

## **DOCUMENTS D'INFORMATION SUR LES DÉMARCHES-CRITÈRES POUR LES MÉTHODES QUI UTILISENT UNE «SOMME DE COMPOSANTS»**

### **INTRODUCTION**

1. Le Manuel de procédure de la Commission du Codex Alimentarius fournit des instructions exhaustives quant à la manière dont un comité du Codex peut proposer une méthode d'analyse appropriée pour déterminer un certain analyte et/ou élaborer une série de critères de conformité pour la méthode employée. Dans les deux cas, il convient d'indiquer la limite maximale ou minimale spécifiée, les autres limites normalisées, le cas échéant, ainsi que la fourchette de concentration d'intérêt.

2. Lorsqu'un comité du Codex décide qu'il faut élaborer une série de critères, il pourra parfois juger plus simple de préconiser une méthode spécifique et de demander au Comité sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage de «convertir» cette méthode en critères adaptés. Le Comité sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage examinera alors les critères qui, une fois approuvés par le Comité, seront intégrés à la norme. Les méthodes sont évaluées sur la base des caractéristiques suivantes:

- Sélectivité
- Exactitude
- Précision
- Limite de détection
- Sensibilité
- Utilité pratique
- Applicabilité

3. Le Manuel permet également d'établir des critères supplémentaires, selon ce qui convient, et offre des orientations dans le choix des différentes méthodes.

4. En outre, il permet d'employer la «démarche-critères» à la place du processus d'approbation d'une méthode spécifique (ibid). Avec la démarche-critères, il est possible de déterminer une série de critères (valeurs numériques) qu'une méthode doit satisfaire pour être applicable (c'est-à-dire «adaptée au but poursuivi») à une norme spécifique. La démarche-critères est applicable aux méthodes de Type II et de Type III entièrement validées, à l'exception de méthodes telles que l'amplification en chaîne par polymérase ou le test ELISA, mais elle n'est pas applicable aux méthodes de Type I. En l'état, la démarche-critères exige des données relatives à l'applicabilité, la fourchette minimale applicable, les limites de détection et de quantification, la précision (assortie d'exigences sur l'écart type relatif de la reproductibilité), la récupération et la justesse.

5. Le Manuel de procédure fournit deux approches pour établir des critères. La première s'appuie sur la limite spécifiée (maximale ou minimale) pour déterminer des critères numériques visant les caractéristiques mentionnées précédemment, tandis que la seconde repose sur la conversion d'une méthode spécifique afin d'obtenir des critères numériques. Il faut qu'une méthode soit validée et adaptée à l'analyte et au produit visés, cependant il n'est pas spécifiquement exigé qu'une méthode soit approuvée avant d'être «convertie» en critères.

6. Les Recommandations relatives à l'établissement de valeurs numériques pour les critères méthodologiques du Manuel de procédure ont été élaborées en ne tenant compte que de déterminations à un seul analyte, et non pas de déterminations pour une somme de composants. Autrement dit, il y est question de méthodes mesurant la concentration d'un analyte spécifique, pour comparaison de la détermination obtenue avec une spécification. Il est donc possible que l'approche décrite dans le Manuel de procédure ne convienne pas aux déterminations qui utilisent une somme de composants, c'est-à-dire les cas où plusieurs analytes sont déterminés, les résultats sont additionnés et cette somme est comparée à une spécification.

7. Ce document d'information présente au Comité sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage et aux autres comités du Codex des renseignements sur une liste non exhaustive de questions dont ils souhaiteront peut-être tenir compte quand ils élaborent des critères de performance numériques pour les méthodes qui utilisent une somme de composants.

## CONTEXTE

8. Il existe de nombreuses façons de convertir les méthodes et les limites reposant sur des sommes de composants en critères de performance numériques pour les méthodes. L'Annexe A présente deux approches à titre d'exemple, mais d'autres approches sont possibles. Les approches adoptées doivent être élaborées et choisies au cas par cas en fonction de divers facteurs. On examinera notamment si:

- le coefficient de pondération est le même pour tous les composants ou non;
- l'abondance naturelle de certains composants est connue (par exemple, les fumonisines B1 et B2 sont déterminées ensemble; le ratio typique de B1:B2 dans les échantillons contaminés naturellement est égal à 5:2 mais la LM (limite maximale) est fixée pour la valeur totale B1 + B2);
- les valeurs mesurées pour chaque composant sont corrélées ou non. Une corrélation (par exemple due à la mesure de plusieurs composants sur un même instrument au même moment) peut avoir des conséquences importantes sur la précision des valeurs cumulées par rapport à la précision obtenue quand les composants sont mesurés de manière indépendante;
- les LM ou les méthodes font appel à des équivalents de toxicité (TEQ) ou à des facteurs d'équivalence de toxicité (TEF); ou
- la spécification stipule plusieurs LM, tant pour un analyte isolé que pour une somme de composants.

9. Il n'existe actuellement aucun mécanisme unique permettant de convertir les limites maximales qui portent sur une somme de composants en critères de performance d'une méthode, ce qui n'est pas surprenant compte tenu de la complexité de cette conversion. Les évaluations des méthodes qui seront utilisées dans le futur, de même que les concepteurs de protocoles, prennent aujourd'hui en compte l'aspect «somme de composants», si bien que la conformité devrait poser moins de problèmes au Codex à l'avenir. Par ailleurs, la technologie analytique s'améliore, et il devrait devenir possible, pour une disposition d'un produit quelconque, d'identifier de multiples composants moyennant une quantification plus faible que celle utilisée dans le passé. Une autre approche consisterait à s'appuyer sur des composants individuels en tant que «marqueurs» du «total des composants», comme c'est le cas du benzo[a]pyrène pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'eau de boisson. La meilleure réponse à ces différentes questions réside probablement dans la mise en œuvre, par le Codex, des différentes options proposées pour les critères «somme de composants» et, dans le même temps, dans un réexamen, par les comités du Codex, des cas pour lesquels il existe déjà une spécification standard du type «somme de composants».

## FACTEURS D'ÉQUIVALENCE DE TOXICITÉ

10. S'agissant de certains produits ou analytes, les spécifications appliquent une méthode unique pour déterminer les concentrations respectives de plusieurs analytes avant de convertir ces concentrations en «équivalent de toxicité» à l'aide d'un facteur d'équivalence de toxicité (TEF); la spécification correspond alors à une limite fondée sur la somme des équivalents. Cette approche est illustrée par la détermination du groupe des saxitoxines dans la *Norme pour les mollusques bivalves vivants et crus* (CXS 292-2008). La spécification concerne la concentration d'équivalents de saxitoxines, obtenus à partir de 12 saxitoxines congénères dont les résultats respectifs sont multipliés par un TEF puis additionnés. Les TEF sont utilisés dans d'autres déterminations, par exemple les dioxines dans les PCB de type dioxine. La démarche-critères qui figure actuellement dans le Manuel de procédure ne s'applique pas aux spécifications qui ont recours aux TEF ou à la somme d'équivalents de toxicité.

## RECOMMANDATIONS

1. Il est important de souligner qu'il incombe à l'autorité compétente (gouvernement, comité du Codex) de spécifier la fourchette de concentrations de chaque analyte. Le Comité sur les

méthodes d'analyse et d'échantillonnage n'a pas vocation à examiner le ratio des composants, la toxicité et les propriétés des matrices (produits), ces questions étant plutôt du ressort des comités s'occupant de produits ou des gouvernements individuels.

2. Il existe de nombreuses façons de convertir les méthodes et les limites qui concernent une somme de composants en critères de performance de la méthode, mais ces conversions doivent être réalisées avec soin, au cas par cas. Le Comité sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage est à la disposition des comités du Codex pour les aider à élaborer des critères de performance numériques pour les méthodes ou des limites qui reposent sur une somme de composants.
3. Si les méthodes analytiques qui utilisent l'addition de composants ont fait l'objet d'un essai collectif sur la base d'une «somme de composants», alors elles peuvent être directement converties en critères.

11. S'agissant des LM qui reposent sur des TEQ/TEF ou d'autres mesures de l'activité toxicologique, il est recommandé de ne pas convertir les limites elles-mêmes en critères de performance de la méthode. Dans ces cas-là, la seconde approche décrite dans le Manuel de procédure (conversion d'une méthode spécifique afin d'obtenir des critères numériques) peut être appropriée: il s'agit de déterminer des critères numériques en utilisant les données de performance de la méthode brutes (c'est-à-dire non converties en TEQ), en supposant que la méthode a été validée comme il convient. C'est l'approche qui a été adoptée pour amender la *Norme pour les mollusques bivalves vivants et crus* (CXS 292-2008), pour laquelle des critères de performance numériques non pondérés (donc sans application de TEF) ont été établis à partir des différentes méthodes approuvées.

12. Quand les dispositions stipulent des LM à la fois pour des composants isolés et pour une somme de composants, une approche combinée peut convenir. À titre d'exemple, on peut adopter des approches du Manuel de procédure pour les composants isolés, et une approche fondée sur une somme de composants pour les LM qui procèdent par addition de composants.

**ANNEXE A – EXEMPLES D'APPROCHES****APPROCHE 1: LA LM EST UNE SOMME DE COMPOSANTS DE MÊME PONDÉRATION**

Cette approche s'applique aux analyses portant sur plusieurs analytes où tous les composants ont le même coefficient de pondération, où  $n$  est le nombre de composants/analytes. Les critères pour les analytes multiples (et les analytes isolés, où  $n = 1$ ) correspondent alors aux résultats du Tableau 1.

**Tableau 1: Directives pour obtenir des critères numériques si la LM est une somme de composants de même pondération**

<b>Applicabilité:</b>	La méthode doit être applicable pour la disposition, le produit et les limites (minimales et/ou maximales) qui sont spécifiés. La fourchette minimale applicable de la méthode dépend de la limite (LM) spécifiée à évaluer, et peut être exprimée par l'écart type de la reproductibilité ( $s_R$ ) ou par la LD et la LQ.			
<b>Fourchette minimale applicable pour les composants individuels<sup>1</sup>:</b>	Si $LM / n \geq 0,1$ mg/kg, $[LM / n - 3 s_R, LM + 3 s_R]$ Si $LM / n < 0,1$ mg/kg, $[LM / n - 2 s_R, LM + 2 s_R]$ NB: La limite supérieure de la fourchette va au-delà de la LM pour les composants individuels.			
<b>Limite de détection (LD) pour les composants individuels:</b>	Si $LM/n \geq 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM/n \cdot 1/10$ Si $LM / n < 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM / n \cdot 1/5$			
<b>Limite de quantification (LQ) pour les composants individuels:</b>	Si $LM / n \geq 0,1$ mg/kg, $LQ \leq LM / n \cdot 1/5$ Si $LM/n < 0,1$ mg/kg, $LQ \leq LM/n \cdot 2/5$			
<b>Précision pour les composants individuels:</b>	Si $LM / n \geq 0,1$ mg/kg, $HorRat \leq 2$ Si $LM / n < 0,1$ mg/kg, $ETR_R < [44 \%$ . $ETR_R$ = écart type relatif de la reproductibilité.			
<b>Récupération (R) pour les composants individuels:</b>	<b>Concentration</b>	<b>Ratio</b>	<b>Unité</b>	<b>Récupération (%)</b>
	100	1	100 % (100 g/100g)	98-102
	$\geq 10$	$10^{-1}$	$\geq 10$ % (10 g/100g)	<b>98-102</b>
	$\geq 1$	$10^{-2}$	$\geq 1$ % (1 g/100g)	<b>97-103</b>
	$\geq 0,1$	$10^{-3}$	$\geq 0,1$ % (1 mg/g)	<b>95-103</b>
	0,01	$10^{-4}$	100 mg/kg	<b>90-107</b>
	0,001	$10^{-5}$	10 mg/kg	<b>80-110</b>
	0,0001	$10^{-6}$	1 mg/kg	<b>80-110</b>
	0,00001	$10^{-7}$	100 $\mu$ g/kg	<b>80-110</b>
	0,000001	$10^{-8}$	10 $\mu$ g/kg	<b>60-115</b>
0,0000001	$10^{-9}$	1 $\mu$ g/kg	<b>40-120</b>	
<b>Justesse:</b>	D'autres directives sont disponibles pour les fourchettes de récupération attendues dans des domaines d'analyse spécifiques. Quand il est attesté que les récupérations dépendent de la matrice, d'autres obligations spécifiées peuvent s'appliquer. Il faudrait de préférence employer du matériau de référence certifié pour évaluer la justesse.			

**Exemple élaboré**

Considérons une substance X composée de 4 analytes  $x_1, x_2, x_3$  et  $x_4$  dans une matrice Y.

La LM (pour  $x_1 + x_2 + x_3 + x_4$ ) vaut 20  $\mu$ g/kg,

sachant qu'il y a 4 analytes,  $n = 4$ ,

$LM / n = 20 / 4 \mu$ g/kg = 5  $\mu$ g/kg

La feuille de calcul Excel fournie par le NMKL permet d'aboutir aux résultats suivants:

<sup>1</sup> S'applique aux analyses portant sur plusieurs analytes où tous les composants ont le même coefficient de pondération, avec  $n$  = nombre de composants/analytes.

<b>Fourchette minimale applicable pour les composants individuels:</b>	0,003* - 0,029** mg/kg = 3 - 29 µg/kg *correspondant à LM / n = 5 µg/kg ** correspondant à LM = 20 µg/kg
<b>Limite de détection (LD) pour les composants individuels:</b>	1 µg/kg
<b>Limite de quantification (LQ) pour les composants individuels:</b>	2 µg/kg
<b>Précision pour les composants individuels:</b>	ETR <sub>R</sub> ≤ 44 %
<b>Récupération (R) pour les composants individuels:</b>	40-120 %

### Questions à examiner

1. Il importe de souligner que la LM réelle (permettant d'établir la conformité) demeure inchangée tout au long du processus détaillé ci-dessus.
2. Le concept de fourchette minimale applicable est clair et peut servir à vérifier la conformité à l'égard d'une spécification. Toutefois, cette fourchette pourrait être mal interprétée s'agissant de contaminants alimentaires pour lesquels les résultats d'analyse servent à évaluer l'exposition aux substances analysées et le risque pour le consommateur (par exemple mycotoxines ou PCB de type dioxine). Dans ce cas, les mesures de concentrations faibles situées à la limite de quantification technique ou au-dessus sont importantes, en particulier pour les analytes les plus toxiques de la somme à déterminer.
3. Dans ce cadre, les critères relatifs à la LD et la LQ peuvent se révéler trop stricts, surtout quand  $n$  est élevé (par exemple  $n \gg 5$ ). Le cas échéant, les analystes qui élaborent les critères de performance numériques pour les méthodes doivent examiner comment traiter les méthodes qui utilisent une somme de composants multiples (par exemple stéroïdes et HAP), mais dans lesquelles il est probable que seuls quelques-uns de ces composants soient réellement présents. Dans cette situation, les limites de détermination et de quantification calculées peuvent être beaucoup trop strictes dans la pratique, et il peut être préférable d'adopter une autre approche. On peut alors faire correspondre  $n$  au nombre d'analytes d'«intérêt» plutôt qu'au nombre total de composants, par exemple. Il est aussi envisageable de ne pas toucher à la fourchette minimale applicable, à la LD et à la LQ des composants individuels, si ces valeurs ont déjà été stipulées, et de ne pas tenir compte du nombre de congénères ou de composants de la somme.

### APPROCHE 2: LA LM EST UNE SOMME DE COMPOSANTS DONT CERTAINS PRÉSENTENT NATURELLEMENT UNE ABONDANCE OU UN RATIO CONNUS.

Cette approche concerne les analyses portant sur plusieurs analytes dont certains présentent naturellement une abondance/un ratio connu, où  $f$  est le facteur du ratio. Les critères pour les analytes multiples (et les analytes isolés, où  $f = 1$ ) correspondent alors aux résultats du Tableau 2.

**Tableau 2: Directives pour obtenir des critères numériques lorsque la LM est une somme de composants dont certains présentent naturellement une abondance/un ratio connus.**

<b>Applicabilité:</b>	La méthode doit être applicable pour la disposition, le produit et les limites (minimales et/ou maximales) qui sont spécifiés. La fourchette minimale applicable de la méthode dépend de la limite spécifiée (LM) à évaluer, et peut être exprimée par l'écart type de la reproductibilité (SR) ou par la LD et la LQ.
<b>Fourchette minimale applicable pour les composants individuels:</b>	Si $LM \cdot f \geq 0,1$ mg/kg, $[LM \cdot f - 3 SR, LM + 3 SR]$ Si $LM \cdot f < 0,1$ mg/kg, $[LM \cdot f - 2 SR, LM + 2 SR]$ SR = écart type de la reproductibilité
<b>Limite de détection (LD) pour les composants</b>	Si $LM \cdot f \geq 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot f \cdot 1/10$

<b>individuels:</b>	Si $LM \cdot f < 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot f \cdot 1/5$			
<b>Limite de quantification (LQ) pour les composants individuels:</b>	Si $LM \cdot f \geq 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot f \cdot 1/5$ Si $LM \cdot f < 0,1$ mg/kg, $LQ \leq LM \cdot f \cdot 2/5$			
<b>Précision pour les composants individuels:</b>	Si $LM \cdot f \geq 0,1$ mg/kg, $HorRat \leq 2$ Si $LM \cdot f < 0,1$ mg/kg, $ETR_R < [44 \%]$ $ETR_R =$ écart type relatif de la reproductibilité.			
<b>Récupération (R) pour les composants individuels:</b>	<b>Concentration</b>	<b>Ratio</b>	<b>Unité</b>	<b>Récupération (%)</b>
	100	1	100 % (100 g/100g)	98-102
	$\geq 10$	$10^{-1}$	$\geq 10$ % (10 g/100g)	98-102
	$\geq 1$	$10^{-2}$	$\geq 1$ % (1 g/100g)	97-103
	$\geq 0,1$	$10^{-3}$	$\geq 0,1$ % (1 mg/g)	95-103
	0,01	$10^{-4}$	100 mg/kg	90-107
	0,001	$10^{-5}$	10 mg/kg	80-110
	0,0001	$10^{-6}$	1 mg/kg	80-110
	0,00001	$10^{-7}$	100 µg/kg	80-110
	0,000001	$10^{-8}$	10 µg/kg	60-115
0,0000001	$10^{-9}$	1 µg/kg	40-120	
<b>Justesse:</b>	D'autres directives sont disponibles concernant les fourchettes de récupération attendues dans certains domaines analytiques. Quand il est attesté que les récupérations dépendent de la matrice, d'autres obligations spécifiées peuvent s'appliquer. Il faudrait de préférence employer du matériau de référence certifié pour évaluer la justesse.			

### Exemple élaboré

Considérons une substance X composée des analytes  $x_1$  et  $x_2$  dans une matrice Y. On sait que les analytes  $x_1$  et  $x_2$  sont typiquement présents avec un ratio de 5:3 dans les échantillons contaminés naturellement.

Sachant que  $LM = 5\ 000$  µg/kg,

et que les 2 analytes sont habituellement présents avec un ratio de 5:3

$$f_1 = 5/8 = 0,625 \text{ et,}$$

$$f_2 = 3/8 = 0,375$$

Pour l'analyte  $x_1$

$$LM \cdot f_1 = 5\ 000 \cdot 0,625 \text{ µg/kg} = 3\ 125 \text{ µg/kg}$$

Pour l'analyte  $x_2$

$$LM \cdot f_2 = 5\ 000 \cdot 0,375 \text{ µg/kg} = 1\ 875 \text{ µg/kg}$$

La feuille de calcul Excel fournie par le NMKL<sup>2</sup> permet d'aboutir aux résultats suivants:

#### Analyte $x_1$

<b>Fourchette minimale applicable pour l'analyte <math>x_1</math>:</b>	1,862* - 6,883** mg/kg = 1 860 - 6 880 µg/kg *correspondant à $LM \cdot f = 3\ 125$ µg/kg **correspondant à $LM = 5\ 000$ µg/kg
<b>Limite de détection (LD) de l'analyte <math>x_1</math>:</b>	313 µg/kg
<b>Limite de quantification (LQ) de l'analyte <math>x_1</math>:</b>	625 µg/kg
<b>Précision de l'analyte <math>x_1</math>:</b>	$ETR_R \leq 27 \%$
<b>Récupération (R) de l'analyte <math>x_1</math>:</b>	80-110%

<sup>2</sup> www.nmkl.org, sous l'intitulé «How to get method criteria based on ML» de la rubrique «Publications»

**Analyte x<sub>2</sub>**

<b>Fourchette minimale applicable pour l'<u>analyte x<sub>2</sub></u>:</b>	1,056* - 6,883** mg/kg = 1 060 - 6 880 µg/kg **correspondant à LM · f = 1 875 µg/kg **correspondant à LM = 5 000 µg/kg
<b>Limite de détection (LD) de l'<u>analyte x<sub>2</sub></u>:</b>	188 µg/kg
<b>Limite de quantification (LQ) de l'<u>analyte x<sub>2</sub></u>:</b>	375 µg/kg
<b>Précision de l'<u>analyte x<sub>2</sub></u>:</b>	ETR <sub>R</sub> ≤ 29 %
<b>Récupération (R) de l'<u>analyte x<sub>2</sub></u>:</b>	80-110%

**Questions à examiner**

Il importe de souligner que la LM réelle (permettant d'établir la conformité) demeure inchangée tout au long du processus détaillé ci-dessus.