

II

(Actos no legislativos)

REGLAMENTOS

REGLAMENTO (UE) N° 252/2012 DE LA COMISIÓN

de 21 de marzo de 2012

por el que se establecen métodos de muestreo y de análisis para el control oficial de los niveles de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios y por el que se deroga el Reglamento (CE) n° 1883/2006

(Texto pertinente a efectos del EEE)

LA COMISIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea,

Visto el Reglamento (CE) n° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales ⁽¹⁾, y, en particular, su artículo 11, apartado 4,

Considerando lo siguiente:

- (1) El Reglamento (CE) n° 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios ⁽²⁾, establece los contenidos máximos de PCB no similares a las dioxinas, dioxinas y furanos, así como de la suma de dioxinas, furanos y PCB no similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios.
- (2) La Recomendación 2011/516/UE de 23 de agosto de 2011 de la Comisión relativa a la reducción de la presencia de dioxinas, furanos y PCB en los piensos y los productos alimenticios ⁽³⁾ estableció umbrales de intervención a fin de estimular un enfoque proactivo para reducir la presencia de policlorodibenzo-para-dioxinas y policlorodibenzofuranos (PCDD/PCDF) y PCB similares a las dioxinas en los productos alimenticios. Dichos umbrales de intervención son un instrumento que permite a las autoridades competentes y los agentes económicos señalar los casos en los que conviene determinar la fuente de contaminación y tomar medidas para su reducción o eliminación.

- (3) El Reglamento (CE) n° 1883/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se establecen métodos de muestreo y de análisis para el control oficial de los niveles de dioxinas y PCB similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios ⁽⁴⁾, establece disposiciones específicas sobre el procedimiento de muestreo y los métodos de análisis que deben utilizarse para el control oficial.
- (4) La aplicación de nuevos contenidos máximos para los PCB no similares a las dioxinas, fijados como consecuencia de un dictamen científico de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) sobre los PCB no similares a las dioxinas, así como la armonización a nivel de la Unión y la puesta al día de los criterios aplicables a los métodos analíticos de cribado requieren modificaciones significativas. Por razones de claridad, conviene por lo tanto sustituir el Reglamento (CE) n° 1883/2006 por el presente Reglamento.
- (5) Las disposiciones establecidas en el presente Reglamento se refieren únicamente al muestreo y al análisis de las dioxinas, los PCB similares a las dioxinas y los PCB no similares a las dioxinas a efectos de la aplicación del Reglamento (CE) n° 1881/2006. No afectan a la estrategia de muestreo ni a los niveles y la frecuencia de muestreo especificados en los anexos III y IV de la Directiva 96/23/CE del Consejo, de 29 de abril de 1996, relativa a las medidas de control aplicables respecto de determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos y por la que se derogan las Directivas 85/358/CEE y 86/469/CEE y las Decisiones 89/187/CEE y 91/664/CEE ⁽⁵⁾. Dichas disposiciones tampoco afectan a los criterios de selección relativos a la toma de muestras establecidos en la Decisión 98/179/CE de la Comisión, de 23 de febrero de 1998, por la que se fijan normas específicas relativas a la toma de muestras oficiales para el control de determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos ⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ DO L 165 de 30.4.2004, p. 1.⁽²⁾ DO L 364 de 20.12.2006, p. 5.⁽³⁾ DO L 218 de 24.8.2011, p. 23.⁽⁴⁾ DO L 364 de 20.12.2006, p. 32.⁽⁵⁾ DO L 125 de 23.5.1996, p. 10.⁽⁶⁾ DO L 65 de 5.3.1998, p. 31.

- (6) Para señalar las muestras con niveles significativos de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas puede utilizarse un método analítico de cribado de productividad elevada, cuya validez sea ampliamente aceptable (que seleccione preferiblemente las muestras que sobrepasen los umbrales de intervención y garantice la selección de muestras que sobrepasen los contenidos máximos). Es necesario determinar los niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en estas muestras mediante un método analítico de confirmación. Conviene, por consiguiente, establecer requisitos adecuados para que el método de cribado garantice que el porcentaje de falsos negativos por lo que respecta a los contenidos máximos sea inferior al 5 % y requisitos estrictos para los métodos analíticos de confirmación. Por otra parte, los métodos de confirmación permiten asimismo la determinación de los niveles en el intervalo de fondo bajo, lo cual es importante para el seguimiento de las tendencias temporales, la evaluación de la exposición y la reevaluación de los contenidos máximos y los umbrales de intervención.
- (7) Con respecto a la toma de muestras de peces muy grandes, es necesario establecer disposiciones específicas para el muestro a fin de garantizar un enfoque armonizado en toda la Unión.
- (8) Tratándose de peces de la misma especie y originarios de la misma región, el nivel de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas puede variar en función del tamaño y/o la edad del animal. Además, el nivel de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas no es necesariamente el mismo en todas las partes del pescado. Por tanto, es necesario establecer disposiciones específicas para el muestreo y la preparación de las muestras, a fin de garantizar un enfoque armonizado en toda la Unión.
- (9) Es importante que los resultados analíticos se comuniquen e interpreten de manera uniforme a fin de garantizar un enfoque armonizado de ejecución en el conjunto de la Unión.
- (10) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité permanente de la cadena alimentaria y de sanidad animal, y ni el Parlamento Europeo ni el Consejo se han opuesto a ellas.

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

A los efectos del presente Reglamento, se aplicarán las definiciones y abreviaturas establecidas en el anexo I.

Artículo 2

El muestreo para el control oficial de los niveles de dioxinas, furanos, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas en los productos alimenticios enumerados en la sección 5 del anexo del Reglamento (CE) n° 1881/2006 se realizará con arreglo a los métodos establecidos en el anexo II del presente Reglamento.

Artículo 3

La preparación de las muestras y los análisis para el control oficial de los niveles de dioxinas, furanos y PCB similares a las dioxinas en los productos alimenticios enumerados en la sección 5 del anexo del Reglamento (CE) n° 1881/2006 se realizarán con arreglo a los métodos establecidos en el anexo III del presente Reglamento.

Artículo 4

Los análisis para el control oficial de los niveles de PCB no similares a las dioxinas en los productos alimenticios enumerados en la sección 5 del anexo del Reglamento (CE) n° 1881/2006 se realizará con arreglo a los requisitos aplicables a los procedimientos analíticos establecidos en el anexo IV del presente Reglamento.

Artículo 5

Queda derogado el Reglamento (CE) n° 1883/2006.

Las referencias al Reglamento derogado se entenderán hechas al presente Reglamento.

Artículo 6

El presente Reglamento entrará en vigor el vigésimo día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

Será aplicable a partir de la fecha de su entrada en vigor.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 21 de marzo de 2012.

Por la Comisión

El Presidente

José Manuel BARROSO

ANEXO I

Definiciones y abreviaturas

I. DEFINICIONES

A efectos del presente Reglamento, serán de aplicación las definiciones establecidas en el anexo I de la Decisión 2002/657/CE de la Comisión, de 12 de agosto de 2002, por la que se aplica la Directiva 96/23/CE del Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados ⁽¹⁾.

Además, a efectos del presente Reglamento se entenderá por:

- 1.1. «Umbral de intervención»: el nivel de una sustancia determinada, tal como se establece en el anexo de la Recomendación 2011/516/UE, que da inicio a investigaciones para identificar la fuente de dicha sustancia en los casos en que se detecten niveles más elevados de la misma.
- 1.2. «Métodos bioanalíticos»: métodos basados en el uso de principios biológicos como los ensayos celulares, los ensayos sobre el receptor o los inmunoensayos. No dan resultados al nivel del congénere sino solamente una indicación ⁽²⁾ del nivel de EQT, expresado en equivalentes bioanalíticos (EQB) teniendo en cuenta que no todos los compuestos presentes en un extracto de muestra que produce una respuesta en el ensayo pueden reunir todos los requisitos del principio de EQT.
- 1.3. «Recuperación aparente del bioensayo»: valor EQB calculado a partir de la curva de calibración de la TCDD o del PCB 126 corregida en función del resultado de ensayo en blanco y dividida después por el valor EQT determinado por CGAR/EMAR. Se propone corregir factores como la pérdida de PCDD/PCDF y compuestos similares a dioxinas durante las fases de extracción y limpieza, la coextracción de compuestos que aumentan o reducen la respuesta (efectos agonistas y antagonistas), la calidad del ajuste de la curva o las diferencias entre los valores FET y REP. La recuperación aparente del bioensayo se calcula a partir de muestras de referencia adecuadas con patrones de congéneres representativos próximos al nivel considerado.
- 1.4. «Métodos semicuantitativos»: métodos que facilitan una indicación aproximada de la concentración del presunto análisis, cuando el resultado numérico no satisface los requisitos para los métodos cuantitativos.
- 1.5. «El límite de cuantificación específico aceptado de un congénere individual»: la concentración de un análisis en el extracto de una muestra que produce una respuesta instrumental a dos iones diferentes que debe controlarse con una relación señal/ruido (S/R) de 3/1 para la señal menos sensible y que cumple requisitos de identificación como los descritos, por ejemplo, en el proyecto de norma prEN 16215 (Alimentos para animales. Determinación de dioxinas y PCBs como dioxinas mediante CGAR/EMAR y de PCBs mediante PCB indicadores mediante CGAR/EMAR) y/o en el método EPA 1613, revisión B.
- 1.6. «Límite superior»: el concepto que exige la utilización del límite de cuantificación para la contribución de cada congénere no cuantificado.
- 1.7. «Límite inferior»: el concepto que exige la utilización de cero para la contribución de cada congénere no cuantificado.
- 1.8. «Límite intermedio»: el concepto que exige la utilización de la mitad del límite de cuantificación para calcular la contribución de cada congénere no cuantificado.
- 1.9. «Lote»: cantidad identificable de alimento entregada en una misma vez y que presenta, a juicio del agente responsable, características comunes, tales como el origen, la variedad, el tipo de embalaje, el envasador, el expedidor o el etiquetado. En el caso del pescado y de los productos pesqueros, también debe ser comparable su tamaño. En caso de que el tamaño o el peso del pescado, o ambas cosas, no sean comparables dentro de una misma partida, esta podrá seguir considerándose un lote, pero habrá de aplicarse un procedimiento de muestreo específico.
- 1.10. «Sublote»: parte de un lote más grande designada para aplicar sobre ella el método de muestreo. Cada sublote debe estar separado físicamente y ser identificable.
- 1.11. «Muestra elemental»: cantidad de material tomada en un único punto del lote o sublote.
- 1.12. «Muestra global»: agregación de todas las muestras elementales tomadas del lote o sublote.
- 1.13. «Muestra de laboratorio»: una parte o cantidad representativa de la muestra global destinada al laboratorio.

II. ABREVIATURAS UTILIZADAS

EQB Equivalentes bioanalíticos

CG Cromatografía de gases

⁽¹⁾ DO L 221 de 17.8.2002, p. 8.

⁽²⁾ Los métodos bioanalíticos no son específicos de los congéneres incluidos en el esquema de FET. En la muestra pueden existir otros compuestos de estructura similar que activan los ligandos de hidrocarburos aromáticos y contribuyen a la respuesta global. Por lo tanto, los resultados bioanalíticos no pueden constituir una estimación, sino más bien una indicación del nivel de EQT de la muestra.

EMAR Espectrometría de masas de alta resolución

EMBR Espectrometría de masas de baja resolución

PCB Policlorobifenilos

PCDD Policlorodibenzodioxinas

PCDF Policlorodibenzofuranos

CC Control de calidad

REP Potencial relativo

FET Factor de equivalencia tóxica

EQT Equivalentes tóxicos

TCDD Tetraclorodibenzodioxina

U Incertidumbre de medida expandida

ANEXO II

Métodos de muestreo para el control oficial de los niveles de dioxinas (PCDD/PCDF), PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios**I. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

Las muestras destinadas al control oficial de los niveles de dioxinas (PCDD/PCDF), PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas, denominados en lo sucesivo dioxinas y PCB, en los productos alimenticios se tomarán de conformidad con los métodos descritos en el presente anexo. Las muestras globales así obtenidas se considerarán representativas de los lotes o sublotos de los que se obtengan. El cumplimiento de los contenidos máximos establecidos en el Reglamento (CE) n° 1831/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, se determinará en función de los niveles hallados en las muestras de laboratorio.

II. DISPOSICIONES GENERALES**1. Personal**

La toma de muestras será efectuada por una persona autorizada designada por el Estado miembro.

2. Material objeto de muestreo

Todo lote o sublote que deba examinarse será objeto de un muestreo aparte.

3. Precauciones que deben tomarse

Durante el muestreo y la preparación de las muestras, deben tomarse precauciones para evitar toda alteración que pueda modificar el contenido en dioxinas y PCB, afectar negativamente a los análisis o restar representatividad a las muestras globales.

4. Muestras elementales

En la medida de lo posible, las muestras elementales se tomarán en distintos puntos del lote o sublote. Cuando no se siga este procedimiento, debe señalarse en el acta contemplada en el punto II.8 del presente anexo.

5. Preparación de la muestra global

La muestra global se obtendrá agrupando las muestras elementales. Debe pesar al menos 1 kg, a menos que no sea posible, como puede ocurrir si solo se han tomado muestras de un envase o cuando el producto tiene un elevado valor comercial.

6. Muestras idénticas

Las muestras idénticas para acciones encaminadas a hacer cumplir la normativa, o con fines de defensa o de referencia, se tomarán de la muestra global homogeneizada, a menos que este procedimiento contravenga la normativa de los Estados miembros relativa a los derechos del explotador de la empresa alimentaria. El tamaño de las muestras de laboratorio para acciones encaminadas a hacer cumplir la normativa será suficiente para que puedan hacerse al menos dos análisis.

7. Embalaje y envío de las muestras

Toda muestra debe colocarse en un recipiente limpio e inerte que ofrezca una protección adecuada contra la contaminación, contra la pérdida de análisis por adsorción a su pared interna y contra daños durante el transporte. Se tomarán todas las precauciones necesarias para evitar que se modifique la composición de la muestra durante el transporte o el almacenamiento.

8. Precintado y etiquetado de las muestras

Toda muestra tomada para uso oficial se precintará en el lugar de muestreo y se identificará según las normas de los Estados miembros.

De cada toma de muestras debe establecerse un acta que permita identificar sin ambigüedad cada lote y que indique la fecha y el lugar del muestreo, así como toda información adicional que pueda resultar útil al analista.

III. PLAN DE MUESTREO

El método de muestreo utilizado garantizará que la muestra global sea representativa del (sub)lote que vaya a controlarse.

1. Subdivisión de los lotes en sublotes

Los lotes de gran tamaño se dividirán en sublotes, a condición de que el sublote pueda separarse físicamente. En el caso de productos que se comercialicen en grandes partidas a granel (por ejemplo, aceites vegetales), será de aplicación el cuadro 1. En relación con otros productos será de aplicación el cuadro 2. Dado que el peso del lote no es siempre un múltiplo exacto del peso de los sublotes, estos podrán superar el peso indicado en un máximo del 20 %.

Cuadro 1

Subdivisión de los lotes en sublotes con productos que se comercializan en partidas a granel

Peso del lote (t)	Peso o número de sublotes
$\geq 1\,500$	500 toneladas
> 300 y $< 1\,500$	3 sublotes
≥ 50 y ≤ 300	100 toneladas
< 50	—

Cuadro 2

Subdivisión de los lotes en sublotes con los demás productos

Peso del lote (t)	Peso o número de sublotes
≥ 15	15-30 toneladas
< 15	—

2. Número de muestras elementales

La muestra global que mezcle todas las muestras elementales debe pesar, como mínimo, 1 kg (véase el punto II.5 del presente anexo).

El número mínimo de muestras elementales que deben tomarse del lote o sublote será el indicado en los cuadros 3 y 4.

Cuando se trate de productos líquidos a granel, el lote o sublote se mezclará bien, en la medida de lo posible y siempre que ello no afecte a la calidad del producto, por medios manuales o mecánicos inmediatamente antes de procederse al muestreo. En este caso, se dará por hecho que los contaminantes están distribuidos homogéneamente en un lote o sublote determinado. Por tanto, bastará con tomar tres muestras elementales de un lote o sublote para formar la muestra global.

Las muestras elementales tendrán un peso o volumen parecidos. El peso de una muestra elemental debe ser de al menos 100 gramos.

Cuando no se siga este procedimiento, deberá señalarse en el acta contemplada en el punto II.8 del presente anexo. Con arreglo a lo dispuesto en la Decisión 97/747/CE de la Comisión, de 27 de octubre de 1997, por la que se fijan los niveles y frecuencias de muestreo previstas en la Directiva 96/23/CE del Consejo, con vistas al control de determinadas sustancias y sus residuos en determinados productos animales ⁽¹⁾, el tamaño de la muestra global para los huevos de gallina será de doce huevos como mínimo (para lotes a granel y para lotes consistentes en envases individuales, serán de aplicación los cuadros 3 y 4).

Cuadro 3

Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse del lote o sublote

Peso o volumen del lote/sublote (en kg o l)	Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse
< 50	3
50 a 500	5
> 500	10

En el cuadro 4 se indica el número de envases o unidades que deben tomarse para formar la muestra global en caso de que el lote o sublote esté formado por unidades o envases individuales.

⁽¹⁾ DO L 303 de 6.11.1997, p. 12.

Cuadro 4

Número de envases o unidades (muestras elementales) que deben tomarse para formar la muestra global si el lote o sublote está formado por envases individuales o unidades

Número de envases o unidades del lote o sublote	Número de envases o unidades que deben tomarse
1 a 25	1 envase o unidad como mínimo
26 a 100	aproximadamente un 5 %, 2 envases o unidades como mínimo
> 100	aproximadamente un 5 %, 10 envases o unidades como máximo

3. Disposiciones específicas para el muestreo de lotes que contengan peces enteros de tamaño y peso comparables

Se considera que los peces tienen un tamaño y un peso comparables si las diferencias a este respecto no superan el 50 %, aproximadamente.

El número de muestras elementales que deben tomarse del lote se establece en el cuadro 3. La muestra global que reúna todas las muestras elementales debe pesar, como mínimo, 1 kg (véase el punto II.5).

- En caso de que el lote que vaya a ser objeto de muestreo contenga peces pequeños (cada uno con un peso inferior a 1 kg, aproximadamente), se tomará el pez entero como muestra elemental para formar la muestra global. En caso de que la muestra global resultante pese más de 3 kg, las muestras elementales podrán estar compuestas por la parte media, con un peso mínimo de 100 gramos, de los peces que formen la muestra global. La parte completa a la que sea aplicable el contenido máximo se utilizará para homogeneizar la muestra.

La parte media del pez es aquella donde se encuentra el centro de gravedad. En la mayoría de los casos, está situada en la aleta dorsal (en caso de que el pez tenga esta aleta) o a medio camino entre las branquias y el ano.

- En caso de que el lote que vaya a ser objeto de muestreo contenga peces de mayor tamaño (cada uno con un peso superior a 1 kg, aproximadamente), la muestra elemental estará compuesta por la parte media del pez. Cada muestra elemental debe pesar, como mínimo, 100 gramos.

En los peces de tamaño intermedio (entre 1 y 6 kg, aproximadamente), la muestra elemental se tomará en forma de loncha desde la columna vertebral hacia el vientre, en la parte media del pescado.

En el caso de peces muy grandes (por ejemplo, de más de 6 kg, aproximadamente), la muestra elemental se tomará de la carne del músculo dorsolateral derecho (vista frontal) en la parte media del pez. Si la toma de esa muestra en la parte media del pez supusiera un daño económico significativo, podrá considerarse suficiente la toma de tres muestras elementales de 350 gramos cada una, con independencia del tamaño del lote o, alternativamente, podrá tomarse una parte equivalente de la carne del músculo próxima a la cola y la carne del músculo próxima a la cabeza de un pez para formar la muestra elemental que sea representativa en relación con el nivel de dioxinas del pez entero.

4. Muestreo de lotes de pescado formados por peces enteros de distintos tamaños o pesos

- Serán aplicables las disposiciones del punto III.3 con respecto a la constitución de las muestras.
- En caso de que predomine una clase o categoría de tamaño o peso (en torno al 80 % o más del lote), la muestra se tomará de peces que tengan el tamaño o peso predominantes. Se considerará que dicha muestra es representativa de todo el lote.
- Si no predomina ninguna clase o categoría de tamaño o peso, debe garantizarse que los peces seleccionados para la muestra sean representativos del lote. El documento «Guidance document on sampling of whole fishes of different size and/or weight» ofrece orientaciones específicas sobre el muestreo de peces enteros de distintos tamaños o pesos ⁽²⁾.

5. Muestreo en la fase de comercio minorista

La toma de muestras de productos alimenticios en la fase de comercio minorista se realizará, siempre que sea posible, de conformidad con las normas de muestreo establecidas en el punto III.2 del presente anexo.

Cuando no sea posible, podrá emplearse en la fase minorista un método de muestreo alternativo, siempre que garantice una representatividad suficiente del lote o sublote objeto de muestreo.

⁽²⁾ http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm

IV. CONFORMIDAD DEL LOTE O SUBLOTE CON LA ESPECIFICACIÓN

1. Respetto de los PCB no similares a las dioxinas

El lote se aceptará si el resultado analítico no supera el contenido máximo de PCB no similares a las dioxinas establecido en el Reglamento (CE) n° 1881/2006 teniendo en cuenta la incertidumbre de medida.

Se considerará que el lote incumple el contenido máximo establecido en el Reglamento (CE) n° 1881/2006 si el resultado analítico del límite superior, confirmado por el análisis por duplicado ⁽³⁾, supera el contenido máximo más allá de cualquier duda razonable, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida.

La incertidumbre de medida puede tenerse en cuenta con arreglo a uno de los siguientes métodos:

- calculando la incertidumbre expandida con un factor de cobertura de 2, que ofrece un nivel de confianza del 95 % aproximadamente; un lote o sub lote no será conforme si el valor medido menos U está por encima del nivel permitido establecido,
- estableciendo el límite de decisión (CC_α) con arreglo a las disposiciones de la Decisión 2002/657/CE (punto 3.1.2.5 del anexo I de dicha Decisión: sustancias para las que se ha establecido un límite permitido). Un lote o sub lote no será conforme si el valor medido es igual o superior al CC_α.

Las normas mencionadas se aplicarán al resultado analítico obtenido con la muestra para control oficial. En caso de análisis con fines de defensa o referencia, se aplicarán las normas nacionales.

2. Respetto de las dioxinas (PCDD/PCDF) y los PCB similares a las dioxinas

El lote se aceptará si el resultado de un análisis único

- realizado mediante un método de cribado con un porcentaje de falsos negativos inferior al 5 % indica que el nivel no supera el contenido máximo correspondiente de PCDD/PCDF y la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas establecidos en el Reglamento (CE) n° 1881/2006,
- realizado mediante un método de confirmación no supera el contenido máximo correspondiente de PCDD/PCDF y la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas establecido en el Reglamento (CE) n° 1881/2006, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida.

Para las pruebas de cribado se fijará un valor de corte para la decisión sobre la conformidad con los correspondientes niveles considerados fijados para PCDD/PCDF, o para la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas.

Se considerará que el lote incumple el contenido máximo establecido en el Reglamento (CE) n° 1881/2006 si el resultado analítico del límite superior, obtenido con un método de confirmación y confirmado por el análisis por duplicado ⁽³⁾, supera el contenido máximo más allá de cualquier duda razonable, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida.

La incertidumbre de medida puede tenerse en cuenta con arreglo a uno de los siguientes métodos:

- calculando la incertidumbre expandida con un factor de cobertura de 2, que ofrece un nivel de confianza del 95 % aproximadamente; un lote o sub lote no será conforme si el valor medido menos U está por encima del nivel permitido establecido; en caso de que se determinen por separado PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas, para la incertidumbre expandida calculada de la suma de ambos debe emplearse la suma de la incertidumbre expandida calculada correspondiente a los resultados analíticos obtenidos por separado para PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas,
- estableciendo el límite de decisión (CC_α) con arreglo a las disposiciones de la Decisión 2002/657/CE (punto 3.1.2.5 del anexo I de dicha Decisión: sustancias para las que se ha establecido un límite permitido), un lote o sub lote no será conforme si el valor medido es igual o superior al CC_α.

Las normas mencionadas se aplicarán al resultado analítico obtenido con la muestra para control oficial. En caso de análisis con fines de defensa o referencia, se aplicarán las normas nacionales.

⁽³⁾ El análisis por duplicado es necesario para descartar la posibilidad de contaminación cruzada interna o de combinación accidental de muestras. El primer análisis, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida, se realiza para verificar el cumplimiento. Si el análisis se realiza en el marco de un incidente de contaminación, puede prescindirse de la confirmación mediante un análisis por duplicado si la trazabilidad pone de manifiesto que las muestras seleccionadas para el análisis están relacionadas con dicho incidente.

V. SUPERACIÓN DE LOS UMBRALES DE INTERVENCIÓN

Los umbrales de intervención sirven como instrumento para seleccionar las muestras en los casos en los que conviene determinar la fuente de contaminación y tomar medidas para su reducción o eliminación. Los métodos de cribado establecerán los valores de corte adecuados para seleccionar dichas muestras. Los esfuerzos necesarios para determinar una fuente y reducir o eliminar la contaminación solo se pondrán en marcha si se confirma una superación de los umbrales de intervención mediante un análisis por duplicado utilizando un método de confirmación y teniendo en cuenta la incertidumbre de medida ⁽⁴⁾.

⁽⁴⁾ Idéntica explicación y requisitos para el análisis por duplicado del control los umbrales de intervención que en la nota 3 para los niveles máximos.

ANEXO III

Preparación de las muestras y requisitos aplicables a los métodos de análisis utilizados en el control oficial de los niveles de dioxinas (PCDD/PCDF) y PCB similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios**1. CAMPO DE APLICACIÓN**

Los requisitos establecidos en el presente anexo deben aplicarse en el análisis de los productos alimenticios realizado a efectos del control oficial de los niveles de policlorodibenzodioxinas y policlorodibenzofuranos (PCDD/PCDF) sustituidos en posiciones 2, 3, 7 y 8, y bifenilos policlorados similares a las dioxinas (PCB similares a las dioxinas) y con otros fines reglamentarios.

El control de la presencia de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en los productos alimenticios podrá efectuarse con dos objetivos diferentes:

- a) selección de las muestras con niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas que superen los contenidos máximos o los umbrales de intervención. Este enfoque puede implicar un método de cribado que proporcione un elevado número de muestras en poco tiempo con una buena relación coste-eficacia, aumentando de esa manera la oportunidad de descubrir nuevos incidentes con una alta exposición y riesgos para la salud de los consumidores. Los métodos de cribado podrán incluir métodos bioanalíticos y métodos de CG/EM. Su aplicación debe tener como objetivo evitar falsos resultados conformes. La concentración de PCDD/PCDF y de la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en esas muestras con niveles significativos debe determinarse o confirmarse mediante un método de confirmación;
- b) determinación de los niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en muestras de alimentos en el intervalo de los niveles de fondo bajo. Esto es importante para el seguimiento de las tendencias temporales, la evaluación de la exposición de la población y la creación de una base de datos para la posible reevaluación de los umbrales de intervención y los contenidos máximos. El objetivo se completa con unos métodos de confirmación que permiten la identificación y cuantificación inequívoca de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas con el nivel considerado. Estos métodos se pueden utilizar para confirmar los resultados obtenidos por métodos de cribado y determinar los niveles de fondo bajo en control de alimentos. Son importantes también para elaborar patrones de congéneres con objeto de identificar la fuente de una posible contaminación. Actualmente, dichos métodos utilizan cromatografía de gases de alta resolución/espectrometría de masas de alta resolución (CGAR/EMAR).

2. CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS POR SU GRADO DE CUANTIFICACIÓN ⁽¹⁾

«Los métodos cualitativos» indican si están presentes o no los análisis de interés, sin cuantificar la concentración del presunto análisis. Estos métodos podrían servir asimismo para obtener resultados semicuantitativos, pero solo se usan para notificar si se han encontrado o no contenidos por encima o por debajo de determinados valores, como, por ejemplo, límite de detección, límite de cuantificación o valores de corte.

Para el control de los umbrales de intervención y los contenidos máximos referentes a PCDD/PCDF y compuestos similares a dioxinas en alimentos, pueden aplicarse métodos de cribado que se basen en comparación entre el resultado analítico con un valor de corte y den una decisión de tipo Sí/No para indicar la posible superación del nivel considerado. A tal efecto, se introdujeron métodos bioanalíticos. En principio, podrían desarrollarse también métodos fisicoquímicos; no obstante, con respecto a los umbrales de intervención y contenidos máximos basados en EQT y al análisis complejo con la necesaria determinación de los congéneres individuales relevantes, no existen ejemplos prácticos.

«Los métodos semicuantitativos» facilitan una indicación aproximada de la concentración que puede resultar útil como información sobre el intervalo de concentración de un análisis y ayudar al analista a decidir el margen de calibración para la prueba de confirmación, que se realizará posteriormente a efectos de control de calidad. Algunos ejemplos son:

- los métodos bioanalíticos que son capaces de detectar los análisis considerados, incluyen una curva de calibración, dan una decisión de tipo Sí/No para indicar la posible superación del nivel considerado y permiten notificar el resultado en equivalentes bioanalíticos (EQB), los cuales indican el valor EQT en la muestra,
- las pruebas físico-químicas (por ejemplo, GC-MS/MS o GC/LRMS) para las cuales las características de precisión del método de medida no cumplen los requisitos de las pruebas cuantitativas.

⁽¹⁾ Adaptado para PCDD/PCDF y compuestos similares a dioxinas de «Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines» (Directrices para la validación de métodos de cribado de residuos de medicamentos veterinarios), Laboratorios de Referencia de la UE para residuos de medicamentos veterinarios y contaminantes en alimentos de origen animal en Fougères, Berlín y Bilthoven, 20.1.2010, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm

«Los métodos cuantitativos» reúnen los mismos requisitos en materia de exactitud, intervalo dinámico y precisión que las pruebas de confirmación. Cuando se exija la cuantificación, esos métodos deben validarse como métodos de confirmación, tal y como se describe en el presente documento para PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas.

3. ANTECEDENTES

Para calcular las concentraciones de equivalentes tóxicos (EQT), las concentraciones de cada sustancia en una muestra dada se multiplicarán por sus respectivos factores de equivalencia tóxica (FET), establecidos por la Organización Mundial de la Salud y enumerados en el apéndice del presente anexo, y se sumarán a continuación para obtener la concentración total de compuestos similares a dioxinas expresados en EQT.

Los métodos de cribado y de confirmación solo se pueden aplicar a efectos de control de una matriz determinada si esos métodos son suficientemente sensibles para detectar los niveles de manera fiable al nivel considerado (umbral de intervención o contenido máximo).

4. REQUISITOS DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

- Deben tomarse las medidas pertinentes para evitar la contaminación cruzada en cada fase del procedimiento de toma de muestras y de análisis.
- Las muestras deben almacenarse y transportarse en recipientes de vidrio, aluminio, polipropileno o polietileno adecuados para el almacenamiento sin ninguna influencia sobre los niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en las muestras. Deben eliminarse del recipiente que contiene la muestra los restos de polvo de papel.
- El almacenamiento y el transporte de las muestras debe realizarse de modo que se preserve la integridad de la muestra de producto alimenticio.
- En la medida que sea pertinente, cada muestra de laboratorio debe triturarse finamente y mezclarse minuciosamente utilizando un procedimiento con el que esté demostrado que se obtiene una homogeneización completa (por ejemplo, trituración hasta el paso por un tamiz de 1 mm); en caso de que el contenido de humedad sea demasiado elevado, las muestras deben secarse antes de proceder a su trituración.
- Importa de manera general controlar los reactivos, el material de vidrio y el equipo para detectar la posible influencia sobre los resultados expresados en EQT o en EQB.
- Debe efectuarse un análisis en blanco realizando todo el procedimiento analítico, únicamente sin la muestra.
- Para los métodos bioanalíticos reviste una gran importancia que todo el material de vidrio y los disolventes utilizados en los análisis se sometan a prueba para que estén libres de compuestos que interfieran con la detección de compuestos diana en el intervalo de trabajo. El material de vidrio debe lavarse con disolventes o/y calentarse a temperaturas que permitan eliminar de su superficie restos de PCDD/PCDF, compuestos similares a dioxinas y compuestos que interfieran.
- La cantidad de la muestra utilizada para la extracción debe ser suficiente para que se cumplan los requisitos relativos a un intervalo de trabajo suficientemente bajo, incluidas las concentraciones consideradas.
- Los procedimientos concretos de preparación de muestras que se empleen para los productos en cuestión deben cumplir directrices aceptadas a nivel internacional.
- En el caso del pescado, debe retirarse la piel, pues el contenido máximo se aplica a la carne del músculo sin piel. Sin embargo, todos los restos de carne del músculo y de tejido adiposo adheridos a la cara interna de la piel deben rasparse cuidadosamente para retirarlos por completo y añadirlos a la muestra que vaya a analizarse.

5. REQUISITOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS LABORATORIOS

- De conformidad con lo dispuesto en el Reglamento (CE) n° 882/2004, los laboratorios deben estar acreditados por un organismo reconocido que opere de conformidad con la Guía ISO 58, de modo que esté garantizado que aplican un aseguramiento de la calidad analítica. Dicha acreditación debe efectuarse conforme a la norma EN ISO/IEC 17025.
- La aptitud del laboratorio vendrá demostrada por la participación continua y eficaz en estudios interlaboratorios para la determinación del contenido de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en las matrices pertinentes de alimentos e intervalos de concentración.
- Los laboratorios que utilizan métodos de cribado para los controles corrientes de muestras deben establecer una estrecha cooperación con los laboratorios que utilizan el método de confirmación, tanto para el control de calidad como para la confirmación del resultado analítico de las muestras sospechosas.

6. REQUISITOS BÁSICOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS APLICABLES A LAS DIOXINAS (PCDD/PCDF) Y A LOS PCB SIMILARES A LAS DIOXINAS

6.1. Intervalo de trabajo y límites de cuantificación bajos

- En el caso de PCDD/PCDF, los umbrales de detección deben situarse en el intervalo de los femtogramos superiores (10^{-15} g) habida cuenta de la extrema toxicidad de algunos de estos compuestos. Para la mayoría de los congéneres del grupo de los PCB, es suficiente un límite de cuantificación en el intervalo de nanogramos (10^{-9} g). No obstante, para medir los congéneres de PCB similares a las dioxinas más tóxicos (en particular, los congéneres sustituidos no-orto) el límite inferior del intervalo de trabajo debe alcanzar los niveles bajos del picogramo (10^{-12} g).

6.2. Selectividad elevada (especificidad)

- Es necesario establecer una distinción entre PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas y una multitud de otros compuestos extraídos simultáneamente de la muestra, capaces de interferir, y que están presentes en concentraciones de hasta varios órdenes de magnitud superiores a las de los análisis considerados. Por lo que respecta a los métodos de cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM), es necesario distinguir entre varios congéneres, en particular entre los tóxicos (por ejemplo, los diecisiete PCDD/PCDF sustituidos en las posiciones 2, 3, 7 y 8 y doce PCB similares a las dioxinas) y otros congéneres.
- Los métodos bioanalíticos estarán en condiciones de detectar los compuestos diana como la suma de PCDD/PCDF y/o PCB similares a las dioxinas. La limpieza de las muestras irá destinada a eliminar compuestos que provoquen falsos resultados no conformes o compuestos que puedan disminuir la respuesta, dando lugar a falsos resultados conformes.

6.3. Alto grado de exactitud (veracidad y precisión, recuperación aparente del bioensayo)

- Para los métodos de CG/EM, la determinación debe proporcionar una estimación válida de la concentración real en una muestra. A fin de evitar que el resultado del análisis de una muestra sea rechazado debido a la escasa fiabilidad del nivel EQT determinado, será necesario lograr un alto grado de exactitud (exactitud de la medida: grado de concordancia entre el resultado de la medida y el valor real o atribuido del mensurando). La exactitud se expresa como «veracidad» (diferencia entre el valor medio medido de un análisis en un material certificado y su valor certificado, expresado como porcentaje de este valor) y «precisión» (desviación estándar relativa RSD_R , calculada a partir de los resultados obtenidos en condiciones de reproducibilidad).
- Para los métodos bioanalíticos, debe determinarse la recuperación aparente del bioensayo.

6.4. Validación en el intervalo del nivel considerado y medidas generales de control de calidad

- Los laboratorios deben demostrar el funcionamiento de un método en el intervalo del nivel considerado, por ejemplo 0,5, una y dos veces el nivel considerado, con un coeficiente de variación aceptable para análisis repetidos, durante el procedimiento de validación y/o durante los análisis sistemáticos.
- Como medidas internas de aseguramiento de la calidad, deben realizarse regularmente controles en blanco y experimentos con muestras enriquecidas o análisis de muestras de control (de preferencia, si existe, material de referencia certificado). Deben registrarse y comprobarse gráficos de control de calidad para controles en blanco, experimentos con muestras enriquecidas o análisis de muestras de control para garantizar que el funcionamiento analítico es conforme con los requisitos.

6.5. Límite de cuantificación

- Para un método bioanalítico de cribado, no es indispensable establecer el límite de cuantificación pero el método debe demostrar que es capaz de distinguir entre el valor en blanco y el valor de corte. Al transmitirse un valor EQB, debe establecerse un nivel de notificación para decidir qué se hace con las muestras con una respuesta por debajo de ese nivel. Debe demostrarse que el nivel de notificación es diferente, al menos, por un factor de tres, de las muestras en blanco con una respuesta inferior al intervalo de trabajo. Por consiguiente, debe calcularse a partir de muestras que contengan los compuestos diana en torno al nivel mínimo requerido y no a partir de una relación señal-ruido o de un blanco de ensayo.
- El límite de cuantificación en un método de confirmación debe situarse en aproximadamente un quinto del nivel considerado.

6.6. Criterios de análisis

- Para obtener resultados fiables de métodos de confirmación o de cribado, deben cumplirse los siguientes criterios, respectivamente, para el valor EQT o el valor EQB, ya se determine como total de EQT (suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas) o separadamente para PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas.

	Cribado con métodos bioanalíticos o físicoquímicos	Métodos de confirmación
Porcentaje de falsos negativos (*)	< 5 %	
Veracidad		-20 % a + 20 %
Repetibilidad (RSD _p)	< 20 %	
Reproducibilidad intralaboratorio (RSD _R)	< 25 %	< 15 %

(*) con respecto a los contenidos máximos

6.7. Requisitos específicos para métodos de cribado

- El cribado podrá realizarse utilizando métodos de CG/EM y métodos bioanalíticos. Para los métodos CG/EM deben utilizarse los criterios establecidos en el punto 7. Por lo que se refiere a los métodos bioanalíticos celulares, los requisitos específicos aplicables figuran en el punto 8 del presente anexo.
- Los laboratorios que utilizan métodos de cribado para los controles corrientes de muestras deben establecer una estrecha cooperación con los laboratorios que utilizan el método de confirmación.
- Durante los análisis sistemáticos es necesario verificar el rendimiento del método de cribado, mediante un control de la calidad analítica y la validación del método en curso. Debe existir un programa continuo para el control de los resultados conformes.
- *Comprobación de la posible supresión de la respuesta de las células y la citotoxicidad*

Un 20 % de los extractos de muestra se medirán a través de un cribado sistemático con y sin adición de TCDD en las posiciones 2, 3, 7 y 8, correspondientes al nivel considerado, para comprobar si se ha podido suprimir la respuesta a causa de sustancias interferentes presentes en el extracto de muestra. La concentración medida de la muestra enriquecida se compara a la suma de la concentración del extracto no enriquecido y de la concentración del enriquecimiento. Si dicha concentración medida es inferior en más de un 25 % a la concentración (sumatoria) calculada, ello indica la posibilidad de una supresión de la señal y la muestra respectiva debe someterse a un análisis de confirmación por CGAR/EMAR. Los resultados se controlarán por medio de gráficos de control de calidad.

- *Control de calidad de muestras conformes*

Aproximadamente entre un 2 % y un 10 % de las muestras conformes, en función de la matriz de la muestra y de la experiencia de laboratorio, deben confirmarse por CGAR/EMAR.

- *Determinación de los índices de falsos negativos a partir de datos del control de calidad*

Debe determinarse el índice de falsos resultados conformes derivado del cribado de muestras por debajo y por encima del contenido máximo o del umbral de intervención. Los porcentajes reales de falsos negativos deben ser inferiores al 5 %.

Cuando el control de calidad de las muestras conformes muestre veinte resultados confirmados como mínimo por matriz o grupo de matrices, se extraerán conclusiones sobre el índice de falsos resultados conformes a partir de esa base de datos. Los resultados de las muestras analizadas en ensayos interlaboratorios o durante incidentes de contaminación, que abarquen un intervalo de concentración de hasta dos veces el contenido máximo, por ejemplo, también pueden incluirse en el mínimo de veinte resultados para la evaluación del índice de falsos resultados conformes. Las muestras cubrirán los patrones de congéneres más frecuentes, que representen diversas fuentes.

Aunque las pruebas de cribado irán encaminadas preferiblemente a detectar las muestras que sobrepasen el umbral de intervención, el criterio para determinar los índices de falsos negativos será el contenido máximo, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida del método de confirmación.

- Los resultados del cribado potencialmente no conformes deben comprobarse siempre mediante un método analítico de confirmación (CGAR/EMAR). Esas muestras se pueden usar asimismo para evaluar el índice de falsos resultados no conformes. Para los métodos de cribado, el porcentaje de «falsos resultados no conformes» es la fracción de resultados cuyo cumplimiento se haya confirmado mediante un análisis de confirmación CGAR/EMAR, mientras que en el cribado anterior, la muestra había sido declarada sospechosa de ser no conforme. No obstante, la evaluación del carácter ventajoso del método de cribado se basará en la comparación de las muestras falsamente no conformes con el número total de muestras comprobadas. Ese índice debe ser lo suficientemente bajo para que la herramienta de cribado resulte ventajosa.

- Al menos, en condiciones de validación, los métodos bioanalíticos deben proporcionar una indicación válida del nivel de EQT, calculado y expresado como EQB.
- También en el caso de métodos bioanalíticos empleados en condiciones de repetibilidad, la RSD_r intralaboratorio suele ser inferior a la reproducibilidad (RSD_R).

7. REQUISITOS ESPECÍFICOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS MÉTODOS CGAR/EMAR UTILIZADOS CON FINES DE CRIBADO O DE CONFIRMACIÓN

7.1. Requisitos generales

- La diferencia entre el límite superior y el límite inferior de determinación no debe exceder del 20 % para los productos alimenticios con una contaminación de aproximadamente 1 pg EQT-OMS/g de grasa (basándose en la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas). En el caso de productos alimenticios con bajo contenido de grasa, deben aplicarse los mismos requisitos para niveles de contaminación del orden de 1 pg EQT-OMS/g de producto. Para niveles de contaminación inferiores, por ejemplo 0,5 pg EQT-OMS/g de producto, la diferencia entre el límite superior y el límite inferior podrá situarse en un intervalo del 25 % al 40 %.

7.2. Control de la recuperación

- A fin de validar el procedimiento analítico, será preciso añadir, desde el mismo comienzo del método analítico —por ejemplo, antes de la extracción—, patrones internos de PCDD/PCDF marcados con ^{13}C y con cloros sustituidos en 2, 3, 7 y 8 y patrones internos de PCB similares a las dioxinas marcados con ^{13}C . Debe añadirse al menos un congénere por cada grupo homólogo tetra a octoclorado de PCDD/PCDF y al menos un congénere por cada grupo homólogo de PCB similares a las dioxinas (otra posibilidad es añadir al menos un congénere por cada función de registro de iones seleccionada por espectrometría de masas y utilizada para el control de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas). Se utilizarán, en caso de métodos de confirmación, el conjunto de los 17 patrones internos de PCDD/PCDF marcados con ^{13}C y sustituidos en 2, 3, 7 y 8, así como la totalidad de los doce patrones internos de PCB similares a las dioxinas marcados con ^{13}C .
- Habrán de determinarse asimismo los factores de respuesta relativos en el caso de los congéneres para los que no se añada ningún análogo marcado con ^{13}C , por medio de soluciones de calibración apropiadas.
- Para los productos alimenticios de origen vegetal y los productos alimenticios de origen animal con un contenido de grasa inferior al 10 %, será obligatorio añadir patrones internos antes de proceder a la extracción. Por lo que respecta a los productos alimenticios de origen animal con un contenido de grasa superior al 10 %, los patrones internos podrán añadirse antes o después de la extracción de grasas. Debe validarse adecuadamente la eficacia de la extracción, en función de la fase en la que se introduzcan los patrones internos y de si los resultados notificados se refieren al producto o a las grasas.
- Con anterioridad al análisis mediante CG/EM, deben añadirse uno o dos patrones de recuperación (sustitutos).
- Es preciso realizar un control de la recuperación. Para los métodos de confirmación, los porcentajes de recuperación de cada patrón interno deben situarse en un intervalo del 60 % al 120 %. Se pueden aceptar porcentajes de recuperación inferiores o superiores para congéneres concretos, en particular en relación con algunas dibenzo-p-dioxinas y algunos dibenzofuranos hepta y octoclorados, siempre y cuando su contribución al valor de EQT no supere el 10 % del valor total (basado en la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas). Para los métodos de cribado de CG/EM, los porcentajes de recuperación deben situarse en un intervalo del 30 % al 140 %.

7.3. Eliminación de sustancias interferentes

- Los PCDD/PCDF se separarán de los compuestos clorados interferentes, tales como los PCB no similares a las dioxinas y los éteres difenlicos clorados, mediante técnicas de cromatografía adecuadas (de preferencia con una columna de florisil, alúmina o carbono, o de varios de ellos).
- La separación de los isómeros por cromatografía de gases debe ser suficiente (< 25 % de pico a pico entre 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF y 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF).

7.4. Calibración con curva estándar

- El intervalo de la curva de calibración cubrirá el intervalo pertinente del nivel considerado.

8. REQUISITOS ESPECÍFICOS PARA MÉTODOS BIOANALÍTICOS

Los métodos bioanalíticos son métodos basados en el uso de principios biológicos como los ensayos celulares, los ensayos sobre el receptor o los inmunoensayos. El presente punto 8 establece requisitos para los métodos bioanalíticos en general.

Un método de cribado en principio clasifica una muestra como conforme o sospechosa de ser no conforme. Para ello, se compara el nivel de EQB calculado con el valor de corte (véase 8.3). Las muestras por debajo del valor de corte se declaran conformes, las muestras iguales o por encima del valor de corte se declaran sospechosas de ser no conformes y requieren un análisis mediante un método de confirmación. En la práctica, un nivel de EQB correspondiente a dos tercios del contenido máximo puede servir como valor de corte más adecuado asegurando un porcentaje de falsos negativos inferior al 5 % y un porcentaje aceptable de falsos resultados no conformes. Con contenidos máximos separados de PCDD/PCDF y de la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas, comprobar la conformidad de las muestras sin fraccionamiento requiere unos valores de corte de bioensayo adecuados de PCDD/PCDF. Para comprobar las muestras que sobrepasen el umbral de intervención, el valor de corte podría ser un porcentaje adecuado del respectivo nivel considerado.

Por otro lado, en el caso de determinados métodos bioanalíticos, se puede dar un valor indicativo expresado en EQB para las muestras en el intervalo de trabajo que superen el límite de notificación (véanse 8.1.1 y 8.1.6).

8.1. Evaluación de la respuesta al ensayo

8.1.1. Requisitos generales

- Cuando se calculan las concentraciones a partir de una curva de calibración de TCDD, los valores del límite inferior y superior de la curva presentarán una gran variación (elevado coeficiente de variación — CV). El intervalo de trabajo es el área en que dicho CV es inferior a 15 %. El límite inferior del intervalo de trabajo (límite de notificación) debe fijarse además en un nivel significativamente superior (al menos, por un factor de tres) a los blancos de procedimiento. El límite superior del intervalo de trabajo se suele representar por el valor EC₇₀ (70 % de concentración efectiva máxima), pero se sitúa en un nivel inferior si el CV es superior al 15 % en este intervalo. El intervalo de trabajo se establecerá durante el procedimiento de validación. Los valores de corte (8.3) deben situarse dentro del intervalo de trabajo.
- Las soluciones estándar y los extractos de muestras deben someterse a ensayo, como mínimo, por duplicado. Cuando se usan duplicados, una solución estándar o un extracto testigo probado en cuatro a seis recipientes repartidos por la placa producirán una respuesta o una concentración (solo posible en el intervalo de trabajo) basada en un CV < 15 %.

8.1.2. Calibración

8.1.2.1. Calibración con curva estándar

- Los niveles en las muestras pueden estimarse por comparación de la respuesta del ensayo con una curva de calibración de la TCDD (o del PCB 126 o de una mezcla patrón de PCDD/PCDF/PCB similares a las dioxinas) para calcular el nivel de EQB en el extracto y posteriormente, en la muestra.
- Las curvas de calibración contienen de ocho a doce concentraciones (como mínimo por duplicado), con concentraciones suficientes en la parte inferior de la curva (intervalo de trabajo). Se prestará una atención especial a la calidad del ajuste de la curva en el intervalo de trabajo. Como tal, el valor R² tiene poco o ningún valor para estimar la adecuación del ajuste en regresión no lineal. Se puede mejorar el ajuste minimizando la diferencia entre los niveles calculados y los observados en el intervalo de trabajo de la curva (por ejemplo, minimizando la suma de los residuos al cuadrado).
- El nivel estimado en el extracto de la muestra se corregirá a continuación con el nivel de EQT calculado para una muestra en blanco de matriz/disolvente (a fin de tener en cuenta las impurezas procedentes de los disolventes y productos químicos utilizados) y para la recuperación aparente (calculada a partir del nivel de EQT de muestras de referencia adecuadas con patrones de congéneres representativos próximos al nivel considerado). Para llevar a cabo una corrección de recuperación, la recuperación aparente debe situarse siempre dentro del intervalo requerido (véase el punto 8.1.4). Las muestras de referencia utilizadas para la corrección de recuperación debe cumplir los criterios establecidos en el punto 8.2.

8.1.2.2. Calibración con muestras de referencia

Alternativamente, se puede utilizar una curva de calibración preparada a partir de cuatro muestras de referencia, por lo menos (véase el punto 8.2: un blanco de matriz y tres muestras de referencia de 0,5 ×, 1,0 × y 2,0 × el nivel considerado) en torno al nivel considerado, eliminando así la necesidad de corregir el blanco y la recuperación. En ese caso, la respuesta al ensayo correspondiente a dos tercios del contenido máximo (véase 8.3) puede calcularse directamente a partir de esas muestras y utilizarse como valor de corte. Para comprobar las muestras que sobrepasen el umbral de intervención, el valor de corte podría ser un porcentaje adecuado de dichos umbrales.

8.1.3. Determinación por separado de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas

Los extractos pueden dividirse en fracciones que contengan PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas, permitiendo de esa forma una indicación separada de niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas (en EQB). Se utilizará preferiblemente una curva de calibración estándar del PCB 126 para evaluar los resultados de la fracción que contenga PCB similares a las dioxinas.

8.1.4. Recuperaciones aparentes de los bioensayos

La «recuperación aparente de los bioensayos» se calculará a partir de muestras de referencia adecuadas con patrones de congéneres representativos próximos al nivel considerado y expresados en porcentaje del valor EQB en comparación con el nivel de EQT. En función del tipo de ensayo y los FET ⁽¹⁾ utilizados, las diferencias entre los factores FET y REP relativas a los PCB similares a las dioxinas pueden provocar recuperaciones aparentes bajas en el caso de los PCB similares a las dioxinas en comparación con los PCDD/PCDF. Por consiguiente, si se determinan por separado PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas, las recuperaciones aparentes del bioensayo serán del 25 % al 60 % para los PCB similares a las dioxinas, del 50 % al 130 % para PCDD/PCDF (los intervalos se aplican a la curva de calibración de TCDD). Como la contribución de los PCB similares a las dioxinas a la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas puede variar entre las distintas matrices y muestras, las recuperaciones aparentes del bioensayo para el parámetro de la suma refleja dichos intervalos y se situarán entre el 30 % y el 130 %.

8.1.5. Control de la recuperación para la limpieza

— La pérdida de compuestos durante la fase de limpieza debe comprobarse durante el procedimiento de validación. Una muestra en blanco enriquecida con una mezcla de diferentes congéneres se someterá a limpieza ($n = 3$ por lo menos) y la recuperación y la variabilidad se comprobarán mediante un análisis por CGAR/EMAR. El porcentaje de recuperación debe situarse entre el 60 % y el 120 %, especialmente para los congéneres que contribuyen en más del 10 % al nivel de EQT en distintas mezclas.

8.1.6. Límite de notificación

— Al notificar los valores EQB, se determinará un límite de notificación a partir de muestras de matriz pertinentes que incluyan patrones de congéneres tipo, y no a partir de la curva de calibración de los patrones a causa de la falta de precisión del intervalo inferior de la curva. Deben tenerse en cuenta los efectos de la extracción y la limpieza. El límite de notificación debe fijarse en un nivel significativamente superior (al menos, por un factor de tres) a los blancos de procedimiento.

8.2. Utilización de muestras de referencia

- Las muestras de referencia representarán la matriz de la muestra, los patrones de congéneres y los intervalos de concentración de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en torno al límite considerado (contenidos máximos o umbrales de intervención).
- En cada serie de ensayos deben incluirse un blanco de procedimiento, o preferiblemente un blanco de matriz, y una muestra de referencia al nivel considerado. Esas muestras deben extraerse y analizarse al mismo tiempo y en condiciones idénticas. La respuesta de la muestra de referencia debe ser claramente superior a la de la muestra en blanco, lo que garantiza la idoneidad de la prueba. Esas muestras pueden usarse para la corrección del blanco y de la recuperación.
- Las muestras de referencia escogidas para llevar a cabo una corrección de recuperación deben ser representativas de las muestras de ensayo, lo que significa que los patrones de congéneres no deben dar lugar a una subestimación de los niveles.
- Podrán incluirse muestras de referencia suplementarias con una concentración equivalente, por ejemplo, a $0,5 \times$ y dos veces el nivel considerado, a fin de demostrar la eficacia del ensayo en el intervalo de referencia para el control del nivel considerado. Si se combinan, estas muestras pueden usarse para calcular los valores EQB en muestras de ensayo (8.1.2.2).

8.3. Determinación de los valores de corte

Debe establecerse la relación entre los resultados bioanalíticos en EQB y los resultados de CGAR/EMAR en EQT, por ejemplo mediante experimentos de calibración ajustados por matrices, con muestras de referencia enriquecidas a 0, 0,5, 1 y 2 veces el contenido máximo, y con seis repeticiones de cada nivel ($n = 24$). Los factores de corrección (en blanco y de recuperación) pueden estimarse a partir de esa relación pero deben comprobarse en cada serie de ensayos incluyendo blanco de procedimiento/de matriz y muestras de recuperación (8.2).

Los valores de corte se fijarán para la decisión sobre la conformidad de la muestra con los contenidos máximos o para comprobar que los umbrales de intervención, si son considerados, son conformes con los niveles considerados respectivos establecidos para PCDD/PCDF o para PCB similares a las dioxinas aisladamente, o para la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas. Estos valores de corte representan el criterio de valoración *más bajo* de la distribución de los resultados bioanalíticos (corregidos en función del blanco y de la recuperación) correspondientes al límite de decisión CGAR/EMAR con un nivel de confianza del 95 %, lo que implica un porcentaje de falsos negativos $< 5 \%$, y con una $RSD_R < 25 \%$. El límite de decisión CGAR/EMAR es el contenido máximo, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida.

En la práctica, el valor de corte (en EQB) puede calcularse con arreglo a uno de los siguientes métodos (véase la figura 1):

⁽¹⁾ Los requisitos actuales se basan en los FET publicados en: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223-241 (2006).

8.3.1. Uso de la banda *inferior* del intervalo de predicción del 95 % en el límite de decisión CGAR/EMAR

$$\text{Valor de corte} = \text{EQB}_{\text{LD}} - s_{y,x} * t_{\alpha, f=m-2} \sqrt{1/n + 1/m + (x_i - \bar{x})^2 / Q_{xx}}$$

donde:

EQB_{LD} EQB corresponde al límite de decisión CGAR/EMAR, es decir el contenido máximo teniendo en cuenta la incertidumbre de medida

$s_{y,x}$ desviación estándar residual

$t_{\alpha, f=m-2}$ factor de Student ($\alpha = 5 \%$, $f = \text{grados de libertad, unilateral}$)

m número total de puntos de calibración (índice j)

n número de repeticiones en cada nivel

x_i concentración de la muestra CGAR/EMAR (en EQT) del punto de calibración i

$\bar{x}$ media de las concentraciones (en EQT) de todas las muestras de calibración

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2$ parámetro suma de cuadrados, $i = \text{índice del punto de calibración}$

8.3.2. Cálculo a partir de resultados bioanalíticos (corregidos en función del blanco y de la recuperación) de múltiples análisis de muestras ($n \geq 6$) contaminadas en el límite de decisión CGAR/EMAR, como el criterio de valoración *más bajo* de la distribución de los datos en la correspondiente media de EQB:

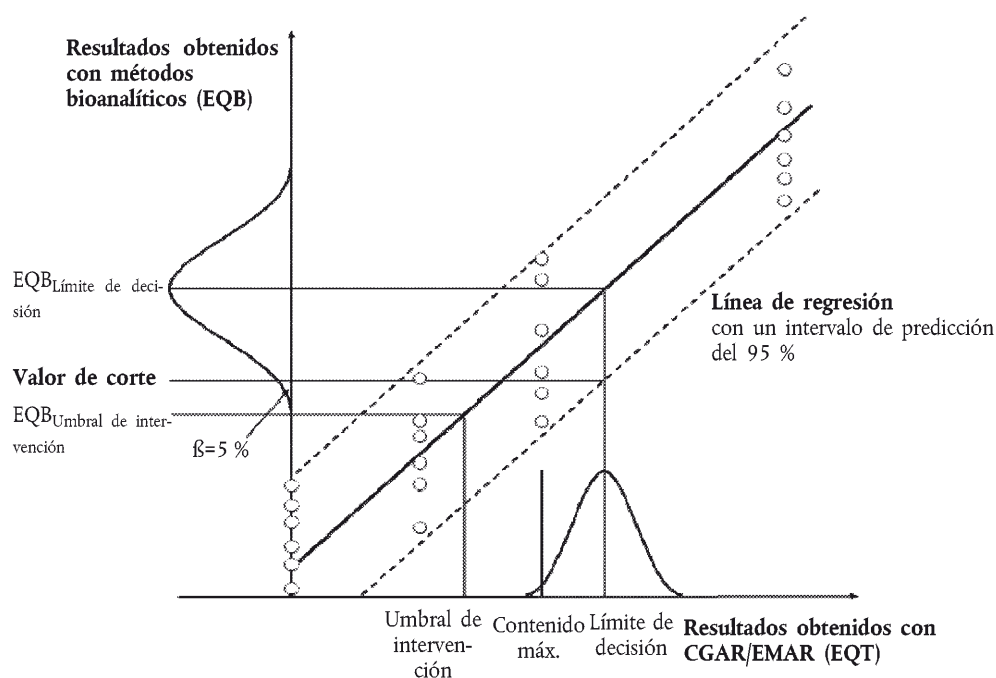
$$\text{Valor de corte} = \text{EQB}_{\text{LD}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

donde

SD_R desviación estándar de los resultados de los bioensayos en EQB_{DL} , medidos en condiciones de reproducibilidad intralaboratorio

8.3.3. Cálculo como valor medio de los resultados bioanalíticos (en EQB, corregidos en función del blanco y de la recuperación) de múltiples análisis de muestras ($n \geq 6$) contaminadas a dos tercios del nivel considerado. Todo ello se desprende al observar que este nivel se halla en torno al valor de corte determinado con arreglo al punto 8.3.1 o al punto 8.3.2.

Figura 1



Cálculo de los valores de corte con un nivel de confianza del 95 %, lo que implica un porcentaje de falsos negativos < 5 %, y con una $RSD_R < 25 \%$: 1. De la banda inferior del intervalo de predicción del 95 % en el límite de decisión CGAR/EMAR. 2. De múltiples análisis de muestras ($n \geq 6$) contaminadas en el límite de decisión CGAR/EMAR como el criterio de valoración *más bajo* de la distribución de datos (representado en la figura por una curva acampanada) en el correspondiente valor EQB.

8.3.4. Restricciones de los valores de corte

Los valores de corte basados en el EQB y calculados a partir de la RSD_R obtenida durante la validación utilizando un reducido número de muestras con diferentes pautas de matriz o de congénere pueden ser superiores a los niveles considerados basados en EQT, pues así se alcanza más precisión que en los análisis sistemáticos, en los cuales hay que controlar un espectro desconocido de posibles pautas de congénere. En tales casos, los valores de corte se calcularán a partir de una $RSD_R = 25 \%$, o mejor de dos tercios del nivel considerado.

8.4. Características de funcionamiento

- Puesto que en los métodos bioanalíticos no pueden utilizarse patrones internos, deben efectuarse ensayos de repetibilidad para obtener datos sobre la desviación estándar en una serie de ensayos y entre las mismas series. La repetibilidad debe ser inferior al 20 %, y la reproducibilidad intralaboratorio inferior al 25 %. Habrá que basarse en los niveles calculados en EQB tras la corrección del blanco y de la recuperación.
- Como parte del proceso de validación, debe mostrarse el ensayo para discriminar entre una muestra en blanco y un nivel en el valor de corte, que permita la identificación de muestras por encima del valor de corte correspondiente (véase el punto 8.1.2).
- Deben identificarse claramente los compuestos diana, las posibles interferencias y los contenidos máximos tolerables de blanco.
- La desviación porcentual estándar en la respuesta o concentración calculada a partir de la respuesta (solo posible en el intervalo de trabajo) de una determinación por triplicado de un extracto de la muestra no debe ser superior al 15 %.
- Los resultados no corregidos de la muestra o las muestras de referencia expresados en EQB (blanco y nivel considerado) se utilizarán para evaluar el funcionamiento del método bioanalítico en un intervalo de tiempo constante.
- Deben registrarse y comprobarse los gráficos de control de calidad correspondientes a los blancos de procedimiento y para cada tipo de muestra de referencia, para asegurarse de que el funcionamiento analítico es conforme con los requisitos, en particular en el caso de los blancos de procedimiento con respecto a la diferencia mínima requerida en relación con el límite inferior del intervalo de trabajo y en el caso de muestras de referencia con respecto a la reproducibilidad intralaboratorio. Deben controlarse bien los blancos de procedimiento con objeto de evitar falsos resultados conformes cuando se restan.
- Los resultados de los análisis por CGAR/EMAR de las muestras sospechosas y del 2 % al 10 % de las muestras conformes (veinte muestras como mínimo por matriz) deben recogerse y utilizarse para evaluar el funcionamiento del método de cribado y la relación entre valores EQB y EQT. Esta base de datos puede utilizarse para reevaluar los valores de corte aplicables a las muestras sistemáticas de las matrices validadas.
- También se puede demostrar el funcionamiento satisfactorio del método participando en ensayos interlaboratorios. Los resultados de las muestras analizadas en ensayos interlaboratorios, que abarquen un intervalo de concentración de hasta dos veces el contenido máximo, por ejemplo, también pueden incluirse en la evaluación del índice de falsos negativos, si un laboratorio logra demostrar el éxito de la realización. Las muestras cubrirán los patrones de congéneres más frecuentes, que representen diversas fuentes.
- Durante los incidentes, se pueden volver a evaluar los valores de corte, para reflejar la matriz y los patrones de congéneres específicos de ese mismo incidente.

9. NOTIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS

Métodos de confirmación

- En la medida en que el procedimiento analítico seguido lo permita, los resultados del análisis deben incluir los niveles de los congéneres individuales de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas e indicarse como límite inferior, límite superior y límite intermedio, a fin de incluir el máximo de información posible en la notificación de los resultados, permitiendo así interpretarlos en función de los requisitos específicos.
- El informe debe indicar, asimismo, el método utilizado para la extracción de PCDD/PCDF, PCB similares a las dioxinas y lípidos. El contenido en lípidos de la muestra se determinará y se notificará para las muestras de alimentos que presenten contenidos máximos o umbrales de intervención expresados como grasas y una concentración de grasas prevista en un intervalo del 0 al 2 % (en correspondencia con la legislación vigente); para otras muestras, la determinación del contenido en lípidos es facultativa.

- Deben indicarse los porcentajes de recuperación de cada patrón interno en caso de que estén fuera del intervalo mencionado en el punto 7,2 o de que se supere el contenido máximo, así como en otros casos cuando se solicite.
- Puesto que, al decidir sobre la conformidad de una muestra, se ha de tener en cuenta la incertidumbre de medida, también se indicará este parámetro. Así pues, los resultados analíticos deben expresarse como $x \pm U$, donde x es el resultado analítico y U la incertidumbre de medida expandida, aplicando un factor de cobertura de 2, que ofrece un nivel de confianza aproximado del 95 %. En caso de que se determinen por separado PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas, para la incertidumbre expandida calculada de la suma de ambos debe emplearse la suma de la incertidumbre expandida calculada correspondiente a los resultados analíticos obtenidos por separado para PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas.
- Si la incertidumbre de medida se tiene en cuenta aplicando el CCa (según se describe en el anexo II, punto IV. 2), debe indicarse este parámetro.
- Los resultados deben expresarse en las mismas unidades y (como mínimo) con el mismo número de cifras significativas que los contenidos máximos establecidos en el Reglamento (CE) n° 1881/2006.

Métodos bioanalíticos de cribado

- El resultado del cribado se expresará como «conforme» o «presuntamente no conforme» («sospechoso»).
 - Además, se puede dar un resultado para PCDD/PCDF y/o PCB similares a las dioxinas expresado en equivalentes bioanalíticos (EQB) (no EQT) (véase el anexo III, punto 2).
 - Si la incertidumbre de medida sobre el valor EQB calculado se da, por ejemplo, como desviación estándar, debe basarse en, al menos, un triple análisis (que incluya la extracción, la limpieza y la determinación de la respuesta al ensayo) de la muestra.
 - Las muestras con una respuesta inferior al límite de notificación se expresarán como inferiores a dicho límite.
 - Para cada tipo de matriz de la muestra, la notificación debe mencionar el nivel considerado (contenido máximo o umbral de intervención) sobre el que se base la evaluación.
 - La notificación debe mencionar el tipo de ensayo aplicado, el principio de base del ensayo y el tipo de calibración.
 - El informe debe indicar, asimismo, el método utilizado para la extracción de PCDD/PCDF, PCB similares a las dioxinas y lípidos. El contenido en lípidos de la muestra se determinará y se notificará para las muestras de alimentos que presenten contenidos máximos o umbrales de intervención expresados como grasas y una concentración de grasas prevista en un intervalo del 0 al 2 % (en correspondencia con la legislación vigente); para otras muestras, la determinación del contenido en lípidos es facultativa.
-

Apéndice del ANEXO III

Los FET-OMS para evaluación del riesgo para la salud humana se basan en las conclusiones de la reunión de expertos del Programa Internacional de Seguridad Química que se celebró en Ginebra en junio de 2005 [Martin van den Berg *et al.*, *The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds*. Toxicological Sciences 93(2), 223–241 (2006)]

Congénere	Valor FET	Congénere	Valor FET
Policlorodibenzodioxinas («PCDD»)		PCB «similares a las dioxinas» PCB no-orto + PCB mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	<i>PCB no-orto</i>	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibenzofuranos («PCDF»)		<i>PCB mono-orto</i>	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Abreviaturas empleadas: «T» = tetra; «Pe» = penta; «Hx» = hexa; «Hp» = hepta; «O» = octo; «CDD» = clorodibenzodioxina; «CDF» = clorodibenzofurano; «CB» = clorobifenilo.

ANEXO IV

Preparación de las muestras y requisitos para los métodos de análisis utilizados en el control oficial de los niveles de PCB no similares a las dioxinas (PCB # 28, 52, 101, 138, 153 y 180) en determinados productos alimenticios

1. Métodos de detección aplicables

Cromatografía de gases con detección por captura electrónica (CG/ECD), CG/EMBR, CG/EM-EM, CGAR/EMAR o métodos equivalentes.

2. Identificación y confirmación de los analitos considerados

— Tiempo relativo de retención en relación con patrones internos o patrones de referencia (desviación tolerable de $\pm 0,25$ %).

— Separación por cromatografía de gases de los seis PCB indicadores (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 y PCB 180) de sustancias interferentes, especialmente los PCB que eluyen conjuntamente, sobre todo si los niveles de muestras están dentro de los límites legales y debe confirmarse la no conformidad.

Nota: Los congéneres que suelen eluir conjuntamente son, por ejemplo, los PCB 28/31, PCB 52/69 y los PCB 138/163/164. Para la CG/EM, conviene tener en cuenta también las posibles interferencias de fragmentos de congéneres más altamente clorados.

— Para las técnicas de CG/EM:

— Control de, al menos:

— dos iones específicos para EMAR,

— dos iones específicos de $m/z > 200$ o tres iones específicos de $m/z > 100$ para EMBR,

— un precursor y 2 iones producidos para EM/EM.

— Tolerancias máximas permitidas para las relaciones de abundancia relativas a fragmentos de masa seleccionados:

Desviación relativa de la relación de abundancia de los fragmentos de masa seleccionados en términos de abundancia teórica o patrón de calibración para el ion objetivo (el ion más abundante controlado) y el ion o los iones calificador(es):

Intensidad relativa del ion o iones cualificador(es) comparado con el ion objetivo	CG-EI-EM (desviación relativa)	CG-CI-EM, CG-EM ^a (desviación relativa)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % a + 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % a + 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Número suficiente de fragmentos de masa con intensidad relativa > 10 % disponibles, por lo que no es recomendable utilizar iones calificadores con una intensidad relativa inferior al 10 % de la del ion considerado.

— Para la GC/ECD:

Confirmación de resultados que sobrepasen el límite de tolerancia con dos columnas de GC cuya fases estacionarias de polaridad sean diferentes.

3. Demostración del funcionamiento del método

Validación en el intervalo del nivel considerado (0,5 a 2 veces el nivel considerado) con un coeficiente de variación aceptable para análisis repetidos (véanse los requisitos para precisión intermedia en el punto 8).

4. Límite de cuantificación

Los valores en blanco no deben superar el 30 % del nivel de contaminación correspondiente al contenido máximo ⁽¹⁾.

5. Control de calidad

Controles en blanco periódicos, análisis de muestras enriquecidas, muestras para el control, participación en estudios interlaboratorios sobre matrices pertinentes.

⁽¹⁾ Es altamente recomendable tener una contribución del nivel de blanco de reactivo inferior al nivel de un contaminante en una muestra. Corresponde al laboratorio controlar la variación de niveles de blanco, en particular si se restan dichos niveles.

6. Control de la recuperación

- Uso de patrones internos adecuados con propiedades fisicoquímicas comparables a las de los análisis considerados.
- Adición de patrones internos:
 - adición de productos (antes del proceso de extracción y limpieza),
 - adición también posible de materia grasa extraída (antes del proceso de limpieza), si el contenido máximo se expresa en relación con la materia grasa.
- Requisitos para los métodos que utilizan los seis congéneres de indicadores de PCB isotópicamente marcados:
 - corrección de resultados para recuperaciones de patrones internos,
 - recuperaciones generalmente aceptables de patrones internos isotópicamente marcados entre el 50 % y el 120 %,
 - son aceptables recuperaciones inferiores o superiores para congéneres individuales con una contribución para la suma de los seis indicadores de PCB inferior a 10 %.
- Requisitos para los métodos que no utilizan los seis patrones internos isotópicamente marcados u otros patrones internos:
 - control de recuperación de patrón(es) interno(s) para cada muestra,
 - recuperaciones aceptables de patrón(es) interno(s) entre el 60 % y el 120 %,
 - corrección de resultados para recuperaciones de patrones internos.
- Las recuperaciones de congéneres no marcados deben comprobarse por medio de muestras enriquecidas o de muestras de control de calidad con concentraciones en el intervalo del nivel considerado. Los índices de recuperación aceptables para esos congéneres se sitúan entre el 70 % y el 120 %.

7. Requisitos que deben cumplir los laboratorios

De conformidad con lo dispuesto en el Reglamento (CE) n° 882/2004, los laboratorios deben estar acreditados por un organismo reconocido que opere de conformidad con la Guía ISO 58, de modo que esté garantizado que aplican un aseguramiento de la calidad analítica. Dicha acreditación debe efectuarse conforme a la norma EN ISO/IEC 17025.

8. Características de funcionamiento: criterios para la suma de los seis PCB indicadores al nivel considerado

Veracidad	- 30 a + 30 %
Precisión intermedia (RSD)	≤ 20 %
Diferencia entre el cálculo superior y el inferior	≤ 20 %

9. Comunicación de los resultados

- En la medida en que el procedimiento analítico seguido lo permita, los resultados del análisis deben incluir los niveles de los congéneres individuales de PCB e indicarse como límite inferior, límite superior y límite intermedio, a fin de incluir el máximo de información posible en la notificación de los resultados, permitiendo así interpretarlos en función de los requisitos específicos.
- El informe debe indicar, asimismo, el método utilizado para la extracción de PCB y lípidos. El contenido en lípidos de la muestra se determinará y se notificará para las muestras de alimentos que presenten contenidos máximos expresados como grasas y una concentración de grasas prevista en un intervalo del 0 al 2 % (en correspondencia con la legislación vigente); para otras muestras, la determinación del contenido en lípidos es facultativa.
- Deben indicarse los porcentajes de recuperación de cada patrón interno en caso de que estén fuera del intervalo mencionado en el punto 6 o de que se supere el contenido máximo, así como en otros casos cuando se solicite.
- Puesto que, al decidir sobre la conformidad de una muestra, se ha de tener en cuenta la incertidumbre de medida, también se indicará este parámetro. Así pues, los resultados analíticos deben expresarse como $x \pm U$, donde x es el resultado analítico y U la incertidumbre de medida expandida, aplicando un factor de cobertura de 2, que ofrece un nivel de confianza aproximado del 95 %.
- Si la incertidumbre de medida se tiene en cuenta aplicando el CCa (según se describe en el anexo II, punto IV.1), debe indicarse este parámetro.
- Los resultados deben expresarse en las mismas unidades y (como mínimo) con el mismo número de cifras significativas que los contenidos máximos establecidos en el Reglamento (CE) n° 1881/2006.