

commission du codex alimentarius



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

ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



F

BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 6 de l'ordre du jour

CX/MAS 09/30/7

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES MÉTHODES D'ANALYSE ET D'ÉCHANTILLONNAGE

Trentième session
Balatonalmádi (Hongrie), 9 – 13 mars 2009

**Directives pour établir des critères pour l'identification des méthodes d'analyse adéquates
(Conversion des méthodes pour les éléments traces en critères)**

ANTÉCÉDENTS

A sa 29^{ème} session, le Comité est convenu de transmettre les propositions d'amendements aux *Instructions de travail pour l'application de la démarche critères dans le Codex* (Annexe 1), à la 31^{ème} session de la Commission pour adoption et inclusion dans le Manuel de Procédure. La Commission a adopté les amendements à sa 31^{ème} session en juin/juillet 2008.

La 29^{ème} session du Comité est également convenue qu'un groupe de travail électronique coordonné par la Suède, avec l'assistance du NMKL, rédigerait de nouveau la section II du document présenté à la 28^{ème} réunion, afin de développer des directives (exemples) pour établir des critères pour les méthodes aux fins d'inclusion dans le Manuel de Procédure pour examen par la 30^{ème} session du CCMAS (Annexe II).

RECOMMANDATION

Le groupe de travail propose que la 30^{ème} session du CCMAS considère et discute l'**Annexe II** Directives relatives à l'Établissement de valeurs numériques pour les critères méthodologiques et/ou à l'évaluation de la conformité des méthodes à ces critères, pour possible inclusion dans le Manuel de Procédure comme un Guide aux *Instructions de travail pour l'application de la démarche critères dans le Codex*.

(À noter que l'Annexe I est adoptée par la Commission et ne doit donc pas être discutée à la 30^{ème} session)

AMENDEMENT AU MANUEL DE PROCÉDURE
INSTRUCTIONS DE TRAVAIL POUR L'APPLICATION DE LA DÉMARCHE CRITÈRES
DANS LE CODEX

(Le présent document remplace les *Instructions de travail pour l'application de la démarche critères dans le Codex* qui figurent à la section *Principes pour l'élaboration des méthodes d'analyse du Codex*)

Tout Comité du Codex s'occupant de produits pourra continuer de proposer une méthode d'analyse appropriée pour la substance chimique à déterminer, et/ou mettre au point une série de critères auxquels chaque méthode devra se conformer. Dans l'un ou l'autre cas, la limite maximale, la limite minimale, toute autre limite normative spécifiées ou la fourchette de concentration concernée devront être indiquées.

Lorsqu'un Comité du Codex décide de mettre au point une série de critères, il peut trouver plus facile de recommander une méthode spécifique et de demander au Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage (CCMAS) de "convertir" cette méthode en un critère approprié. Le critère sera ensuite confirmé par le CCMAS et, après confirmation, fera partie intégrante de la norme. Si un Comité du Codex décide d'élaborer lui-même le critère, il devra suivre les instructions données pour l'élaboration de critères spécifiques, comme indiqué au tableau 1.

Tableau 1: Directives pour l'établissement de valeurs numériques pour le critère:

Applicabilité:	La méthode doit être applicable pour la disposition, le produit et les limites (maximale/minimale) (LM) qui ont été spécifiés. La fourchette minimale applicable de la méthode est fonction de la limite spécifiée (LM) à évaluer, et peut être exprimée en termes d'écart-type de reproductibilité (s_R) ou en termes de LD et de LQ.
Fourchette minimale applicable:	Pour $LM \geq 0.1$ mg/kg, $[LM - 3 s_R, LM + 3 s_R]$ Pour $LM < 0.1$ mg/kg, $[LM - 2 s_R, LM + 2 s_R]$ s_R^1 = écart-type de reproductibilité
Limite de détection (LD):	Pour $LM \geq 0.1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot 1/10$ Pour $LM < 0.1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot 1/5$
Limite de quantification (LQ):	Pour $LM \geq 0.1$ mg/kg, $LQ \leq LM \cdot 1/5$ Pour $LM < 0.1$ mg/kg, $LQ \leq LM \cdot 2/5$

¹ Le s_R devra être calculé à l'aide de l'équation Horwitz / Thompson. Lorsque cette équation ne peut être appliquée (à des fins d'analyse ou conformément à la réglementation) ou lorsque l'on "convertit" des méthodes en critères, il devrait reposer sur le s_R obtenu dans une étude de la performance des méthodes appropriée.

Précision:	Pour $LM \geq 0.1$ mg/kg, valeur HorRat ≤ 2 Pour $LM < 0.1$ mg/kg, le $RSD_{TR} < 22\%$. RSD_R^2 = écart-type de reproductibilité relatif			
Récupération (R):	Concentration	Rapport	Unité	Récupération (%)
	100	1	100% (100 g/100g)	98 – 102
	≥ 10	10^{-1}	$\geq 10\%$ (10 g/100g)	98 – 102
	≥ 1	10^{-2}	$\geq 1\%$ (1 g/100g)	97 – 103
	≥ 0.1	10^{-3}	$\geq 0.1\%$ (1 mg/g)	95 – 105
	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 μ g/kg	80 – 110
	0.000001	10^{-8}	10 μ g/kg	60 – 115
	0.0000001	10^{-9}	1 μ g/kg	40 – 120
D'autres directives sont disponibles pour les fourchettes de récupération attendues dans des domaines d'analyse spécifiques. Dans les cas où il a été que les récupérations sont une fonction de la matrice, d'autres spécifications peuvent être appliquées.				
Justesse:	Pour l'évaluation de la justesse, il est préférable d'utiliser du matériau de référence certifié.			

Les critères du tableau 1 doivent être approuvés pour la détermination en question.

Toutefois, c'est au Comité qui en fait la demande qu'il incombe en premier lieu de fournir les informations concernant la limite ou les limites Codex spécifiées, les méthodes d'analyse et les critères. Si le Comité ne fournit pas de méthode d'analyse ou de critères malgré les demandes qui lui ont été faites, le CCMAS peut établir des critères appropriés comme indiqué ci-dessus.

² Le RSD_R devra être calculé à l'aide de l'équation Horwitz / Thompson. Lorsque cette équation ne peut être appliquée (à des fins d'analyse ou conformément à la réglementation) ou lorsque l'on "convertit" des méthodes en critères, il devrait reposer sur le RSD_R obtenu dans une étude de la performance des méthodes appropriée.

CONVERSION DE MÉTHODES D'ANALYSE SPÉCIFIQUES EN CRITÈRES MÉTHODOLOGIQUES PAR LE CCMAS

Lorsqu'un Comité s'occupant de produits soumet une méthode de Type II ou III au CCMAS pour confirmation, il devrait aussi soumettre l'information sur la ou les limites Codex en même temps que la disposition pour permettre au CCMAS de les convertir en caractéristiques d'analyse généralisées appropriée :

- justesse
- applicabilité (matrice, fourchette de concentration et préférence accordée aux méthodes «générales»)
- limite de détection
- limite de quantification
- précision; répétabilité intralaboratoire (dans un laboratoire), reproductibilité interlaboratoires (dans un laboratoire et dans plusieurs laboratoires), mais dérivant de données d'essais interlaboratoires plutôt que de considérations sur l'incertitude des mesures
- récupération
- sélectivité
- sensibilité
- linéarité

Ces termes, et d'autres termes importants, sont définis dans la Terminologie Analytique utilisée par le Codex. Le CCMAS évaluera la performance d'analyse réelle de la méthode qui a été obtenue au stade de la validation. Cette évaluation tiendra compte des caractéristiques de précision appropriées obtenues lors des études de la performance des méthodes éventuellement effectuées sur la méthode considérée et des résultats d'autres travaux de mise au point réalisés au cours de l'élaboration de la méthode. La série de critères ainsi élaborée fera partie intégrante du rapport du CCMAS et sera incorporée dans la norme Codex appropriée.

En outre, le CCMAS identifiera des valeurs numériques pour les critères auxquels il souhaiterait que ces méthodes se conforment.

ÉVALUATION DE L'ACCEPTABILITÉ DES CARACTÉRISTIQUES DE PRÉCISION D'UNE MÉTHODE D'ANALYSE

Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité calculées peuvent être comparées avec les méthodes existantes. Si ces valeurs sont satisfaisantes, la méthode peut être utilisée comme méthode validée. S'il n'y a pas de méthode avec laquelle on peut comparer les paramètres de précision, les valeurs théoriques de répétabilité et de reproductibilité peuvent être calculées à l'aide de l'équation d'Horwitz. (M. Thompson, *Analyst*, 2000, 125, 385-386.)

PROPOSITION D'AJOUT AU MANUEL DE PROCÉDURE

DIRECTIVES RELATIVES À L'ÉTABLISSEMENT DE VALEURS NUMÉRIQUES POUR LES CRITÈRES MÉTHODOLOGIQUES ET/OU À L'ÉVALUATION DE LA CONFORMITÉ DES MÉTHODES À CES CRITÈRES

1. RECOMMANDATIONS RELATIVES À L'ÉTABLISSEMENT DE VALEURS NUMÉRIQUES POUR LES CRITÈRES MÉTHODOLOGIQUES

Seule la disposition concernant le produit considéré, accompagnée de la limite maximale (limite maximale, limite minimale ou autre limite normative ou fourchette de concentration), est nécessaire pour établir des valeurs numériques pour les critères méthodologiques.

1.1 Applicabilité

La méthode doit être applicable à l'/aux analyte(s)/disposition(s) dans la matrice/catégorie de produit ou d'aliment considéré. Pour les méthodes horizontales, les catégories d'aliments pertinentes devraient avoir été testées. En outre, il doit avoir été démontré que la méthode peut être appliquée pour des concentrations voisines des limites maximales (LM) spécifiées; la LM doit donc être comprise dans la fourchette validée.

- Pour des $LM \geq 10^{-7}$, la fourchette minimale applicable doit être: $LM \pm 3s_R$
- Pour des $LM < 10^{-7}$, la fourchette minimale applicable doit être: $LM \pm 2s_R$

La fourchette minimale applicable doit correspondre à un intervalle comprenant une grande partie de la variation prévue (du fait de l'incertitude de la mesure) dans les résultats autour de la limite spécifiée (LM). Pour les méthodes validées par un travail en collaboration, la variation prévue serait l'écart-type de reproductibilité (s_R) multiplié par un coefficient de couverture. Un coefficient de couverture de 2 correspond à une limite de confiance d'environ 95 pour cent et un coefficient de couverture de 3 à une limite de confiance d'environ 99 pour cent. Compte tenu que 99 pour cent est une valeur souvent employée comme niveau limite d'intervention dans les diagrammes de contrôle, un coefficient de couverture de 3 est recommandé pour les taux de concentration supérieurs ou égaux à 10^{-7} ($\geq 0,1$ mg/kg). Pour des concentrations inférieures à 0,1 mg/kg, il est recommandé d'utiliser un coefficient de couverture de 2, car, avec un facteur de 3, il serait difficile de trouver des méthodes applicables pour certains analytes/dispositions compte tenu du faible niveau de concentration.

Calcul de la fourchette minimale applicable pour des LM spécifiées:

La fourchette minimale applicable peut être estimée à l'aide de l'équation de Horwitz/Thompson pour l'écart-type de reproductibilité (s_R).

1.1.1: Pour des taux de concentration supérieurs ou égaux à 10^{-7} ($\geq 0,1$ mg/kg), on applique l'équation de Horwitz:

$$RSD_T(\%) = s_{TR}/c \cdot 100 = 2C^{-0,1505}$$

où

RSD_T est l'écart-type relatif « théorique »,

s_{TR} est l'écart-type « théorique »,

c est la concentration considérée, c'est-à-dire, ici, la LM, et

C est le taux de concentration, c'est-à-dire le taux de concentration de la LM ($Ratio_{LM}$).

En reformulant l'équation selon la valeur s_R , on obtient l'équation suivante:

$$s_R = \frac{c \cdot 2C^{-0,1505}}{100} = \frac{LM \cdot 2Ratio_{LM}^{-0,1505}}{100}$$

Exemple 1: Si LM = 0,1 mg/kg et Ratio_{LM} = 10⁻⁷, on a:

$$0,1 \pm 3 \cdot s_R = 0,1 \pm 3 \cdot \frac{0,1 \cdot 2 \cdot (0,0000001)^{-0,1505}}{100} = \mathbf{0,1 \pm 0,07 \text{ mg/kg}}$$

La fourchette minimale applicable pour une LM de 0,1 mg/kg est donc 0,03–0,17 mg/kg.

Exemple 2: Pour une LM de 1 mg/kg (c'est-à-dire 10⁻⁷), on a:

$$1,0 \pm 3 \cdot s_R = 1,0 \pm 3 \cdot \frac{1,0 \cdot 2 \cdot (0,0000001)^{-0,1505}}{100} = \mathbf{1,0 \pm 0,48 \text{ mg/kg}}$$

La fourchette minimale applicable pour une LM de 1 mg/kg est donc 0,5–1,5 mg/kg.

1.1.2: Pour des taux de concentration < 10⁻⁷, on applique la théorie de Thompson: RSD_T = 22%, donc s_R = 0,22 · LM.

Exemple 3: LM = 0,01 mg/kg (soit 10⁻⁸):

$$0,01 \pm 2 \cdot s_R = 0,01 \pm 2 \cdot (0,22 \cdot LM) = 0,01 \pm 0,44 \cdot 0,01 = \mathbf{0,01 \pm 0,0044 \text{ mg/kg}}$$

La fourchette minimale applicable pour une LM de 0,01 mg/kg est donc 0,006–0,014 mg/kg.

Au tableau 1 figurent plusieurs fourchettes minimales applicables de concentration pour des LM spécifiées.

Tableau 1: Critères recommandés pour une fourchette applicable *minimale* pour des LM spécifiées

LM (mg/kg)	0,01	0,02	0,05	0,1	1	10	100
Limite inférieure:	0,006	0,011	0,028	0,03	0,52	6,6	76
Limite supérieure: *	0,014	0,029	0,072	0,17	1,48	13,3	124

* La limite supérieure est rarement un facteur limitant, à l'inverse de la limite inférieure.

1.2 Limite de détection (LD) et limite de quantification (LQ)

Pour établir une fourchette applicable maximale, on peut aussi prendre comme critères des valeurs numériques pour les limites de détection et de quantification.

La valeur numérique de la limite de détection (LD) doit être:

- inférieure ou égale à 1/10 de la LM spécifiée pour des concentrations supérieures ou égales à 0,1 mg/kg et
- inférieure ou égale à 1/5 de la LM spécifiée pour des concentrations inférieures à 0,1 mg/kg.

On procède à l'estimation de la LD en multipliant par 3 l'écart-type de la valeur moyenne des essais à blanc (n ≥ 20 répétitions).

La valeur numérique de la limite de quantification (LQ) doit être:

- inférieure ou égale à 1/5 de la LM spécifiée pour des concentrations supérieures ou égales à 0,1 mg/kg et
- inférieure ou égale à 2/5 de la LM spécifiée pour des concentrations inférieures à 0,1 mg/kg.

On procède à l'estimation de la LQ en multipliant par 6 l'écart-type de la valeur moyenne de l'échantillon à blanc (n ≥ 20 répétitions) ou par 2 la LD.

1.3 Précision de la méthode, obtenue à partir d'études menées en collaboration sur les performances de la méthode

La précision doit être exprimée comme écart-type de reproductibilité relatif trouvé (RSD_R) obtenu à l'aide d'études menées en coopération sur les performances de la méthode, qui est ensuite comparé à l'écart-type de reproductibilité relatif théorique (RSD_T).

D'après Horwitz, le rapport entre la valeur trouvée et la valeur théorique (appelé valeur HorRat) devrait être ≤ 2 . Ceci s'applique aussi à l'équation de Thompson: $RSD_T = 22\%$:

$$\frac{RSD_R}{RSD_T} \leq 2 \Leftrightarrow RSD_R \leq 2 \cdot RSD_T$$

Les valeurs numériques relatives à la précision figurant au tableau 2 sont aussi obtenues grâce à l'équation de Horwitz/Thompson. Pour certaines analyses, on peut obtenir, à l'aide de techniques élaborées, un degré plus fin de précision.

Tableau 2. Précision nécessaire à différentes concentrations établie grâce à l'équation de Horwitz/Thompson.

	Thompson	équation de Horwitz ($2C^{-0,1505}$)							
Taux de concentration (C)	$< 10^{-7}$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1
Concentration unité	$< 0,1$ mg/kg	0,1 mg/kg	1 mg/kg	10 mg/kg	0,1 g/kg	1 g/kg	10 g/kg	100 g/kg	1000 g/kg
RSD_T (%)	= 22	22	16	11	8	6	4	3	2
RSD_R (%)	≤ 44	≤ 44	≤ 32	≤ 22	≤ 16	≤ 12	≤ 8	≤ 6	≤ 4

RSD_T = valeur théorique (empirique) de l'écart-type de reproductibilité relatif.

RSD_R = valeur obtenue pour l'écart-type de reproductibilité relatif dans une étude collective.

1.4 Récupération

L'évaluation et l'estimation de la récupération sont prise en compte aux fins de validation de la méthode. La pertinence de la prise en compte de la récupération dépend de la procédure suivie pour la méthode. On peut définir la récupération comme le rapport entre le rendement obtenu dans les étapes d'extraction d'un processus analytique et la quantité d'analyte dans l'échantillon original.

1.5 Justesse

Pour évaluer la justesse, il convient, de préférence, d'analyser des matériaux de référence certifiés (MRC) appropriés et de prouver que ceux-ci donnent la valeur certifiée (compte tenu de l'incertitude des mesures).

1.6 Exemples de manières de procéder pour établir des critères pour une disposition

L'exemple suivant illustre comment fixer des critères concernant une disposition:

Selon la norme Norme générale du Codex pour les contaminants et les toxines dans les denrées alimentaires (Codex STAN 193-1995, Rév. 2-2006), la LM pour le plomb dans les jus de fruits est de **0,05 mg/kg**. En suivant les recommandations relatives à l'obtention de valeurs numériques pour les caractéristiques en se basant sur la LM, on aurait les critères suivants:

Tableau 3. Recommandation de critères numériques pour le plomb dans les jus de fruits

Applicabilité: Analyte:	Plomb
Matrice/disposition:	Jus
LM:	0,05 mg/kg
Limite inférieure de la fourchette minimale applicable:	0,03 mg/kg (= $LM - 2s_R = 0,05 \text{ mg/kg} - 0,44 \cdot 0,05 \text{ mg/kg}$). Voir 1.1.2.
LD:	0,01 mg/kg (= $LM \cdot 1/5 = 0,05 \text{ mg/kg} \cdot 1/5$)
LQ:	0,02 mg/kg (= $LM \cdot 2/5 = 0,05 \text{ mg/kg} \cdot 2/5$)
Précision:	Pour une concentration de 0,05 mg/kg, $RSD_R \leq 44\%$, voir 1.1.2.
Récupération:	La procédure suivie pour cette méthode ne comportant pas d'étape d'extraction, la prise en compte la récupération est sans objet.
Justesse:	Utilisation des MRC.

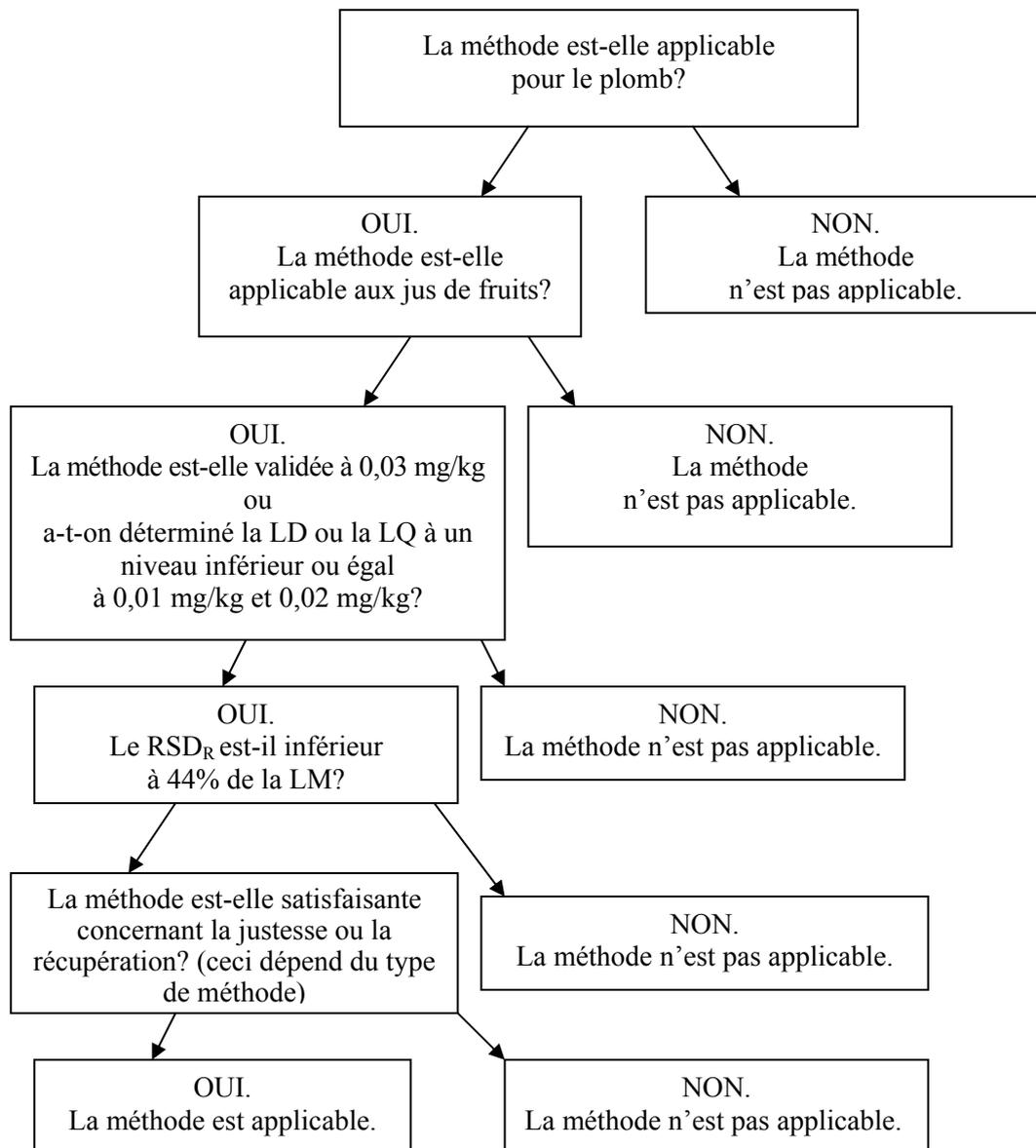
2. COMMENT ÉTABLIR LA CONFORMITÉ D'UNE MÉTHODE AUX CRITÈRES

Pour analyser si une méthode est conforme aux critères établis, il faut évaluer les caractéristiques de ses performances. Le résultat des études des performances d'une méthode est contenu dans la méthode et/ou publié dans une revue scientifique internationale.

2.1 Exemple d'évaluation de la conformité d'une méthode

Si on garde l'exemple du plomb dans les jus de fruits développé plus haut, pour lequel la LM est de 0,05 mg/kg: les méthodes examinées devraient permettre de quantifier la concentration de plomb dans les jus de fruits à un niveau de seulement 0,03 mg/kg avec une précision pour le RSD_T de 22 pour cent, le RSD_R obtenu par l'étude des performances de la méthode ne devrait donc pas être supérieur à 44 pour cent (ce qui correspond à un intervalle de confiance de 95 pour cent).

Pour évaluer si une méthode est applicable, il faut prendre en compte les étapes suivantes:



Afin de trouver des méthodes appropriées à cet usage, on rassemble des informations sur les méthodes visant à établir la concentration de plomb (ceci étant un exemple pour les besoins du Manuel de procédure, l'identification des méthodes est ici omise):

Tableau 4: Méthodes d'analyse de la présence de plomb validées collectivement

Méthode N°	Applicabilité	Principe	Concentration évaluée (mg/kg)	LD (mg/kg)	RSD _R (%)	Applicable oui/non et pourquoi
1	Tous aliments	SAA par la flamme	2,2 - 29		4,9-36	NON La SAA par la flamme ne permet pas de détecter une concentration de 0,05 mg/kg (échec à l'étape 4)
2	Tous aliments (poulet, pomme)	voltamétrie par stripping anodique	0,03-2,8	0,03	17-106	NON Le RSD _R est de 106% (il n'est donc pas inférieur à 44%) à 0,03 mg/kg (échec à l'étape 5)
3	Sucres	SAA-FG	0,03-0,50		12-30	OUI Même si la colonne « applicabilité » ne mentionne pas « jus » (ni « tous aliments »), la méthode doit être considérée applicable compte tenu que le jus de fruit contient beaucoup de sucre. La précision est satisfaisante.
4	Graisses et huiles	SAA-FG	0,018-0,090		5,9-30	NON La méthode décrit la préparation d'échantillons pour les matières grasses et huiles uniquement. (échec à l'étape 2)
5	Eau minérale naturelle	SAA	0,0197-0,977	< 0,01	2,8-4,2	NON La méthode décrit la préparation d'échantillons pour l'eau uniquement. (échec à l'étape 2)
6	Tous aliments	SAA-FG après incinération à sec	0,045-0,25	< 0,01	26-40	NON La limite validée la plus basse n'est pas assez basse, mais, compte tenu que la technique employée est la SAA-FG, elle devrait être applicable à 0,03 mg/kg.
7	Tous aliments sauf huiles, graisses et produits très gras	SAA après digestion en four à micro-ondes sous pression	0,005-1,62	0,014	26-44	OUI Le niveau de validation et le RSD _R sont satisfaisants.
8	Tous aliments	SM-PI après digestion sous pression	0,013-2,45	< 0,01	8-47	OUI Le niveau de validation et le RSD _R sont satisfaisants pour des niveaux supérieurs ou égaux à 0,03 mg/kg.

SAA: spectrométrie d'absorption atomique

SAA-FG: spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite

SM-PI: spectrométrie de masse à plasma inductif

Conclusion: Il a été établi que les méthodes n° 3, 7 et 8 peuvent être appliquées pour déterminer la concentration de plomb dans les jus de fruits pour une LM de 0,05 mg/kg. L'évaluation de la conformité des méthodes nécessite des connaissances sur les méthodes, la préparation d'échantillons et les procédures et les instruments de traitement des échantillons. On ne peut donc pas « juger » les méthodes uniquement d'après les valeurs numériques pour les critères.