser et de décrire davantage la population affectée liée à des facteurs de risque définis comme une saison, une région ou un type spécifique de production, une corrélation du protocole d'échantillonnage à cette co-variable peut être justifiée.

Le point auquel un échantillon est prélevé dépend de l'objectif du programme spécifique. Lorsque l'objectif consiste à vérifier l'efficacité de contrôles au niveau du fournisseur, les échantillons sont généralement prélevés au point de vente/récolte afin de relier l'unité échantillonnée à un fournisseur ou un producteur.

L'échantillonnage au niveau de l'exploitation peut également être utilisé comme un élément d'un programme d'assurance de la qualité avant la récolte ou lorsqu'il y a des inquiétudes quant à l'utilisation éventuelle de substances interdites par les autorités compétentes.

Lorsque l'objectif consiste à vérifier l'efficacité générale d'un système en garantissant que l'exposition de la population générale est inférieure à la DJA, plusieurs unités d'échantillons peuvent alors être composées avant l'analyse, ou des produits mélangés peuvent être échantillonnés et analysés.

Lorsque l'objectif consiste à vérifier la crédibilité et l'efficacité des programmes de contrôle et de vérification existant dans un pays d'exportation, des échantillons peuvent être prélevés d'unités normalisées d'exportation au port d'entrée. Les considérations de conception de ces programmes de vérification secondaires sont sensiblement différentes en ce qui concerne leur objectif, la population d'intérêt et le type de réaction qu'entraînerait toute infraction, à quelque niveau que ce soit. Les tableaux statistiques référencés ci-dessous ne sont pas appropriés à ces programmes, et le nombre d'échantillons fournis devrait refléter le crédit attribué par le pays importateur aux résultats du pays exportateur.

10.2 Consignation des chargements pendant les analyses de laboratoire

Les autorités compétentes ne devraient pas consigner de manière régulière des lots de production liés à des échantillons choisis de manière aléatoire dans l'attente des résultats d'analyse. Les autorités compétentes peuvent consigner de manière régulière des lots de production si on considère qu'il est probable qu'un contrôle ciblé sur le risque donnera des résultats non conformes qui présentent un risque potentiel pour la santé des consommateurs.

10.3 Interprétation des résultats

L'exploitation de programmes de vérification, comme les systèmes basés sur des calculs statistiques impliquant un échantillonnage sans erreur systémique parallèlement à des programmes de vérification ciblés (par exemple fournisseurs ou produits spécifiques) donne un niveau plus élevé d'assurance.

Les résultats de programmes de vérification ciblés seuls ne permettront pas de conclusions sur l'exposition de la population générale à des résidus de médicaments vétérinaires.

Les conclusions relatives à l'exposition de la population générale peuvent être tirées de la combinaison des résultats de :

- (a) programmes de vérification du système basés de façon statistique impliquant un échantillonnage sans erreur systémique; et de
- (b) programmes de vérification ciblés sur le risque.

10.4 Programmes de contrôle au port d'entrée (exigences spécifiques)

Les autorités compétentes ne devraient envisager des programmes de contrôle au port d'entrée que comme un outil secondaire de vérification du système.

Les supports utilisés dans les programmes de contrôle au port d'entrée peuvent différer de ceux utilisés pour des programmes nationaux de vérification

Sauf en cas de suspicion ou de détection d'une menace pour la santé, les produits certifiés devraient être soumis à des programmes d'échantillonnage sans erreur systémique et de mise sur le marché à une fréquence déterminée par le pays importateur d'après les antécédents de conformité du pays d'exportation. Les cargaisons de produits animaux sont souvent hétérogènes par nature et proviennent de plusieurs types d'animaux issus de nombreuses fermes et abattus à différentes dates. Les résultats refléteront la performance d'ensemble du système de maîtrise de vérification du pays et ne devraient pas servir à porter un jugement spécifique sur d'autres unités comprises dans la cargaison, sauf lorsqu'un facteur de risque préalable à la récolte touche l'ensemble des produits et qu'une menace directe à la santé est relevée.

Parmi les programmes d'échantillonnage au port d'entrée, l'application d'un échantillonnage dirigé ou ciblé ne convient que pour des produits dont on sait ou dont on soupçonne qu'ils partagent un même profil d'exposition.

Cependant, après la détection de résultats non conformes au cours du programme au port d'entrée, les pays importateurs peuvent augmenter la fréquence générale des contrôles des aliments d'origine animale directement concernés depuis le pays exportateur sur une période donnée tandis qu'une vérification supplémentaire de l'efficacité des contrôles supplémentaires est exécutée par le pays exportateur.

Lors de l'interprétation des résultats de laboratoire concernant les chargements de produits d'origine animale, il faut tenir compte du fait que ces derniers sont souvent composés d'un mélange de produits provenant d'un éventail d'animaux, d'exploitations et de dates de traitement et qu'ils sont donc hétérogènes. Ces résultats ne devraient pas s'appliquer à des jugements spécifiques quant à d'autres unités d'un chargement sauf si les unités présentent un facteur de risque commun avant la récolte ou en cas de suspicion ou de détection d'une menace directe pour la santé.

Les résultats de programmes de contrôle au port d'entrée ne devraient être communiqués que s'ils sont confirmés par des méthodes pleinement validées pour le support spécifique et les substances à analyser.

Les rapports de laboratoire concernant les résultats non conformes devraient englober :

- (a) une description de la méthode utilisée;
- (b) les caractéristiques de performance de la méthode d'analyse (y compris l'intervalle de confiance du résultat).

Les rapports de laboratoire concernant les résultats non conformes devraient être distribués à toutes les parties affectées par les résultats (par ex., le propriétaire du chargement et l'autorité compétente de certification du pays d'exportation).

Les autorités compétentes du pays d'importation devraient régulièrement fournir les résultats de leurs programmes de vérification, y compris les informations requises pour les besoins de traçabilité/retraçage des produits, aux pays d'exportation.

En cas d'infraction aux paramètres de sécurité alimentaire, les autorités compétentes du pays exportateur devraient procéder à une recherche à la source, prendre les mesures correctives appropriées, et ensuite fournir une synthèse de celles-ci au pays importateur.

Lorsque le type, le niveau et/ou la fréquence d'infraction soulève des problèmes quant à savoir si les importations respectent les normes relatives à la protection de la santé humaine du pays d'importation, ce dernier peut demander des assurances supplémentaires.

Le pays d'importation peut également choisir d'augmenter le niveau de vérification au port d'entrée afin de vérifier que ces assurances supplémentaires données réduisent le problème potentiel.

Dans les cas où des résidus de substances qui ne devraient pas être utilisés sur des animaux producteurs d'aliments dans le pays d'exportation ou d'importation sont détectés dans le cadre de contrôles au port d'entrée, les autorités compétentes du pays d'importation et du pays d'exportation devraient travailler ensemble pour isoler tout aliment d'origine animale potentiellement contaminé et résoudre tout problème de contrôle plus large.

Pour résoudre de tels problèmes, le pays d'origine devra faire une analyse pour déterminer la source possible de la défaillance du système de contrôle et de surveillance du pays, et pour instaurer des contrôles et mesures supplémentaires adéquats afin de remédier à la situation.

Dans les cas où le pays d'exportation est un pays en développement, le pays d'importation devrait particulièrement envisager de fournir une assistance technique pour contribuer à régler le problème.

À l'occasion de l'application de nouvelles méthodes d'analyse et d'échantillonnage, on peut découvrir de nouveaux types de résidus ou des concentrations de résidus dont les deux parties ignoraient jusqu'alors l'existence. Il faudra peut-être un certain temps pour déterminer l'origine de ces résidus et ce que signifie leur présence.

Dans les cas où la présence de tels résidus est liée à des pratiques de production admises auparavant, la mise en œuvre de changements, si ceux-ci sont jugés nécessaires, pourra devoir être étalée sur une longue durée pour le renforcement des capacités.

11. ACTION RÉGLEMENTAIRE

11.1 Analyse d'infractions

Les autorités compétentes devraient analyser chaque résultat non conforme pour déterminer quels facteurs ont conduit à cette situation et l'importance systémique du cas identifié.

Il faudrait tenter d'identifier les substances et l'importance pour la santé des consommateurs de leur présence dans l'aliment.

Lorsqu'un aliment/tissu animal présente un résidu dans des concentrations supérieures à la LMR correspondante au point de récolte, les possibilités suivantes devraient être envisagées :

- (a) le composé chimique n'a pas été utilisé conformément à l'étiquette ou aux instructions de la prescription;
- (b) une formule ou un composé chimique non autorisé a été utilisé;
- (c) le délai d'attente recommandé n'a pas été respecté ou est inapproprié;
- (d) les animaux traités et non traités étaient mélangés;
- (e) il y a eu une exposition involontaire des aliments, de l'eau ou de l'environnement;
- (f) l'aliment fait partie du petit pourcentage statistiquement prévisible d'animaux présentant des résidus en concentrations supérieures à la LMR même si la période de retrait nécessaire s'est écoulée;
- (g) il y a eu une contamination des échantillons, des problèmes de méthode d'analyse ou une erreur d'analyse.

Les laboratoires devraient rapporter tous les cas où des substances ont été détectées mais dont ils n'ont pu confirmer l'identité de manière positive en appliquant les critères de confirmation établis. Cela permettra aux autorités compétentes de relever d'éventuelles tendances de non-conformité.

11.2 Mesures en cas d'infraction : Conduite

Les autorités compétentes devraient ajuster l'envergure et le type des réponses aux infractions identifiées selon l'importance relative que le risque respectif présente pour la protection de la santé des consommateurs.

Les autorités compétentes devraient prendre des mesures proportionnelles lorsqu'elles examinent si l'infraction résulte d'une négligence ou d'une intention.

En cas d'erreurs isolées dues à une négligence ou à l'ignorance, les autorités compétentes devraient demander le respect des conseils et mesures de formation appropriés.

En cas de négligence ou d'intention avérée, des mesures punitives, conformes au système pénal du membre du Codex, devraient être envisagées (par ex., condamnations, amendes, contrôles des déplacements, etc.) comme mesures de dissuasion.

En cas d'infraction généralisée, les autorités compétentes devraient conseiller aux parties intéressées et motiver le secteur commercial concerné à procéder aux changements nécessaires.

Les autorités compétentes devraient vérifier que les mesures correctives appropriées sont prises et surveiller la réussite de ces mesures par le biais de vérifications/inspections et d'analyses d'échantillonnage/laboratoire.

11.3 Mesures en cas d'infraction : Produit

Un produit présentant un risque ne devrait pas être présenté comme convenant à la consommation humaine et devrait être éliminé de manière appropriée.

Lorsque les résultats des échantillons prélevés au niveau de l'exploitation pour les programmes de vérification ciblés sur le risque ne fournissent pas la certitude nécessaire que la production du reste du lot a été réalisée avec une application suffisante de pratiques et contrôles adéquats, le lot ne devrait pas être autorisé pour la consommation humaine tant que des informations suffisantes ne peuvent pas être produites pour garantir le niveau nécessaire d'assurance quant à sa sécurité.

Lorsque les résultats indiquent qu'il y a un risque imminent potentiel pour la santé des consommateurs, il faut tenter de retracer et de supprimer tous les produits également affectés

Dans des programmes d'échantillonnage sans erreur systémique, la proportion non identifiée représente probablement une menace potentielle bien plus grande pour les consommateurs que le « lot » identifié. Par conséquent, les actions prises à l'égard du lot non conforme identifié sont moins importantes que les actions à l'égard du système dans son ensemble.

Lorsqu'il est impossible de se baser sur des contrôles avant la récolte du fait de leur absence ou d'un niveau inacceptablement élevé d'infraction par le producteur d'aliments d'origine animale, un niveau plus élevé de vérification après la récolte peut être approprié afin de tenter de fournir le niveau d'assurance nécessaire au consommateur. Cela devrait être considéré comme une mesure temporaire jusqu'à ce que des mesures adéquates de correction du système de contrôle aient été prises et se soient par la suite révélées efficaces.

11.4 Mesures correctives en cas d'infraction

En fonction des résultats de ces analyses, des mesures correctives locales et/ou systémiques peuvent être considérées comme adéquates pour prévenir une réapparition.

Lorsque l'analyse des infractions indique que les dispositions d'utilisation et de distribution pour la ou les substance(s) sont inappropriées, les autorités compétentes devraient prendre des mesures correctives appropriées en modifiant les règles d'autorisation et de distribution.

Lorsque l'analyse des infractions identifie des défaillances de contrôle locales ou systémiques, les autorités compétentes devraient garantir que des mesures correctives appropriées sont prises aux points pertinents.

Les autorités compétentes devraient vérifier que les mesures sont prises. Les mesures respectives devraient être proportionnelles en durée et en intensité au danger pour la santé des consommateurs, à l'envergure et à la fréquence de l'infraction.

Si la défaillance échappe au contrôle direct de l'exploitant d'entreprise, les autorités compétentes devraient prévenir la réapparition de la défaillance en appliquant des mesures appropriées au point de contrôle pertinent.

12. INTÉRACTION ENTRE LES PROGRAMMES DE CONTRÔLE DE DEUX AUTORITÉS COMPÉTENTES

Les autorités compétentes devraient coopérer pour garantir la protection de la santé des consommateurs dans tous les pays.

Cette coopération vise à obtenir une meilleure assurance qui peut être atteinte en se basant uniquement sur des programmes de contrôle au port d'entrée.

Les pays commerçants devraient être encouragés à échanger des copies de leurs programmes de contrôle et de vérification ainsi que les résultats des années précédentes sur une base régulière.

Pour faciliter les échanges commerciaux en provenance des pays en développement, il faudrait envisager un allongement de la période de transition et une assistance technique recouvrant tous les aspects d'un programme de contrôle des résidus.

MÉTHODES D'ANALYSE EN VUE DU CONTRÔLE DES RÉSIDUS

Considérations générales sur les méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus

13. INTRODUCTION

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

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

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

14. INTÉGRATION DES MÉTHODES D'ANALYSE POUR LE CONTRÔLE DES RÉSIDUS

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

Les principales caractéristiques de performance des méthodes d'analyse utilisées dans les programmes de contrôle des résidus varient selon le but poursuivi : dépister, quantifier ou confirmer la présence d'un résidu

donné. Une méthode peut être reconnue comme faisant partie d'une de ces trois catégories sans avoir fait l'objet d'une étude complète de collaboration².

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

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

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

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

Les échantillons révélés « positifs » par l'analyse selon une méthode de dépistage sont considérés comme suspects et généralement désignés pour être réanalysés selon des méthodes plus rigoureuses. Ce pourrait être par une nouvelle analyse des répliques de portions de laboratoire selon une méthode de dépistage, mais, en général, on utilise des méthodes quantitatives et/ou de confirmation pour établir que l'échantillon contient bien des résidus excédant la limite réglementaire. Ces nouvelles analyses devraient être effectuées sur de nouvelles portions de l'échantillon utilisé dans le test de dépistage initial pour confirmer que la substance détectée dans le test initial est bien la substance suspectée et que la LMRMV (ou autre limite réglementaire) est effectivement dépassée. Les caractéristiques de performance, qui doivent être déterminées lors de la validation pour chaque type de méthode – de dépistage, quantitative et de confirmation – sont exposées dans le chapitre : « *Caractéristiques des méthodes d'analyse pour la recherche des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments* » ci-dessous.

15. CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU CHOIX ET À LA VALIDATION DES MÉTHODES D'ANALYSE

15.1 Identification des prescriptions des méthodes

15.1.1. *Champ d'application de la méthode*

L'objectif de la méthode est habituellement énoncé dans un texte sous la dénomination de *champ d'application* qui définit les substances recherchées (résidus), les matrices (tissus, lait, miel, etc.) et les taux de concentration auxquels s'applique la méthode. Le champ d'application spécifie également si la méthode

² W. Horwitz, 1995. Protocole pour la conception, l'exécution et l'interprétation des études de performance des méthodes. *Pure and Applied Chemistry*, 67 : 331-343.

est destinée à des fins de dépistage, de quantification ou de confirmation. L'autorité compétente doit établir un *résidu marqueur* pour chaque médicament pour lequel une LMRMV a été fixée et devrait aussi désigner le *tissu cible* à analyser en priorité.

15.1.2. Résidu marqueur

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

15.1.3. Tissu cible

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

15.2 Mise en œuvre des autres directives de la Commission du Codex Alimentarius Commission

La Commission du Codex Alimentarius a fourni des directives pour les laboratoires chargés du contrôle des importations et des exportations de denrées alimentaires³. Il s'agit notamment des recommandations spécifiant que ces laboratoires doivent :

- (a) Utiliser des procédures de contrôle interne de la qualité telles que celles décrites dans les « Directives harmonisées pour le contrôle interne de la qualité dans les laboratoires d'analyse chimique »⁴;
- (b) Participer à des programmes d'essais d'aptitude convenant à l'analyse des aliments et conforme aux exigences énoncées dans le « Protocole international harmonisé pour les essais d'aptitude des laboratoires d'analyse (chimique) »⁵;
- (c) Suivre les critères généraux pour les laboratoires d'essais énoncés dans le Guide ISO/CEI - 17025 : « Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais » de 2005; et
- (d) Chaque fois que possible, appliquer des méthodes d'analyse qui ont été validées conformément aux principes établis par la Commission du Codex Alimentarius.

Les méthodes utilisées pour l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments devraient pouvoir détecter les composés contenus dans le programme de contrôle des résidus dans les denrées alimentaires avec la récupération de la substance par l'analyse et une précision qui répond aux critères énoncés dans d'autres parties de ce document, et que les méthodes sont utilisées dans le cadre d'un système établi de gestion de la qualité du laboratoire qui est conforme aux principes énoncés dans le

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

⁴ Pure and Applied Chemistry, **67** (1995): 649-666.

⁵ Pure and Applied Chemistry, **78** (2006) 145-196.

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 gestion de la qualité en place dans le laboratoire.

15.3 Validation de la méthode et aptitude au but poursuivi

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

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

Les méthodes quantitatives faisant appel à une étude en collaboration selon le protocole harmonisé révisé adopté en 1995 par l'AOAC, l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA) et l'Organisation internationale de normalisation (ISO) ont été soumises à une évaluation dans huit laboratoires au moins, sauf lorsqu'un équipement très complexe ou d'autres exigences inhabituelles ont été identifiés (dans quels cas, il faut la participation de cinq laboratoires au moins)⁵. Les études en collaboration des méthodes qualitatives requièrent actuellement la participation de dix laboratoires au moins. Les méthodes faisant appel à une étude en collaboration réalisée avant 1995 ont été soumises avec succès à une évaluation dans six laboratoires au moins dans le cadre d'une étude acceptable, obéissant à un dispositif statistique. Les études multilaboratoires sur les performances des méthodes satisfont généralement aux impératifs d'analyse pour être utilisées dans un programme réglementaire, car les informations précieuses sur les performances des méthodes dont disposent différents analystes de différents laboratoires sont obtenues par le biais de ces études. Cependant, relativement peu de méthodes d'analyse actuellement utilisées par les programmes de contrôle des résidus ont été validées par une étude multilaboratoires. Les études en collaboration de méthodes se fondent sur les analyses de répliques codées d'échantillons qui recouvrent les combinaisons de substances à analyser, matrices et concentrations faisant partie du champ d'application de la méthode et doivent être revues de manière indépendante par un scientifique de même rang, tant en ce qui concerne la conception de l'étude que les résultats. Dans certains cas, on peut mener des études multilaboratoires sans atteindre le nombre minimum de laboratoires requis pour qu'il s'agisse d'une étude en collaboration. De telles études, si elles sont menées en utilisant les mêmes principes scientifiques de conception, d'évaluation et d'examen que ceux qui sont appliqués dans les études en collaboration, peuvent fournir des renseignements utiles sur la performance des méthodes employées par un grand nombre d'analystes dans différents laboratoires, mais n'ont pas le même degré de confiance statistique que celui d'une étude en collaboration de méthodes.

Les études multi laboratoires 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. Les résultats d'analyse fournis par les études faisant ainsi appel à une extension de la méthode pourront requérir un réexamen avant d'être utilisés dans un programme réglementaire. Chaque fois que possible, les résultats d'analyse obtenus en utilisant des méthodes qui n'ont pas été validées au moyen d'une étude interlaboratoires traditionnelle doivent être comparés avec les résultats obtenus en utilisant une méthode qui a été validée au moyen d'une étude multilaboratoires ou testée avec des échantillons provenant d'un programme reconnu comme efficace. La comparaison doit se baser sur un dispositif d'études statistiquement acceptable faisant appel à des portions des mêmes échantillons (homogènes). Les données obtenues au moyen de ces études devraient être revues de manière indépendante par un tiers qualifié

(comme une unité de AQ, un groupe de scientifiques de même rang, des auditeurs d'un organisme d'accréditation national) afin de déterminer la comparabilité des performances des différentes méthodes.

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 été utilisées dans un ou plusieurs laboratoires experts, mais n'ont pas fait l'objet d'une étude officielle multilaboratoires. 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.

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

15.4 Validation pour un laboratoire unique – Approche par critères

Un document d'orientation sur la validation des méthodes par un laboratoire unique, « Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique », a été publié comme un rapport technique par l'Union internationale de chimie pure et appliquée⁶(UICPA). Le Manuel de procédure⁷ reconnaît que des méthodes interlaboratoires validées ne sont pas toujours disponibles ou applicables, en particulier dans le cas de méthodes multi-substances/multi-substrats et de nouvelles substances à analyser. Dans ces cas, les méthodes peuvent être validées par un laboratoire unique de manière à répondre aux Critères généraux de sélection des méthodes d'analyse, ainsi qu'aux critères supplémentaires suivants :

- (a) la méthode est validée conformément à un protocole reconnu au plan international (par exemple, le protocole UICPA « Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique » mentionné ci-dessus);
- (b) l'utilisation de la méthode est intégrée dans un système de gestion de la qualité en conformité avec les normes du document ISO/CEI 17025 (2005) ou avec les Principes de bonnes pratiques de laboratoire;
- (c) la méthode devrait être complétée par des renseignements attestant son exactitude, par exemple :
 - participation systématique à des essais d'aptitude, le cas échéant;
 - étalonnage en utilisant des matériaux de référence certifiés, le cas échéant;
 - études de récupération effectuées à la concentration attendue des substances analysées;
 - vérification du résultat selon une autre méthode validée, si disponible.

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

⁶ M. Thompson, S.L.R. Ellison et R. Wood (2002) Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un laboratoire unique. *Pure and Applied Chemistry*, 74 : 835-855.

⁷ FAO/OMS Manuel de procédure de la Commission du Codex Alimentarius.

Caractéristiques des méthodes d'analyse pour la recherche des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments

16. INTRODUCTION

Les caractéristiques de performance des méthodes d'analyse destinées à vérifier la conformité aux LMRMV doivent être définies, les méthodes proposées étant évaluées en conséquence. Cela garantira des résultats d'analyse fiables et fournira une base solide pour la détermination des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires faisant l'objet d'un commerce international. Le chapitre ci-dessus relatif aux *Considérations générales sur les méthodes d'analyse en vue du contrôle des résidus*, envisage les principaux types ou catégories de méthodes réglementaires et propose un schéma d'utilisation de ces méthodes d'analyse en fonction de l'objectif qui leur est assigné dans un cadre réglementaire. Dans la discussion qui suivra, les caractéristiques communes aux trois catégories de méthodes (désignées sous les noms de méthodes de confirmation, quantitatives et de dépistage) visant à définir la conformité avec les LMRMV du Codex seront présentées. Des caractéristiques supplémentaires qui ne s'appliquent qu'à une ou deux catégories de méthodes seulement seront également débattues.

17. CONSIDÉRATIONS RELATIVES À LA MISE AU POINT DES MÉTHODES

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

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

18. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MÉTHODES D'ANALYSE

18.1 Caractéristiques de performance des méthodes de dépistage

Les méthodes de dépistage sont généralement de nature qualitative ou semi-quantitative, et ont pour objectif de faire la distinction entre des échantillons ne contenant pas de résidus en quantité dépassant un seuil donné (échantillons « négatifs ») et des échantillons qui peuvent contenir des résidus dépassant ce seuil (échantillons « positifs »). Dès lors, la stratégie de validation consiste à établir un seuil de concentration au-

delà duquel les résultats sont « positifs », à déterminer statistiquement un taux pour les résultats « faux positifs » et « faux négatifs », à rechercher les interférences et à fixer des conditions d'utilisation appropriées.

Pour une analyse de dépistage, en particulier pour celles qui font usage de kits de dépistage, le terme « sensibilité » se réfère en général à la plus petite concentration à laquelle la substance à analyser recherchée peut être détectée avec certitude, dans des limites statistiques déterminées. Dans le *Performance Tested Program*TM de l'AOAC pour les kits de dépistage, elle est déterminée expérimentalement par le dépistage d'un minimum de 30 matériaux d'échantillons exempts de résidus fortifiés par la substance à analyser à la concentration recherchée. Les matériaux d'échantillons devraient provenir de six sources différentes au moins (autrement dit, cinq 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.

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

La limite de détection d'une substance particulière est établie en menant des expériences de réaction à la concentration, généralement en utilisant 30 réplicats (provenant d'au moins six sources) fortifiés successivement à chacune des concentrations d'une série. Une fois qu'on a déterminé à quelle concentration les 30 réplicats donnent un résultat négatif et à quelle concentration les 30 réplicats donnent un résultat positif, l'expérience est répétée sur les matériaux d'échantillon à blanc fortifiés à quatre concentrations également réparties entre la concentration « tous négatifs » et la concentration « tous positifs ». Un jeu supplémentaire d'échantillons est testé à une concentration de 20 pour cent supérieure à la concentration « tous positifs ». L'analyse statistique des résultats permet d'établir une concentration de détection avec la certitude requise (en général 95 pour cent)⁸.

18.2 Caractéristiques de performance des méthodes quantitatives

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

⁸ D.J. Finney (1978) *Statistical Method in Biological Assay*, 3^e édition, MacMillan Publishing Co., New York

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

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

Il est recommandé que les méthodes utilisées dans le cadre des LMRMV établies par la Commission du Codex Alimentarius soient conformes, en ce qui concerne la justesse et la précision, aux normes de performance figurant dans le tableau 1 ci-après, dans CV_A exprime le coefficient de variation déterminé par les portions d'échantillons à blanc fortifiés avant extraction et CV_L la variabilité du laboratoire, qui comprend une estimation de 10 pour cent de variabilité dans le traitement des échantillons⁹.

Tableau 1. Critères de performance que devraient observer les méthodes utilisées comme méthodes d'analyse quantitatives pour mesurer les LMRMV de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments¹⁰

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

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

La *récupération* s'exprime sous forme de pourcentage de la substance à analyser déterminé par des expériences après fortification du matériau d'échantillons à une concentration connue et devrait être évaluée à des concentrations qui couvrent la fourchette d'analyse de la méthode. Lorsqu'on interprète les pourcentages de récupération, il faut bien savoir que la substance à analyser ajoutée intentionnellement à un échantillon ne se comportera pas nécessairement de la même manière que cette même substance absorbée par la voie biologique (résidu de médicament vétérinaire). Dans de nombreux cas, la quantité d'un résidu absorbé qui est extraite (le produit ou la fraction récupérée) est inférieure au total des résidus absorbés présents, du fait de pertes pendant l'extraction, de la liaison intracellulaire des résidus, de la présence de conjugués ou d'autres facteurs qui ne sont pas entièrement représentés par des expériences de récupération réalisées avec des blancs fortifiés de substance à analyser. Aux concentrations relativement élevées, le pourcentage de récupération analytique devrait approcher 100 pour cent. Aux concentrations

⁹ Fajgelj A., Ambrus A., eds. (2000) Principles of Method Validation, Royal Society of Chemistry, Cambridge UK.

¹⁰ CAC/GL 37-2001 *Harmonized IUPAC Guidelines for the use of Recovery Information in Analytical Measurement*; see also Thompson, M., Ellison, S., Fajgelj, A., Willetts, P., & Wood, R. (1999) Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement, *Pure Applied Chemistry*, **71**: 337-348.

plus faibles et, en particulier, lorsqu'il s'agit de méthodes faisant appel à plusieurs étapes parmi lesquelles l'extraction, l'isolation, la purification et la concentration, les pourcentages de récupération peuvent être plus faibles. Quels que soient les pourcentages de récupération moyens observés, il est souhaitable que la récupération présente une faible variabilité de manière à ce qu'on puisse faire une correction fiable, si nécessaire. Les corrections de récupération devraient être conformes aux orientations de la Commission du Codex Alimentarius¹⁰.

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

La variabilité de la méthode observée dans un laboratoire consacré au développement d'une méthode est généralement moindre que la variabilité constatée dans un autre laboratoire qui pourrait l'utiliser à son tour. Si une méthode donnée ne fournit pas un niveau acceptable de performance dans le laboratoire où elle a été développée, il y a peu de chances qu'elle fasse mieux dans d'autres laboratoires.

Les méthodes quantitatives se fondent généralement sur la comparaison entre la réponse d'une substance à analyser et la réponse d'étalons de la substance à analyser dans des solutions à des concentrations connues. Lors de l'élaboration et de la validation de la méthode, la courbe d'étalonnage devrait être déterminée pour évaluer la réponse du détecteur aux étalons. Les concentrations (un minimum de cinq, plus les blancs) devraient couvrir l'ensemble de la fourchette recherchée d'analyse et la courbe résultante devrait être exprimée statistiquement. Bien qu'il soit recommandé dans la pratique d'inclure un échantillon à blanc dans les étalons d'analyse, ceci n'implique pas pour autant qu'on puisse extrapoler les résultats à la région située en-dessous de la courbe sous l'étalon le plus bas pour obtenir un résultat quantitatif. La fonction d'analyse se rapporte à la réponse pour la substance à analyser récupérée à partir du matériau d'échantillons à différentes concentrations dans la fourchette recherchée d'analyse. Pour les substances à analyser pour lesquelles une LMRMV a été établie dans un matériau d'échantillons particulier (matrice), la réponse est en général déterminée pour un matériau d'échantillons à blanc ou pour des matériaux d'échantillons à blanc fortifiés à des intervalles de concentration inférieurs et supérieurs à chaque LMRMV (il est recommandé d'utiliser six 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. La *linéarité* est déterminée à partir des expériences de fonction d'analyse décrites et elle est l'expression statistique de la courbe obtenue pour l'analyse de matériaux d'échantillons fortifiés à des concentrations recherchées couvrant la limite maximale de résidus. Elle est en générale déterminée à partir d'une analyse de régression linéaire des données, en supposant qu'il y a une réponse linéaire. Il est de plus en plus fréquent dans les méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments de baser la détermination quantitative sur une courbe-type préparée en plus d'un étalon pour connaître le matériau de matrice à blanc représentatif à un éventail de concentrations appropriées couvrant la valeur recherchée. L'utilisation d'une telle « courbe-type de tissus » pour l'étalonnage intègre une correction de la récupération aux résultats d'analyse obtenus.

Il faut également fixer les limites inférieures de substances à analyser dont on pourra déceler la présence avec certitude par détection, quantification ou confirmation en utilisant une méthode particulière d'analyse. La *limite de détection* peut se définir en pratique comme la plus petite quantité ou concentration mesurée de substance à analyser qui permet de déduire la présence de la substance dans la prise d'essai. On peut la calculer à partir de l'écart-type ($s_{y/x}$) à partir de l'analyse de régression linéaire de la courbe-type générée par la fonction d'analyse expérimentée ci-dessus¹¹. La limite de détection est alors calculée en utilisant le point d'interception y (en supposant qu'il s'agit d'une valeur positive) de la courbe et trois fois $s_{y/x}$. Cette approche donne une estimation plus traditionnelle de la limite de détection. La limite de détection peut également être estimée à l'aide de mesures prises sur des substances d'essai représentatives de la réaction la moins appropriée de l'analyte du blanc ajouté au triple de son écart-type. Lorsque l'on a recours à cette approche, il s'avère souvent nécessaire de fortifier les substances d'essai à une concentration entraînant une réaction quasiment indétectable afin d'obtenir un écart-type du blanc approximatif.

¹¹ J.C. Miller et J.N. Miller. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*, 3^e édition, Ellis Horwood Ltd., Chichester.

La *limite de quantification* (LQ) peut être établie à partir des mêmes expériences en utilisant le point d'interception y de la courbe plus dix fois $s_{y/x}$. Pour les méthodes utilisées pour étayer des LMRMV établies par la Commission du Codex Alimentarius, la limite de quantification devrait répondre aux critères de fidélité et de justesse (récupération) du tableau 1 et devrait être égale ou inférieure à 0,5 fois la LMRMV. Cependant, quand la limite de quantification d'une méthode est plus basse que les concentrations réelles vérifiées pour la conformité à une LMRMV, la validation et l'application ultérieure de la méthode peuvent se baser sur *le plus petit niveau étalonné* (*lowest calibrated level – LCL*), qui est en général égal à 0,5 fois la LMRMV. Pour un programme réglementaire, les limites de détection et de quantification sont des paramètres importants si la méthode est destinée à évaluer des expositions à des résidus, lorsqu'il peut être intéressant de contrôler les résidus à des concentrations inférieures à la LMRMV, ou si elle est destinée à rechercher des substances qui n'ont pas de DJA ni de LMRMV. Pour vérifier la conformité à une LMRMV, il est important d'inclure un plus petit niveau étalonné à l'analyse qui démontre de manière adéquate que la concentration de la LMR doit être déterminée avec certitude. Le plus petit niveau étalonné d'une méthode utilisée pour étayer une LMRMV ne devrait pas être inférieur à la limite de quantification. Le Manuel de procédure recommande le terme « limite de détermination » dans les « Termes à utiliser dans l'approche de critères »⁷.

18.3 Caractéristiques de performance des méthodes de confirmation

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

En général, quatre points d'identification au moins sont nécessaires pour répondre aux critères de performance acceptés pour les méthodes réglementaires. Les méthodes se basant sur la spectrométrie de masse à haute résolution sont considérées comme d'une plus grande fiabilité car elles mesurent la masse de manière plus précise que les techniques de spectrométrie de masse à faible résolution. Les prescriptions de performance des méthodes de confirmation se basent sur la CG/SM et la CL/SM à faible résolution, publiées récemment par un organisme international d'experts¹², sont données au tableau 2.

Tableau 2 : Prescriptions de performance d'intensités ioniques relatives (l'échantillon par rapport à l'étalon) de différentes techniques d'analyse par spectrométrie de masse⁹.

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

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

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

¹² R. Bethem, J.O. Boison, J. Gale, D. Heller, S. Lehotay, J. Loo, S. Musser, P. Price et S. Stein. (2003) Establishing the Fitness for Purpose of Mass Spectrometric methods. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 14 : 528-541.

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

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

Ces procédures doivent pouvoir s'appliquer à la limite maximale de résidus (LMRMV) retenue pour la substance à doser. Lorsqu'une méthode de confirmation telle que la spectrométrie de masse n'est pas disponible, les informations sur la sélectivité liée à l'analyse d'un résidu de médicament vétérinaire particulier dans un échantillon peuvent être développées à partir de plusieurs sources¹³. Ces informations peuvent être récupérées dans un document journal structuré contenant toutes les informations conduisant à la conclusion qu'une méthode a détecté un composé particulier dans un échantillon, au taux de concentration rapporté. Si aucune analyse séparée ne peut fournir la preuve irréfutable de l'identité du composé et/ou de la quantité présente souhaitée, les informations combinées qui ont été compilées prouvent que l'analyste s'est consciencieusement efforcé d'arriver à un résultat logique conforme aux données et autres informations disponibles. Le tableau 3 résume des exemples de techniques d'analyse qui peuvent convenir pour répondre aux critères de méthodes d'analyse de confirmation.

Tableau 3. Exemples de méthodes de détection appropriées pour l'analyse de confirmation de substances, recommandées par la Consultation de Miskolc⁹

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

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

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

18.4. Caractéristiques générales de performance des méthodes destinées à un programme de contrôle réglementaire

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

L'analyse de la *robustesse* doit être réalisée en utilisant une approche normale de plan factoriel afin de déterminer tout point de contrôle critique¹⁴. Les facteurs typiques à inclure dans un plan englobent les variations des volumes ou concentrations de réactifs, du pH, de la durée et de la température d'incubation ou de réaction, de la qualité des réactifs et des différents lots ou sources d'un réactif ou d'équipement de chromatographie. L'analyse de la robustesse d'une méthode de confirmation peut être nécessaire si la

¹³ R W. Stephany (2003). *SPECLOG – The Specificity Log*. CRD-9, Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, 14^{ème} session, Arlington, Virginie, États-Unis, 4-7 mars.

¹⁴ W.J. Youden & E.H. Steiner (1975) *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*, AOAC International, Gaithersburg, Virginie, États-Unis.

méthode diffère fortement de la méthode quantitative validée auparavant (si la méthode utilise différentes procédures d'extraction ou de dérivation que celles qu'utilise la méthode quantitative).

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

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

19. CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU DÉVELOPPEMENT ET À LA VALIDATION DE MÉTHODES DE CONTRÔLE DES RÉSIDUS

19.1. Choix du matériel d'essai approprié pour la validation

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

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

Dans certains cas, les échantillons de substances connues dépourvues de résidus de médicaments ne sont parfois pas disponibles pour utilisation dans les laboratoires de contrôle des résidus. Dans ces cas spécifiques, il est possible d'utiliser un échantillon d'une substance équivalente. Les échantillons de matrice d'essai de source inconnue, ou d'une matrice différente de source connue dépourvue de médicaments se rapprochant de l'échantillon de matrice. Dans tous les cas, le laboratoire de contrôle des résidus doit prouver que l'échantillon de substance équivalente n'est pas affecté par les interférences du médicament et présente une récupération satisfaisante des échantillons fortifiés. En outre, lorsqu'une substance est utilisée à partir d'une source inconnue pour les méthodes quantitatives ou de dépistage, il est recommandé d'avoir recours à une deuxième méthode afin de démontrer que la matrice ne contient aucun résidu du médicament. Il est de la responsabilité du laboratoire de contrôle des résidus de démontrer sa capacité d'adaptation à l'utilisation de l'échantillon de substance équivalente.

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

19.2. Incertitude de la mesure

Les laboratoires devraient fournir à leurs clients des informations sur l'incertitude de la mesure ou le niveau de certitude lié aux résultats quantitatifs produits par chaque méthode quantitative. Des directives sur l'évaluation de l'incertitude de la mesure sont en cours d'élaboration par l'UICPA et ont été publiées par d'autres organismes scientifiques indépendants¹⁵.

19.3. Utilisation d'étalons internes

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.

19.4. Considérations environnementales

Il faudrait tenir compte du fait que des méthodes de contrôle des résidus pourront être mises en œuvre dans des milieux physiques extrêmement variables lors du développement et de la validation de ces méthodes. Au demeurant, le travail d'adaptation que cela entraînera pourra contribuer à améliorer la robustesse de la méthode. En climat chaud, on pourra être amené à prévoir des réactifs plus stables à la chaleur, tandis que les solvants mis en œuvre au cours de l'analyse devront être moins volatiles 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.

19.5. Choix du modèle de validation

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, sauf si elles sont étayées par des données d'un programme de contrôle de la qualité en cours, compare à une méthode adéquate validée dans un essai interlaboratoire ou à d'autres formes de comparaison de résultats entre laboratoires. Dans l'idéal, une méthode devrait être validée par au moins trois laboratoires. Les méthodes de validation 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.

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. Un minimum de trois séries de données distinctes

¹⁵ EURACHEM/CITAC Guide to Quantifying Measurement Uncertainty in Analytical Measurement, <http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/index.html> (accès vérifié le 18 septembre 2007).

doivent être produites sur trois périodes d'analyse, à trois différentes reprises (espacées d'au moins une journée), 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. Les analyses répétées deux fois, tel qu'exigé dans le protocole d'étude⁷ de collaboration dans huit laboratoires seulement sur une ou deux espèces animales et un ou deux tissus, ne rendent compte que d'évaluations limitées, en terme de qualité, de la répétabilité et de la reproductibilité globales. 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.

19.6 Systèmes de gestion de la qualité

Le système de gestion de la qualité est une composante essentielle de l'analyse des résidus.. Il permet à la fois de suivre les facteurs qui sont liés à l'analyse d'un échantillon par un même expérimentateur et permet à des observateurs indépendants de s'assurer que le programme d'analyse fonctionne de façon acceptable. Le recours à un système de gestion de la qualité est particulièrement précieux : en effet, il servira 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.

STRATÉGIES D'ÉCHANTILLONNAGE

A1. ÉCHANTILLONNAGE SANS ERREUR SYSTÉMIQUE

A1.1. Objectif

L'échantillonnage sans erreur systématique est conçu pour fournir des informations, en particulier concernant le niveau d'application ou de performance d'un contrôle ou d'un système de contrôle d'une population d'animaux/aliments spécifiée sur une période déterminée.

A1.2. Considérations statistiques sur la taille des populations d'échantillonnage

Le nombre d'échantillons pour les protocoles d'échantillonnage sans erreur systématique devrait se baser de façon statistique et peut être influencé par la taille de la population (lorsqu'elle est inférieure à 5000), par la prévalence des infractions jugée importante, par le niveau de certitude quant aux résultats ainsi que par des considérations économiques.

Le nombre d'échantillons basé sur la distribution binomiale sera toujours égal ou supérieur au nombre d'échantillons nécessaires basé sur la distribution hypergéométrique¹⁶.

Si la taille de la population est petite, l'effet de l'échantillonnage sans remplacement ne devrait pas être ignoré et la distribution de l'échantillonnage devrait se baser sur la distribution hypergéométrique.

Dans des populations de plus de 5000 unités, l'effet de l'échantillonnage sans remplacement est négligeable. Ainsi, la distribution binomiale peut être utilisée pour déterminer un nombre approprié d'échantillons.

Le nombre d'échantillons pour une certitude définie sera bien plus constant pour les populations supérieures à 5000 unités.

A1.3. Rapport de certitude de l'échantillonnage

En cas de détection de résultats non conformes, il est possible de déduire une estimation brute de la prévalence probable au sein de la population générale.

Toutefois, si aucun résultat non conforme n'est découvert, il faut faire une déclaration quant à la prévalence comme un niveau de certitude que la prévalence de résultats non conformes ne dépasse pas un pourcentage donné.

Le nombre d'échantillons nécessaires pour donner un niveau nécessaire d'assurance statistique peut être déduit du tableau 4. Il est également possible d'utiliser d'autres protocoles statistiques basés sur des données scientifiques.

Tableau 4 : Nombre d'échantillons requis pour détecter au moins un résultat non conforme avec des probabilités prédéfinies (90, 95 et 99 %) dans une population ayant un taux de prévalence des infractions connu.

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

La probabilité de ne pas détecter un taux de prévalence donné de résultats non conformes associés à un mécanisme de ciblage spécifié peut être déduite du tableau 5 ci-dessous. Étant donné la faible efficacité des protocoles d'échantillonnage pour détecter de faibles prévalences des infractions, d'autres mécanismes d'assurance sont plus importants lorsqu'une faible prévalence des infractions est attendue.

¹⁶ Dans la théorie des probabilités et les statistiques, la *distribution hypergéométrique* est une distribution des probabilités discrètes (composée de différentes parties non reliées entre elles) qui décrit le nombre de réussites dans une séquence de tirages n dans une population finie, sans remplacement.

Tableau 5 : Probabilité de ne pas détecter une infraction

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

A2. ÉCHANTILLONNAGE CIBLE

A2.1. Objectif

Les protocoles ciblés sont conçus pour intensifier les inspections/vérifications au niveau des fournisseurs ou des produits considérés comme présentant un plus grand risque d'être non conformes que la population générale.

Comme on ne prélève d'échantillons que dans une sous-population considérée comme présentant un plus grand risque d'infraction (échantillonnage avec erreur systémique), on ne peut pas extrapoler des résultats non conformes et en tirer des conclusions relatives à l'ensemble de la population.

Toutefois, si des résultats conformes confirment des résultats de programmes sans erreur systémique, ils apportent une plus grande assurance que le système fonctionne convenablement.

ÉCHANTILLONNAGE DE DENRÉES

B1. CHAMP D'APPLICATION

Cette annexe s'applique aux denrées suivantes : denrées alimentaires primaires d'origine animale et produits d'origine animale transformés obtenus à partir des produits alimentaires primaires apparaissant dans les tableaux A, B et C de cette annexe, et miel provenant des origines et/ou modes de traitement suivants :

- (a) miel de fleurs ou de nectar provenant principalement des nectars de fleurs;
- (b) miel de miellat provenant principalement des sécrétions des parties vivantes des plantes ou se trouvant sur celles-ci;
- (c) miel en rayons entreposé par les abeilles dans les alvéoles de rayons sans couvain récemment construits et vendu en rayons entiers ou sections de rayon sous emballage hermétique;
- (d) miel centrifugé obtenu par centrifugation d'alvéoles sans couvain et décalottés;
- (e) miel pressé obtenu par pression des alvéoles sans couvain avec ou sans application d'un procédé thermique modéré.

B2. DÉFINITIONS

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

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

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

Échantillon en vrac : Total combiné de l'ensemble des échantillons primaires prélevés sur le même lot.

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

Portion d'échantillon définitif de laboratoire : Portion représentative de l'échantillon définitif de laboratoire destinée à l'analyse de laboratoire. L'échantillon de laboratoire peut être utilisé entier pour l'analyse mais sera généralement subdivisé en portions représentatives pour l'analyse. Il est préparé en combinant et en mélangeant soigneusement les échantillons primaires. Il est préparé en combinant et en mélangeant soigneusement les échantillons primaires.

Lot de miel : Quantité distincte de miel livrée en une seule fois pour la distribution et ayant été déterminée comme possédant des caractéristiques communes, telles que l'origine, la variété, le type d'emballage, l'emballer ou l'expéditeur, ou les marques, par le responsable de l'échantillonnage.

Expédition de miel : Quantité distincte de miel décrite sur le document de bord d'un entrepreneur de transport. Une expédition peut être composée de plusieurs lots.

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

B3. PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE

Les échantillons doivent être prélevés par des fonctionnaires ceux qui ont été officiellement agréés pour ce faire.

Chaque lot à examiner doit être échantillonné séparément.

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

Des directives sur le type et la quantité d'échantillons pour différents produits sont fournies au tableau A : Produits carnés (y compris la chair de volaille), au tableau B : Lait, œufs, produits laitiers et au tableau C : Produits de l'aquaculture . On trouvera ci-dessous des instructions générales :

- (a) chaque échantillon primaire devrait être prélevé sur un seul animal (ou groupe d'animaux) ou sur une seule unité du lot, si possible de manière aléatoire;
- (b) lorsque plusieurs animaux sont nécessaires pour constituer un échantillon d'une taille suffisante pour former l'échantillon primaire (foie de volaille, par exemple), les échantillons devront être prélevés consécutivement après sélection aléatoire du point de départ;
- (c) un produit congelé ne devrait pas être décongelé avant échantillonnage;
- (d) un produit en conserve ou emballé ne devrait être ouvert pour procéder à l'échantillonnage que si la taille de l'unité représente au moins le double de la quantité requise pour constituer l'échantillon définitif de laboratoire. L'échantillon définitif de laboratoire devrait contenir une portion représentative des liquides dans lesquels se trouve le produit;
- (e) un produit en conserve ou emballé constituant un échantillon définitif de laboratoire devrait être envoyé pour analyse au laboratoire non ouvert et intact;
- (f) le contenu des boîtes de conserve ou emballages ouverts par l'inspecteur assermenté devrait ensuite être congelé conformément aux instructions du paragraphe 170d avant d'être envoyé au laboratoire pour analyse;
- (g) les unités importantes de produit qui contiennent des os, (quartiers de viande, par exemple) devraient être échantillonnées en ne recueillant, pour constituer l'échantillon primaire, que des parties comestibles du produit;
- (h) lorsque les portions d'une unité donnée sont inférieures à la quantité requise pour constituer un échantillon primaire, d'autres échantillons doivent être prélevés afin de respecter les exigences concernant la masse de l'échantillon;
- (i) les portions restantes de l'échantillon définitif de laboratoire devraient être congelées et entreposées dans des conditions préservant l'intégrité de l'échantillon.

Le nombre d'échantillons primaires prélevés dépendra du fait qu'un lot soit ou non considéré suspect.

Un lot est considéré suspect s'il y a :

- (a) des antécédents d'infractions aux LMRMV;
- (b) lieu de soupçonner une contamination en cours de transport;
- (c) des manifestations de toxicose qui ont été observées lors de l'inspection ante-mortem ou post-mortem; ou
- (d) d'autres informations pertinentes qui sont venues à la connaissance du fonctionnaire assermenté chargé de l'inspection.

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

Les importations en provenance de pays qui n'ont pas de programmes de vérification de la conformité aux LMRMV devraient être échantillonnées comme lots suspects.

B4. INSTRUCTIONS SPÉCIFIQUES DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS POUR LE MIEL

- (a) Recueillir 250 ml de miel liquide ou filtré selon les préparations suivantes, selon le cas :
- (b) Miel liquide en rayons : Si le rayon est scellé, pratiquer une incision à travers la partie supérieure du rayon et séparer complètement le miel du rayon en le filtrant au moyen d'un tamis dont les ouvertures sont formées de carrés de 0,500 mm sur 0,500 mm de côté (ISO 565-1990)¹⁷.
- (c) En cas de présence de corps étrangers, tels que cire, brindilles, abeilles, particules de rayon, chauffer l'échantillon à 40°C dans un bain-marie et le filtrer au travers d'une étamine placée dans un entonnoir avant de prélever l'échantillon.

¹⁷ Ce tamis pourrait être remplacé par un tamis de fabrication américaine répondant à la norme de filtre N°40 (taille d'ouverture de 0,420 mm).

Si l'échantillon est exempt de grumeaux, bien le mélanger en le remuant au moyen d'une spatule ou en l'agitant; s'il présente des grumeaux, placer le récipient fermé dans un bain-marie, sans l'immerger complètement, et chauffer pendant 30 minutes à 60°C; si nécessaire, porter la température à 65°C jusqu'à la liquéfaction. Il est important de continuer à agiter de temps en temps. Mélanger soigneusement et refroidir rapidement dès que l'échantillon est liquide.

B.5. CONSIDÉRATIONS STATISTIQUES

Pour des lots non suspects, un programme d'échantillonnage sans erreur systémique est recommandé. Tout type d'échantillonnage tel que ceux qui suivent peut être utilisé.

B5.1. Échantillonnage aléatoire stratifié

Lorsque les expéditions sont mélangées, des critères aléatoires simples ne peuvent être appliqués, un et un échantillonnage aléatoire stratifié devrait être envisagé.

Dans l'échantillonnage aléatoire stratifié, l'expédition est divisée en groupes ne se recoupant pas, appelés strates, par exemple origine géographique, sexe, temps. Un échantillon est prélevé dans chaque strate.

L'homogénéité à l'intérieur de chaque strate est plus grande que dans la population tout entière. Les pays ou les régions géographiques sont autant de strates naturelles étant donné l'uniformité des usages agricoles.

Des strates temporelles (mois, trimestre, etc.) sont communément utilisées pour des raisons de commodité, d'efficacité, ou pour déceler des variations saisonnières. Des tables de nombres aléatoires¹⁸ ou autres techniques objectives devront être utilisées pour s'assurer que tous les individus d'une population ont une chance égale et indépendante de figurer dans l'échantillon.

B5.2. Échantillonnage systématique

Dans l'échantillonnage systématique, des échantillons sont sélectionnés dans une population à un intervalle régulier (par exemple toutes les heures, un lot sur deux, etc.).

Il peut être appliqué quand on dispose d'informations fiables sur les volumes de produit pour déterminer l'intervalle d'échantillonnage qui fournira le nombre voulu d'échantillons au bout d'un certain temps. Toutefois,

- (a) si le système d'échantillonnage est trop prévisible, on peut en abuser;
- (b) les expéditions doivent être homogènes, car les unités d'échantillonnage systématique sont uniformément distribuées dans la population.

B5.3. Échantillonnage biaisé ou du pire cas estimé

Dans le cas de l'échantillonnage biaisé ou du pire cas estimé, l'inspecteur devra faire appel à son propre jugement et à son expérience en ce qui concerne la population, le lot ou le cadre d'échantillonnage pour décider quels échantillons primaires sélectionner.

Le groupe de population dont on peut prévoir qu'il sera exposé au plus grand risque peut être identifié, mais aucune induction concernant la population échantillonnée n'est permise à partir des données recueillies (échantillons non aléatoires).

B6. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS DÉFINITIFS DE LABORATOIRE

L'échantillon définitif de laboratoire est envoyé pour analyse.

Certaines législations nationales/régionales exigent que l'échantillon définitif (de laboratoire) soit subdivisé en deux portions ou plus aux fins d'analyses séparées. Chaque portion devrait être représentative de l'échantillon définitif. Les précautions décrites dans les *procédures d'échantillonnage* devraient être observées.

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

B7. ENVOI DES ÉCHANTILLONS DÉFINITIFS DE LABORATOIRE

Les échantillons définitifs de laboratoire devraient être préparés comme suit :

¹⁸ Les tables de nombres aléatoires se composent de séries de chiffres (0-9) générées de manière aléatoire. Pour améliorer la lisibilité, des espaces sont insérés, par exemple après 4 chiffres et après 10 rangées de chiffres. La lecture peut commencer n'importe où (de manière aléatoire) mais, une fois commencée, elle doit se poursuivre le long de la ligne ou de la colonne, PAS sauter d'une à l'autre. Exemple : extrait d'une table de nombres aléatoires d'échantillonnage : 3680 2231 8846 5418 0498 5245 7071 2597.

- (a) chaque échantillon devrait être placé dans un récipient propre, thermo-isolant et chimiquement inerte pour le protéger de toute contamination et éviter qu'il ne dégèle ou ne soit endommagé en cours d'expédition;
- (b) le récipient devrait être scellé de façon à pouvoir déceler toute effraction;
- (c) le récipient devrait être transmis au laboratoire le plus rapidement possible, une fois prises les précautions qui s'imposent pour prévenir toute fuite ou avarie;
- (d) tous les échantillons périssables à expédier devraient être congelés à -20°C immédiatement après leur prélèvement et conditionnés dans un récipient approprié retardant la décongélation. Pendant le transport, on devrait utiliser des plaques réfrigérantes, ou tout autre moyen réfrigérant, pour maintenir la température de congélation. Les échantillons et les plaques réfrigérantes devraient être congelés à -20° avant d'être expédiés;
- (e) certaines législations nationales/régionales ou réglementations administratives requièrent que l'on conserve des répliques des portions d'échantillons définitifs (de laboratoire). Dans ce cas, l'échantillon doit être conservé dans un récipient propre, chimiquement inerte pour le protéger de toute contamination, scellé de manière à pouvoir déceler toute effraction et entreposé dans des conditions telles que le produit ou les résidus qu'il pourrait contenir ne puissent s'être modifiés au moment où il faudrait faire une analyse ultérieure à des fins de comparaison avec des résultats d'analyse d'un échantillon soumis au laboratoire.

B8. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DANS LE LABORATOIRE

Aux fins du contrôle, la limite maximale de résidus (LMRMV) s'applique à la concentration de résidus constatée dans chaque échantillon de laboratoire prélevé sur un lot.

Le lot est réputé conforme à la LMRMV du Codex lorsque le résultat moyen de l'analyse des portions d'échantillon n'indique pas de teneur en résidu supérieure à la LMRMV.

B9. DOCUMENTATION D'ÉCHANTILLONNAGE

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

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

DIRECTIVES SUR LE TYPE ET LA QUANTITÉ D'ÉCHANTILLON POUR DIFFÉRENTS PRODUITS

Tableau A : Produits carnés (y compris la chair de volaille)

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
I. Groupe 030 (Viandes de mammifères)		
A. Carcasse entière ou demi- carcasse; poids unitaire normalement 10 kg ou plus	Prélever sur un seul animal le muscle du diaphragme en complétant si nécessaire par le muscle cervical.	500 g
B. Petite carcasse (par exemple lapin)		500 g après avoir retiré la peau et les os
C. Parties fraîches/réfrigérées		
1. Poids unitaire minimal 500 g, sans les os (par exemple quartier, épaules, rôtis)	Prélever le muscle d'une unité.	500 g
2. Unité pesant moins de 500 g (par exemple côtelettes, filets)	Prélever dans le récipient sélectionné le nombre d'unités nécessaire pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g désossé
D. Parties congelées en vrac	Prélever une découpe sur une pièce congelée dans le récipient sélectionné, ou bien un muscle sur une grosse pièce.	500 g
E. Parties congelées/réfrigérées, ou unités emballées individuellement pour la vente en gros	Pour les grosses pièces, prélever un muscle sur une unité ou échantillonner sur un certain nombre d'unités pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g désossé
Ia. Groupe 030 (Viandes de mammifères où la LMR se détermine dans la graisse de la carcasse)		
A. Animaux échantillonnés à l'abattage	Se reporter aux instructions en II. Groupe 031.	
B. Autres parties carnées	Prélever 500 g de graisse visible, ou une quantité suffisante de produit pour donner 50-100 g de graisse pour l'analyse. (Normalement, il faut 1,5-2 kg de produit pour les pièces sans graisse à parer).	Quantité suffisante pour donner 50-100 g de graisse
II. Groupe 031 (Graisse de mammifères)		
A. Grands animaux échantillonnés à l'abattage, pesant normalement au moins 10 kg	Prélever la graisse rénale, abdominale ou sous-cutanée d'un animal.	500 g
B. Petits animaux échantillonnés à l'abattage ^{a)}	Prélever la graisse abdominale et sous-cutanée d'un ou plusieurs animaux.	500 g
C. Tissus adipeux en vrac	Prélever des portions de taille égale en 3 points du récipient.	500 g
III. Groupe 032 (Abats comestibles de mammifères)		

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
A. Foie	Prélever un ou plusieurs foies entiers ou une portion suffisante pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	400 - 500 g
B. Rein	Prélever les deux reins ou un seul, ou les reins de plusieurs animaux, de manière à obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise. Ne pas prélever sur plus d'un animal si la taille satisfait aux limites inférieures de taille d'échantillon.	250 - 500 g
C. Cœur	Prélever un cœur entier ou une portion de ventricule suffisante pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	400 - 500 g
D. Autres abats comestibles frais/réfrigérés ou congelés	Prélever une portion provenant d'un seul animal sauf si le produit de plusieurs animaux est nécessaire pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise. Une découpe peut être prélevée sur le produit en vrac congelé.	500 g
IV. Groupe 036		
(Chairs de volaille)		
A. Carcasse entière de grosse volaille, pesant en moyenne 2 à 3 kg ou plus (par exemple dinde, poulet adulte, oie, canard)	Prélever la cuisse, le pilon et autres chairs semblables (sauf les blancs) sur une seule volaille.	500 g sans la peau et les os
B. Carcasse entière de volaille pesant en moyenne de 500 g à 2 kg (par exemple jeune poulet, caneton, pintadeau)	Prélever la cuisse, le pilon et autres chairs semblables (sauf les blancs) sur 3 à 6 volailles, selon la taille.	500 g sans la peau et les os
C. Carcasses entières de très petites volailles pesant moins de 500 g (par exemple caille, pigeon)	Prélever au moins 6 carcasses entières	250 à 500 g de tissu musculaire
D. Parties fraîches/réfrigérées ou congelées		
1. Conditionnées pour la vente en gros		
a. Grosses pièces	Prélever une unité intérieure dans un récipient sélectionné.	500 g sans la peau et les os
b. Petites pièces	Prélever des parties suffisantes dans une couche sélectionnée du récipient.	500 g sans la peau et les os
2. Conditionnées pour la vente au détail	Prélever un nombre suffisant d'unités dans un récipient sélectionné pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.	500 g sans la peau et les os

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
<p>IVa. Groupe 036 (Chairs de volaille où la LMRMV est exprimée en graisse de carcasse)</p> <p>A. Volailles échantillonnées à l'abattage</p> <p>B. Autres chairs de volaille</p>	<p>Se reporter aux instructions en V. Groupe 037</p> <p>Prélever 500 g de graisse ou une quantité suffisante de produit pour donner 50-100 g de graisse (il faut compter normalement 1,5-2 kg de produit.)</p>	<p>500 g de tissu adipeux ou assez de tissu pour donner 50-100 g de graisse</p>
<p>V. Groupe 037 (Graisses de volaille)</p> <p>A. Volailles échantillonnées à l'abattage</p> <p>B. Tissu adipeux en vrac</p>	<p>Prélever la graisse abdominale de 3 à 6 volailles, selon la taille.</p> <p>Prélever des portions de taille égale en 3 points du récipient.</p>	<p>Suffisante pour donner 50-100 g de graisse</p> <p>500 g</p>
<p>VI. Groupe 038 (Abats comestibles de volailles)</p> <p>A. Foie</p> <p>B. Autres abats comestibles frais/réfrigérés ou congelés</p>	<p>Prélever 6 foies entiers ou un nombre suffisant pour obtenir la taille d'échantillonnage de laboratoire requise.</p> <p>Prélever des parties appropriées sur 6 volailles. Si elles sont congelées en vrac, prendre une découpe dans le récipient.</p>	<p>250 - 500 g</p> <p>250 - 500 g</p>
<p>VII. Classe E - Type 16 (Produits carnés secondaires, y compris la chair de volaille)</p> <p>A. Produit émincé frais/réfrigéré ou congelé d'une seule espèce animale</p> <p>B. Groupe 080 (Produits carnés séchés)</p>	<p>Prélever une découpe représentative fraîche ou congelée à partir du récipient sélectionné ou de l'unité conditionnée.</p> <p>Prélever un nombre suffisant d'unités dans un récipient sélectionné pour obtenir la taille d'échantillon de laboratoire requise.</p>	<p>500 g</p> <p>500 g, sauf si la teneur en graisse est inférieure à 5% et si la LMRMV est exprimée sur la base du tissu adipeux. Il faut alors de 1,5 à 2 kg.</p>
<p>VIII. Classe E-Type 18 (Produit manufacturé d'origine animale ne comportant qu'un seul ingrédient)</p> <p>A. Produit en conserve (par exemple jambon, bœuf, poulet) d'une taille unitaire de 1 kg ou plus</p> <p>B. Produit séché, fumé ou cuit (par exemple lard fumé, jambon, dinde, bœuf cuit), d'une taille unitaire d'au moins 1 kg</p>	<p>Prélever une boîte sur le lot. Quand la taille unitaire est importante (supérieure à 2 kg), un échantillon représentatif comprenant du liquide de la boîte pourra être prélevé.</p> <p>Prélever une portion s'il s'agit d'une grosse pièce (plus de 2 kg), ou l'unité entière, selon la taille.</p>	<p>500 g, sauf si la teneur en graisse est inférieure à 5% et si la LMRMV est exprimée sur la base du tissu adipeux. Il faut alors de 1,5 à 2 kg.</p> <p>500 g, sauf si la teneur en graisse est inférieure à 5% et si la LMRMV est exprimée sur la base du tissu adipeux. Il faut alors de 1,5 à 2 kg.</p>

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
IX. Classe E - Type 19 (Produit manufacturé d'origine animale comportant plusieurs ingrédients) A. Chair à saucisse et galantines d'une taille unitaire d'au moins 1 kg	Prélever une découpe s'il s'agit d'une grosse pièce (plus de 2 kg), ou l'unité entière, selon la taille.	500 g
^{a)} Lorsque le tissu adipeux adhérent ne suffit pas à constituer un échantillon convenable, la denrée toute entière, sans les os, est analysée et la LMR s'applique à la denrée toute entière.		

Tableau B : Lait, œufs et produits laitiers

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
I. Groupe 033 (Laits) Lait entier liquide cru, pasteurisé, UHT et stérilisé	En vrac. Mélanger soigneusement et prélever aussitôt un échantillon à la louche. En récipients pour la vente au détail. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	500 ml
II. Groupe 082 (Produits laitiers secondaires) A. Lait écrémé - écrémé et demi-écrémé	Comme pour le lait entier liquide. Récipients contenant le produit en vrac (bidons, boîtes). Mélanger soigneusement le contenu et détacher les matières qui adhèrent aux parois et au fond du récipient. Prélever 2 à 3 litres, agiter de nouveau et prélever un échantillon de 500 ml.	500 ml
B. Lait concentré, lait concentré avec crème et lait concentré écrémé	Petits récipients destinés à la vente au détail. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	500 ml
C. Laits en poudre 1. Entiers	Récipients en vrac. Enfoncer une pipette sèche au cœur de la poudre à une vitesse de pénétration constante. Faire autant de prélèvements qu'il faut pour obtenir un échantillon de 500 g. Petits récipients destinés à la vente au détail. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un	500 g

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
2. Écrémés	échantillon de laboratoire de la taille requise. Identique aux laits en poudre entiers	500 g
III. Groupe 087 (Produits laitiers dérivés) A. Crème - fraîche, congelée et UHT; liquide, à fouetter, fouettée, chantilly épaisse et en grumeaux	Récipients en vrac. Tourner lentement une spatule plongée dans le produit afin d'assurer un mélange homogène; veiller à ne pas faire mousser la crème, à ne pas la fouetter ou la battre. Prélever un échantillon de 200 ml à la louche. Petits récipients. Prendre le nombre d'unités suffisant pour obtenir un échantillon de laboratoire de la taille requise.	200 ml
B. Beurre - y compris le beurre de sérum et les pâtes à tartiner à faible teneur en matière grasse contenant des graisses de beurre	En vrac. Prélever deux ou plusieurs « carottes » de beurre afin que le poids minimum total de l'échantillon ne soit pas inférieur à 200 g. En mottes ou pains Pour les unités pesant plus de 250 g, diviser en quatre et prendre les quartiers opposés. Pour les unités pesant moins de 250 g, prendre une unité comme échantillon.	200 g
C. Beurre émulsionné - y compris beurre émulsionné anhydre et graisse d'anhydre	Mélanger soigneusement et prélever un échantillon de 200 g.	200 g
IV. Groupe 090 (Produits laitiers manufacturés - ingrédient unique) A. Yaourt - nature, à faible teneur en matières grasses et à base de lait entier	Prélever un nombre d'unités suffisant pour répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	500 g
B. Fromages - toutes variétés	Effectuer deux coupes, partant du centre du fromage si celui-ci est de base circulaire ou parallèles si la base est rectangulaire. La dimension du morceau prélevé doit répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon. Pour les petits fromages et les portions de fromage emballées, prélever un nombre d'unités suffisant pour répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	200 g
V. Groupe 092 (Produits laitiers manufacturés – ingrédients multiples)		

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
A. Crème glacée laitière - crème glacée contenant au moins 5% de matière grasse de lait	Choisir un bloc ou des unités suffisants pour répondre aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	500 ml
B. Préparations à base de fromage fondu	Choisir des unités répondant aux besoins du laboratoire en matière de taille de l'échantillon.	200 g
C. Yaourts parfumés	Comme pour le yaourt nature.	500 g
D. Lait condensé sucré	Comme pour le lait concentré non sucré.	500 ml
VI. Groupe 039 (Œufs et produits à base d'œufs)		
A. Œufs liquides et congelés	Employer le barème d'échantillonnage. La taille du sous-échantillon sera de 0,25 l de liquide ou de 0,5 l de lamelles en masse obtenues par forages aseptiques pratiqués à l'intérieur des récipients.	500 g
B. Produits à base d'œufs en poudre	Employer le barème d'échantillonnage. Pour des récipients de 0,5 kg ou moins, ou de 25ml ou moins, prélever un minimum de 2 unités par sous-échantillon. Pour des récipients de 0,5 à 10 kg, sélectionner une unité par sous-échantillon. Pour des récipients de 10 kg ou plus, prélever 1 kg sur chaque unité échantillonnée. Prélever au moyen d'une technique aseptique.	500 g
C. Œufs en coquille		
1. Conditionnement de détail	Employer le barème d'échantillonnage. La taille du sous-échantillon est la douzaine.	500 g ou 10 œufs entiers
2. Cartons du commerce de gros	Pour 15 cartons ou moins, prélever une douzaine sur chaque carton, jusqu'à concurrence de 2 douzaines d'œufs minimum. Pour 16 cartons ou plus, prélever une douzaine sur 15 cartons choisis au hasard.	500 g ou 10 œufs entiers

Tableau C : Produits de l'aquaculture

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
VII. Classe B – Type 08 (Produits d'animaux aquatiques)		
A. Poisson emballé - frais, congelé, fumé, séché, ou mollusques (à l'exception des huîtres)		
1. Emballage en vrac	Prélever suffisamment d'unités dans un emballage choisi pour respecter l'exigence de taille minimale d'échantillon de	Tissu comestible, 500 g

PRODUIT	INSTRUCTIONS DE PRÉLÈVEMENT	QUANTITÉ MINIMALE REQUISE POUR UN ÉCHANTILLON DE LABORATOIRE
2. Emballage de vente au détail	laboratoire. Prélever suffisamment d'unités dans des emballages choisis pour respecter la taille minimale d'échantillon de laboratoire.	Tissu comestible, 500 g
B. Poissons en vrac	Prélever des tissus comestibles dans une quantité suffisante de poissons, selon la taille.	Tissu comestible, 500 g
C. Mollusques en vrac	Prélever suffisamment de mollusques, selon la taille.	Tissu comestible, 500 g
VII. Classe E – Type 17 (Produits comestibles dérivés d'animaux aquatiques)		
A. Poissons et mollusques en conserve (à l'exception des huîtres)	Prélever suffisamment de tissu pour respecter la taille minimale de l'échantillon de laboratoire	Tissu comestible, 500 g
B. Autres produits de poisson et de crustacés	Utiliser la grille d'échantillonnage. Prélever des échantillons primaires afin de respecter la taille requise de l'échantillon de laboratoire	500 g

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MÉTHODES MULTI-RÉSIDUS (MMR) POUR LES MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES

C1. CHAMP D'APPLICATION

Le but de cette Annexe est de décrire les caractéristiques/paramètres de performance que devrait présenter une méthode multi-résidus (MMR) pour respecter le niveau de reconnaissance internationale en ce qui concerne de produire des résultats appropriés lors de l'évaluation de résidus de médicaments vétérinaires, soit pour des programmes nationaux ou dans le commerce international. Les applications des méthodes d'analyse peuvent inclure le dépistage, la quantification et (ou) la confirmation, chacune ayant des exigences de performance précises.

Ces Directives s'appliquent aux méthodes multi-résidus (MMR) servant à analyser tous les résidus de médicaments vétérinaires et les substances susceptibles d'être utilisées comme des médicaments vétérinaires. Parmi ces substances figurent certains pesticides ayant une application vétérinaire et pouvant être présents sous forme de résidus dans les denrées. Des directives sur la validation des méthodes d'analyse multi-résidus applicables aux pesticides à usage autre que vétérinaire sont fournies dans le document CAC/GL 40-1993 : Directives concernant les bonnes pratiques de laboratoire en matière d'analyse des résidus de pesticides.

Aux fins de la présente annexe, les MMR sont considérées comme étant des méthodes comprenant au moins trois analytes de la même catégorie ou plus d'une catégorie de médicaments vétérinaires. Ces MMR peuvent servir à analyser des échantillons pour le dépistage de résidus de médicaments vétérinaires ou à réaliser des analyses quantitatives et (ou) confirmatoires. Ce document traite donc des trois types de situation. Il convient de mentionner qu'une MMR validée peut inclure certains analytes dont les critères de performance des analyses quantitatives ont été pleinement validés, tandis que d'autres analytes ne respectent pas les critères de précision ou de récupération des analyses quantitatives ni les exigences applicables aux données nécessaires à la confirmation de présence du résidu. Toutefois, ces analytes doivent être clairement identifiés dans la méthode et ne doivent pas être utilisés à ces fins jusqu'à ce qu'ils aient été validés et/ou que leur pertinence soit attestée.

C2. DÉFINITIONS

Résultat négatif : Résultat indiquant que l'analyte n'est pas présent à ou au-dessus de la concentration étalonnée la plus basse. (Voir aussi Limite de détection dans CAC/GL 72-2009)

Méthode de confirmation : Méthode qui fournit des informations complètes ou complémentaires permettant d'identifier l'analyte avec un degré acceptable de certitude [à la limite acceptée ou au niveau qui intéresse l'analyste].

Limite de décision ($CC\alpha$) : Limite à laquelle il peut être décidé que la concentration de l'analyte présent dans un échantillon dépasse effectivement cette limite, avec une probabilité d'erreur de α (faux positif).

Capacité de détection ($CC\beta$) : C'est la concentration effective la plus faible de l'analyte pouvant être détectée, identifiée et quantifiée dans un échantillon avec une erreur β (faux négatif).

Résidus d'origine : Résidus d'un analyte dans une matrice provenant de la voie par laquelle les résidus à l'état de traces devraient normalement parvenir, par opposition aux résidus provenant de l'enrichissement d'échantillons en laboratoire. Appelés aussi résidus météorisés.

Matrice : Matériau ou composant échantillonné à des fins d'analyse, à l'exclusion de l'analyte.

Matrice témoin : Échantillon dans lequel les analytes recherchés ne sont pas détectables.

Méthode : Série d'opérations depuis la réception d'un échantillon à analyser jusqu'à la production du résultat final.

Méthode multi-résidus (MMR) : Méthode convenant pour l'identification et la quantification d'une gamme d'analytes, habituellement dans un certain nombre de matrices différentes, et comprenant au moins trois analytes de la même catégorie ou plus d'une catégorie de médicaments vétérinaires dans son champ d'application.

Résultat positif présomptif ou suspect : Résultat laissant supposer la présence de l'analyte à une concentration à ou au-dessus de la concentration étalonnée la plus basse.

Résultat positif : Résultat indiquant que l'analyte est présent à une concentration à ou au-dessus de la concentration étalonnée la plus basse.

Méthode quantitative : Méthode pouvant donner des résultats, exprimés en valeurs numériques dans des unités appropriées, avec une exactitude et une précision appropriées à l'objectif. Le degré d'exactitude et de précision doit être conforme aux critères spécifiés dans le tableau 1 du document principal.

Préparation de l'échantillon : Procédé utilisé, si nécessaire, pour convertir l'échantillon de laboratoire en une prise d'essai, en enlevant les parties ne servant pas pour l'analyse.

Transformation de l'échantillon : Le (ou les) procédé(s) (par exemple découpage, broyage, mélange) utilisés pour rendre la portion d'essai suffisamment homogène pour ce qui concerne la distribution de l'analyte, avant le retrait de la partie à analyser.

Méthode de dépistage : Méthode utilisée pour détecter la présence d'un analyte ou d'une classe d'analytes à ou au-dessus de la concentration la plus faible recherchée.

C3. RÉSUMÉ DES PARAMÈTRES DE PERFORMANCE À CARACTÉRISER ET À DÉFINIR POUR LES MÉTHODES D'ANALYSE MULTI-RÉSIDUS

Les paramètres caractéristiques suivants doivent être mesurés pour chaque analyte et pour chaque matrice à l'étude :

a) Sélectivité

- (i) Absence d'interférences
- (ii) Effets de la matrice – caractérisés et mesures correctives appliquées.
- (iii) Paramètres de réponse du détecteur qualitatifs, quantitatifs et/ou confirmatoires déterminés (et la capacité de détection ($CC\beta$) pour les analyses de dépistage lorsque cette information est fournie ci-dessous pour couvrir les valeurs seuil)

b) Calibration

- (i) Sensibilité
- (ii) Fourchette d'étalonnage
- (iii) Fonction d'étalonnage
- (iv) LD et LQ, et/ou limite de décision ($CC\alpha$) et capacité de détection ($CC\beta$)

c) Fiabilité des résultats

- (i) Récupération
- (ii) Exactitude (justesse et précision)
- (iii) Incertitude des mesures
- (iv) Analyse de la robustesse, y compris l'identification des points de contrôle critiques et des points d'arrêt possibles

d) Stabilité des analytes

- (i) Stabilité de l'analyte dans les extraits d'échantillon et les solutions de référence;
- (ii) Stabilité de l'analyte lors du traitement et de l'analyse de l'échantillon
- (iii) Stabilité de l'analyte durant la congélation et sous l'effet répété de gel-dégel.

e) Études de résidus avérés (si les matériaux appropriés sont disponibles)

- (i) Vérifier que les résidus dépistés sont effectivement extraits sous forme d'analytes enrichis
- (ii) Vérifier les performances des étapes comprises dans la méthode pour libérer des résidus liés.
- (iii) Vérifier la cohérence de la récupération et de la précision

C4. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MMR

Il faut savoir que les caractéristiques de performance énumérées au paragraphe 4 doivent être définies et mesurées pour chaque analyte répertorié dans le champ d'application de la méthode multi-résidus pleinement optimisée. Il est préférable de procéder de la sorte une fois qu'il a été déterminé que l'élaboration et/ou la modification de la méthode est complète et que la méthode ne subira plus d'autres changements ou modifications. À cet égard, les concepts sont très similaires à ceux décrits dans le document principal, aux paragraphes 160-181, concernant les caractéristiques de performance d'un analyte dans une méthode

visant un seul analyte. Pour éviter les répétitions, seules les différences émanant de la considération de l'analyte unique seront mises en évidence dans la présente annexe.

Il est à prévoir que le besoin de dépistage efficace des résidus d'une variété de médicaments vétérinaires dans une matrice alimentaire complexe fera que les MMR feront grimper le risque d'interférence par d'autres substances présentes dans la matrice de l'échantillon par rapport aux méthodes à analyte unique. Dès lors que la MMR sert à l'analyse de différentes matrices ou d'une matrice provenant de plusieurs espèces, le risque augmente. Il faut donc porter une attention particulière aux caractéristiques de performance liées à la capacité de détection et à la sélectivité lorsque l'on considère les performances des MMR.

C5. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MÉTHODES DE DÉPISTAGE

Les méthodes de dépistage sont généralement de nature qualitative ou semi-quantitative et couvrent souvent plusieurs analytes, espèces et matrices. Ces méthodes ont pour objectif de faire la distinction entre des échantillons ne contenant pas de résidus en quantité dépassant un seuil donné (échantillons « négatifs ») et des échantillons qui peuvent contenir des résidus dépassant ce seuil (échantillons « positifs »).

Les méthodes de dépistage des médicaments vétérinaires homologués doivent démontrer un taux de sélectivité de 90 pour cent avec un intervalle de confiance de 95 pour cent à la plus faible concentration qu'une méthode permet de dépister avec certitude, dans des limites statistiques déterminées, habituellement un intervalle de confiance de 95 pour cent. Pour des raisons liées à la réglementation, ces méthodes de dépistage peuvent tolérer un petit nombre de « faux positifs », car tout échantillon « positif / positif présumé / positif suspect » doit être reporté afin d'être soumis à une analyse confirmatoire et/ou quantitative supplémentaire dans le but de vérifier la présence du résidu suspect. Pour tous les autres médicaments vétérinaires dont l'usage n'est pas autorisé, cette annexe peut fournir l'information requise pour faciliter les décisions sur les critères de performance qui doivent éventuellement être élaborés.

Les critères d'identification des valeurs seuil des méthodes de dépistage sont fournis dans le document principal (paragraphe 163).

C6. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MMR QUANTITATIVES

La nécessité de recouvrer un éventail de résidus de médicaments vétérinaires en une seule extraction augmente le risque d'erreur de sélectivité des MMR par rapport aux méthodes à un seul analyte. Le recours à une extraction moins sélective et les procédures de nettoyage peuvent entraîner la présence de substances de matrice non intentionnelles dans l'extrait final. La nature et les quantités de ces substances extraites accidentellement peuvent varier sensiblement selon l'historique de l'échantillon. Il faut donc porter une attention particulière lors de la définition des critères de précision et de véracité des MMR afin que l'interférence d'autres composés présents dans la matrice de l'échantillon ne nuise pas à la quantification. Il est recommandé que les MMR utilisées pour justifier les LMR du Codex respectent les normes de performance, en ce qui concerne la véracité et la précision, figurant dans le tableau 1 du document principal. Afin d'assurer la prise en considération des effets des différents échantillons lors de l'évaluation des performances par rapport à ces critères, il est recommandé de fonder les décisions au sujet de ces paramètres sur les directives fournies dans le document principal (par. 171-174). Il faut utiliser la précision intermédiaire de récupération des analytes enrichis dans ces différents échantillons pour les besoins de comparaison avec les critères du tableau 1 du document principal, plutôt que la précision de répétabilité.

Toutefois, si aucune indication n'est disponible au sujet de la concentration cible d'un analyte spécifique, on peut utiliser une valeur découlant d'une évaluation des risques pour la santé publique, plutôt que les limites de détection des instruments d'analyse disponibles.

Il est de plus en plus courant dans les méthodes d'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments de baser la détermination quantitative sur une courbe type préparée en ajoutant une norme à un matériau de matrice à blanc représentatif connu avant de procéder à l'extraction de l'analyte à un éventail de concentrations appropriées couvrant la valeur recherchée. Le recours à une telle courbe standard assortie à la matrice pour l'étalonnage intègre par définition une correction de récupération dans les résultats d'analyse obtenus, mais il peut aussi introduire un nouveau biais lié au comportement de la matrice à blanc utilisée pour tracer la courbe standard. Il est recommandé de déterminer la véracité des méthodes utilisant des courbes d'étalonnage avec adaptation matricielle en se fiant aux directives fournies dans le document principal (par. 171-174).

D'autres approches pourraient être appliquées à la validation de méthodes qui tiennent compte des paramètres de limite de décision ($CC\alpha$) et de capacité de détection ($CC\beta$). Ces deux paramètres intègrent une marge d'incertitude de mesure.

C7. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES MÉTHODES DE CONFIRMATION

L'analyste doit décider lui-même de la marche à suivre pour identifier un résidu de façon certaine; il s'efforcera tout particulièrement de choisir une méthode permettant d'amoindrir les effets des substances perturbatrices. En fin de compte, il incombe à l'analyste de faire des choix, de fournir des données à l'appui et d'interpréter les résultats en fonction des principes scientifiques et en posant un jugement informé, tel que décrit dans le document principal (par. 175-181).

Les conditions de performance des méthodes de confirmation utilisant la spectrométrie de masse à chromatographie en phase gazeuse (GC-MS) à basse résolution et la spectrométrie de masse à chromatographie liquide (LC-MS) énumérées dans le tableau 2 du document principal ont élargies afin d'inclure les situations où l'intensité ionique relative est inférieure à 10 pour cent. Dans ces conditions, une intensité d'ions relative de 50 pour cent entre le standard et l'échantillon est acceptable.

Le tableau 1 de la présente annexe énumère le nombre de points d'identification (IP) obtenus pour un ensemble de techniques d'analyse basées sur la spectrométrie de masse et fournit les critères nécessaires et suffisants pour l'analyse confirmatoire. En règle générale, il faut avoir au moins quatre points d'identification afin de respecter les critères de performance reconnus pour les méthodes réglementaires. Par conséquent, la combinaison d'un ion précurseur et de deux ions produits apporte les quatre points d'identification nécessaires si des instruments SM/SM à faible résolution sont utilisés dans une méthode confirmatoire. Des exemples de méthodes de détection n'utilisant pas la spectrométrie de masse on-MS sont fournis au tableau 3 du texte principal.

Indépendamment de la résolution du spectromètre de masse, au moins un coefficient ionique doit également être mesuré pour éliminer la possibilité que des fragments de la même masse résultent de composés isobares de structure similaire. Les temps de rétention, ou mieux encore, des temps de rétention relatifs doivent également être déterminés pour éviter le risque de fausses identifications lors de l'utilisation des spectromètres de masse à haute résolution.

L'utilisation des spectromètres de masse à haute résolution (SMHR) se répand et les coûts de cette méthode diminuent. Lorsque ce type d'appareil est utilisé, on suggère de fonder la confirmation des composés sur la grande précision de masse et sur le pouvoir de résolution du spectromètre de masse.

C8. VALIDATION DE LA MMR PLEINEMENT CARACTÉRISÉE

La détermination des paramètres figurant au paragraphe 4 pour tous les analytes et matrices énumérés dans le champ d'application d'une MMR permettra de réaliser une évaluation objective de la pertinence de la méthode d'analyse dans un programme de contrôle réglementaire. Concernant les méthodes de dépistage, les analytes dont les paramètres de performance mesurés sont obtenus dans une série d'essais de validation dans lequel ≥ 90 % des mesures prises à chaque combinaison d'analyte/matrice/concentration pourraient être jugés acceptables aux fins de la méthode.

Dans le paragraphe 189 du document principal, on recommande d'utiliser des substances obtenues de manière biologique pour la caractérisation et la validation des méthodes d'analyse, si possible, mais le coût de production de ces substances pour la validation de chaque analyte d'une MMR pourrait s'avérer trop élevé. Néanmoins, s'il s'avère économiquement faisable d'administrer plusieurs médicaments vétérinaires à un animal destiné à l'alimentation humaine, les substances peuvent être produites pour quelques analytes soigneusement choisis et représentatifs de classes et/ou de groupes de médicaments en fonction de leur prévalence d'usage et du risque de présence de résidus au-delà des LMR établies. La concentration cible devrait être proche de la LMR ou de la concentration attendue.

D'autres protocoles peuvent être utilisés pour la validation des MMR, avec les adaptations nécessaires selon la situation précise.

Tableau 1 : Exemples du nombre de points d'identification obtenus pour un ensemble de techniques et combinaisons correspondantes (n = nombre entier)

Technique	Source de l'identification	Nombre de points d'identification (PI)
CG-SM (EI ^a ou CI ^b)	n ions caractéristiques	N
CG-SM (EI +CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
CG-SMEI ou CG-SMCI (2 dérivés)	2 (dérivés A) + 2 (dérivés B)	4
CL-SM	n ions caractéristiques	N
CG-SM/SM ^c	1 ion précurseur + 2 ions produits	4
CL-SM/SM ^d	1 ion précurseur + 2 ions produits	4
CG-SM/SM	2 ions précurseurs, chacun avec 1 ion produit	5
CL-SM/SM	2 ions précurseurs, chacun avec 1 ion produit	5
CL-SM/SM/SM	1 précurseur, 1 ion produit et 2 ions produits de 2 ^{ème} génération	5,5
HRMS	N	2n
GC-SM et CL-SM	2 + 2	4
CG-SM et SGRH	2 + 1	4
CL-SGRH/SM et CG-SGRH/SM	1 ion précurseur + 2 ions produits	6
^a Ionisation de l'électron (EI) ^b Ionisation chimique (CI) ^c Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse en tandem (CG-SM/SM) ^d Spectrométrie de masse en tandem par chromatographie liquide (CL-SM/SM)		