

REGLAMENTO (UE) 2017/644 DE LA COMISIÓN**de 5 de abril de 2017****por el que se establecen métodos de muestreo y de análisis para el control 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 (UE) n.º 589/2014****(Texto pertinente a efectos del EEE)**

LA COMISIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea,

Visto el Reglamento (CE) n.º 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.º 1881/2006 de la Comisión ⁽²⁾ establece los contenidos máximos de policlorobifenilos no similares a las dioxinas (PCB), dioxinas y furanos, así como de la suma de dioxinas, furanos y PCB similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios.
- (2) La Recomendación 2013/711/UE de la Comisión ⁽³⁾ establece umbrales de intervención con el fin de estimular un enfoque proactivo para reducir los niveles de policlorodibenzo-para-dioxinas y policlorodibenzofuranos (PCDD/PCDF), así como de PCB similares a las dioxinas, en los productos alimenticios. Dichos umbrales de intervención son un instrumento que utilizan las autoridades competentes y los agentes económicos para destacar los casos en los que conviene determinar la fuente de contaminación y tomar las medidas necesarias para su reducción o eliminación.
- (3) El Reglamento (UE) n.º 589/2014 de la Comisión ⁽⁴⁾ establece disposiciones específicas sobre los procedimientos de muestreo y los métodos de análisis que deben utilizarse para el control oficial de los niveles de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas.
- (4) 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.º 1881/2006 y la Recomendación 2013/711/UE. Por el contrario, no afectan a la estrategia de muestreo ni a los niveles y la frecuencia del muestreo, tal como se especifican en los anexos III y IV de la Directiva 96/23/CE del Consejo ⁽⁵⁾. Tampoco afectan a los criterios de selección relativos a la toma de muestras que se establecen en la Decisión 98/179/CE de la Comisión ⁽⁶⁾.
- (5) Es conveniente velar por que los explotadores de empresas alimentarias que efectúan los controles previstos en el marco del artículo 4 del Reglamento (CE) n.º 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo ⁽⁷⁾ apliquen unos procedimientos de muestreo equivalentes a los previstos en el presente Reglamento, con el fin de velar por que las muestras tomadas para estos controles sean representativas. Además, el laboratorio de referencia de la Unión Europea para dioxinas y PCB ha proporcionado pruebas de que, en algunos casos, los resultados analíticos no son fiables cuando los laboratorios que realizan los análisis de las muestras tomadas por los explotadores de empresas alimentarias en el marco del artículo 4 del Reglamento (CE) n.º 852/2004 no aplican los criterios de rendimiento establecidos en dicho Reglamento. Por tanto, es conveniente que también sea obligatoria la aplicación de los criterios de rendimiento para los análisis de estas muestras.

⁽¹⁾ DO L 165 de 30.4.2004, p. 1.

⁽²⁾ Reglamento (CE) n.º 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 (DO L 364 de 20.12.2006, p. 5).

⁽³⁾ Recomendación 2013/711/UE de la Comisión, de 3 de diciembre de 2013, relativa a la reducción de los niveles de dioxinas, furanos y PCB en los piensos y los productos alimenticios (DO L 323 de 4.12.2013, p. 37).

⁽⁴⁾ Reglamento (UE) n.º 589/2014 de la Comisión, de 2 de junio de 2014, por el que se establecen métodos de muestreo y de análisis para el control 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 (UE) n.º 252/2012 (DO L 164 de 3.6.2014, p. 18).

⁽⁵⁾ 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 (DO L 125 de 23.5.1996, p. 10).

⁽⁶⁾ 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 (DO L 65 de 5.3.1998, p. 31).

⁽⁷⁾ Reglamento (CE) n.º 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios (DO L 139 de 30.4.2004, p. 1).

- (6) Dado que el enfoque de la utilización de un límite de decisión para garantizar que un resultado analítico esté por encima del contenido máximo con una probabilidad determinada, tal como se establece en la Decisión 2002/657/CE de la Comisión ⁽¹⁾, ya no se aplica al análisis de las dioxinas y los PCB en los productos alimenticios, conviene suprimir este enfoque y mantener únicamente el enfoque de la incertidumbre expandida mediante la utilización de un factor de cobertura de 2, lo que da un nivel de confianza del 95 % aproximadamente.
- (7) En consonancia con los requisitos de información en relación con los métodos bioanalíticos de cribado, es asimismo conveniente prever métodos fisicoquímicos para su utilización en relación con los requisitos de información específicos para el cribado.
- (8) Dado que, en la mayoría de los casos, los análisis de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas se determinan conjuntamente, es conveniente armonizar los criterios de rendimiento para los PCB no similares a las dioxinas con los criterios de rendimiento para las dioxinas y los PCB similares a las dioxinas. Esto es una simplificación, sin cambios sustanciales en la práctica, como en el caso de los PCB no similares a las dioxinas, la intensidad relativa de los iones cualificadores en comparación con los iones objetivo es > 50 %.
- (9) Además, se han propuesto algunas otras modificaciones de menor importancia de las disposiciones actuales, que requieren la derogación del Reglamento (UE) n.º 589/2014 y su sustitución por un nuevo Reglamento para mantener la legibilidad del texto.
- (10) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos.

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.º 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 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.º 1881/2006 se realizarán con arreglo a los métodos establecidos en el anexo III del presente Reglamento.

Artículo 4

Los análisis para el control 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.º 1881/2006 se realizarán con arreglo a los requisitos aplicables a los procedimientos analíticos establecidos en el anexo IV del presente Reglamento.

Artículo 5

Queda derogado el Reglamento (UE) n.º 589/2014.

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

⁽¹⁾ Decisión 2002/657/CE de la Comisión, de 14 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 (DO L 221 de 17.8.2002, p. 8).

Artículo 6

El presente Reglamento entrará en vigor a los veinte días de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

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

Hecho en Bruselas, el 5 de abril de 2017.

Por la Comisión
El Presidente
Jean-Claude JUNCKER

ANEXO I

DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

I. DEFINICIONES

A efectos del presente Reglamento, se aplicarán las definiciones establecidas en el anexo I de la Decisión 2002/657/CE.

Además de las definiciones mencionadas, 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 2013/711/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 de cribado»: los métodos utilizados para la 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. Deberán permitir que se consiga un elevado número de muestras con una buena relación coste-eficacia, aumentando de esa manera la oportunidad de descubrir nuevos casos en los que una alta exposición pueda conducir a riesgos para la salud de los consumidores. Los métodos de cribado deberán basarse en métodos bioanalíticos o CG-EM. Los resultados de las muestras que superen el valor de corte establecido para comprobar el cumplimiento del contenido máximo se verificarán con un nuevo análisis completo de la muestra original utilizando un método de confirmación.
- 1.3. «Métodos de confirmación»: métodos que proporcionan una información completa o complementaria que permite la identificación y cuantificación inequívoca de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas al nivel del contenido máximo o, en caso de necesidad, del umbral de intervención. Estos métodos utilizan la cromatografía de gases/espectrometría de masas de alta resolución (CG-EMAR) o la cromatografía de gases/espectrometría de masas en tándem (CG-EM/EM).
- 1.4. «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 ⁽¹⁾ del nivel de EQT, expresado en equivalentes bioanalíticos (EQB) teniendo en cuenta que no todos los compuestos presentes en un extracto de muestra que producen una respuesta en el ensayo pueden reunir todos los requisitos del principio de EQT.
- 1.5. «Recuperación aparente del bioensayo»: el valor EQB calculado a partir de la curva de calibración de la TCDD o del PCB 126 corregida en función del resultado del ensayo en blanco y dividida después por el valor EQT determinado por el método de confirmación. Con ello se pretende corregir factores como la pérdida de PCDD/PCDF y compuestos similares a las dioxinas durante las fases de extracción y limpieza, los compuestos que se extraen simultáneamente y aumentan o reducen la respuesta (efectos agonista y antagonista), 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 que tengan pautas de congéneres representativas en torno al contenido máximo o el umbral de intervención.
- 1.6. «Análisis por duplicado»: un análisis por separado de los analitos considerados utilizando una segunda parte alícuota de la misma muestra homogeneizada.
- 1.7. «Límite de cuantificación específico aceptado ⁽²⁾ de un congénere individual en una muestra»: el contenido más bajo de un analito que puede medirse con una certeza estadística razonable y que cumple requisitos de identificación como los descritos en normas reconocidas internacionalmente, por ejemplo, en la norma EN 16215:2012 («Alimentos para animales. Determinación de dioxinas, de PCB como dioxinas y de PCB indicadores mediante GC/HRMS») y/o en los métodos EPA 1613 y 1668 modificados.

El límite de cuantificación de cada congénere puede identificarse como:

- a) la concentración de un analito 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 de datos brutos menos sensible,

⁽¹⁾ 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 los receptores 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.

⁽²⁾ Deberán aplicarse, cuando proceda, los principios que se describen en el "Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food" [enlace al sitio web].

- o si, por razones técnicas, el cálculo de señal a ruido no ofrece resultados fiables,
- b) el punto de concentración más bajo en una curva de calibración que presenta una desviación aceptable ($\leq 30\%$) y coherente (medida, al menos, al principio y al final de una serie analítica de muestras) con respecto al factor de respuesta relativo medio calculado para todos los puntos en la curva de calibración en cada serie de muestras ⁽¹⁾.
- 1.8. «Límite superior»: el concepto que exige la utilización del límite de cuantificación para la contribución de cada congénere no cuantificado.
- 1.9. «Límite inferior»: el concepto que exige la utilización de cero para la contribución de cada congénere no cuantificado.
- 1.10. «Límite intermedio»: el concepto que exige la utilización de la mitad del límite de cuantificación para calcular la contribución de cada congénere no cuantificado.
- 1.11. «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 deberá 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.
- 1.12. «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.
- 1.13. «Muestra elemental»: cantidad de material tomada en un único punto del lote o sublote.
- 1.14. «Muestra global»: agregación de todas las muestras elementales tomadas del lote o sublote.
- 1.15. «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
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
EMBR	Espectrometría de masas de baja resolución
EM/EM	Espectrometría de masas en tándem
PCB	Policlorobifenilos
PCB no similares a las dioxinas	PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 y PCB 180
PCDD	Policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas
PCDF	Policlorodibenzofuranos
CC	Control de calidad
REP	Potencia relativa
FET	Factor de equivalencia tóxica
EQT	Equivalentes tóxicos
TCDD	2,3,7,8-Tetraclorodibenzo- <i>p</i> -dioxina
U	Incertidumbre de medida expandida

⁽¹⁾ El límite de cuantificación se calcula a partir del punto de concentración más bajo teniendo en cuenta la recuperación de los patrones internos y la dosis de muestra.

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 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 sublotes de los que se obtengan. La conformidad en lo que respecta a los contenidos máximos fijados en el Reglamento (CE) n.º 1881/2006 se establecerá en función del contenido determinado en las muestras de laboratorio.

Para garantizar el cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 4 del Reglamento (CE) n.º 852/2004, los explotadores de empresas alimentarias, cuando se tomen muestras para controlar los niveles de dioxinas (PCDD/PCDF), PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas, lo harán de conformidad con los métodos descritos en el capítulo III del presente anexo, o bien aplicarán un procedimiento de muestreo equivalente que se haya demostrado que tiene el mismo nivel de representación que el procedimiento de muestreo descrito en el capítulo III del presente anexo.

II. DISPOSICIONES GENERALES**1. Personal**

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

2. Material objeto de muestreo

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

3. Precauciones que deben tomarse

Durante el muestreo y la preparación de las muestras, deberán 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 sub lote. Cuando no se siga este procedimiento, deberá señalarse en el acta contemplada en el punto II.8.

5. Preparación de la muestra global

La muestra global se obtendrá agrupando las muestras elementales. Deberá pesar como mínimo 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 deberá ser suficiente para que puedan hacerse al menos dos análisis.

7. Embalaje y envío de las muestras

Toda muestra deberá colocarse en un recipiente limpio e inerte que ofrezca una protección adecuada contra la contaminación, contra la pérdida de analitos 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

Cada muestra tomada para su uso oficial se precintará en el lugar de muestreo y se identificará según las disposiciones del Estado miembro.

De cada toma de muestras deberá 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. División 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 para productos que se comercializan en partidas a granel

Peso del lote (toneladas)	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 para los demás productos

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

2. Número de muestras elementales

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

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 del muestreo. En este caso, se supondrá 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 parecido. El peso de una muestra elemental deberá 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 ⁽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 litros)	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.

Cuadro 4

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

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

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).

— Cuando 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. Cuando 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.

— Cuando 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.

⁽¹⁾ 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 (DO L 303 de 6.11.1997, p. 12).

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. Cuando la toma de esa muestra en la parte media del pez suponga un daño económico significativo, podrá considerarse suficiente la toma de tres muestras elementales de al menos 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.
- Cuando 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 el peso predominantes. Se considerará que dicha muestra es representativa de todo el lote.
- Cuando no predomine 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 para estos casos.

5. Muestreo en la fase de comercio al por menor

El muestreo de productos alimenticios en la fase de comercio al por menor se realizará, siempre que sea posible, de conformidad con las normas de muestreo establecidas en el punto III.2.

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.

IV. CONFORMIDAD DEL LOTE CON LA ESPECIFICACIÓN

1. Respetto de los PCB no similares a las dioxinas

El lote es conforme si el resultado analítico de la suma de PCB no similares a las dioxinas no supera el contenido máximo respectivo, tal como se establece en el Reglamento (CE) n.º 1881/2006, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida expandida ^(?).

Se considerará que el lote incumple el contenido máximo establecido en el Reglamento (CE) n.º 1881/2006 si la media de los resultados analíticos obtenidos con el análisis por duplicado ^(*), teniendo en cuenta la incertidumbre de medida expandida, supera el contenido máximo más allá de cualquier duda razonable.

La incertidumbre de medida expandida se calcula aplicando un factor de cobertura de 2, lo que da un nivel de confianza de aproximadamente un 95 %. Un lote no es conforme si la media de los valores medidos menos la incertidumbre expandida de la media es superior al contenido máximo establecido.

Las normas mencionadas en los apartados anteriores del presente punto 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 es conforme 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.º 1881/2006,

^(?) https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_dioxins_guidance-sampling_exemples-dec2006_en.pdf

^(*) Deberán aplicarse, cuando proceda, los principios que se describen en el «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [enlace al sitio web].

^(*) El análisis por duplicado es necesario si el resultado de la primera determinación es no conforme. El análisis por duplicado es necesario para descartar la posibilidad de contaminación cruzada interna o de combinación accidental de muestras. En caso de que el análisis se realice durante un incidente de contaminación, la confirmación mediante análisis por duplicado puede omitirse si las muestras seleccionadas para el análisis se pueden relacionar, merced a la trazabilidad, con dicho incidente, y si el nivel encontrado es significativamente superior al contenido máximo.

— 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 establecidos en el Reglamento (CE) n.º 1881/2006, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida expandida ⁽⁵⁾.

Para los ensayos de cribado se fijará un valor de corte para la decisión sobre la conformidad con los correspondientes contenidos máximos 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.º 1881/2006 si la media de los dos resultados analíticos del límite superior (análisis por duplicado ⁽⁶⁾) obtenidos utilizando un método de confirmación, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida expandida, supera el contenido máximo más allá de cualquier duda razonable.

La incertidumbre de medida expandida se calcula aplicando un factor de cobertura de 2, lo que da un nivel de confianza de aproximadamente un 95 %. Un lote no es conforme si la media de los valores medidos menos la incertidumbre expandida de la media es superior al contenido máximo establecido.

Debe utilizarse la suma de las incertidumbres expandidas calculadas de los resultados analíticos obtenidos por separado para PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas para la incertidumbre expandida calculada correspondiente a la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas.

Las normas mencionadas en los apartados anteriores del presente punto 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.

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 deben establecer valores de corte adecuados para seleccionar dichas muestras. Cuando se necesiten esfuerzos significativos para determinar una fuente y reducir o eliminar la contaminación, podría ser pertinente confirmar la superación de los umbrales de intervención mediante un análisis por duplicado utilizando un método de confirmación y teniendo en cuenta la incertidumbre de medida expandida ⁽⁷⁾.

⁽⁵⁾ «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [enlace al sitio web], «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [enlace al sitio web].

⁽⁶⁾ El análisis por duplicado es necesario si el resultado de la primera determinación mediante la aplicación de métodos de confirmación con la utilización del patrón interno marcado con ¹³C para los analitos pertinentes no es conforme. El análisis por duplicado es necesario para descartar la posibilidad de contaminación cruzada interna o de combinación accidental de muestras. En caso de que el análisis se realice durante un incidente de contaminación, la confirmación mediante análisis por duplicado puede omitirse si las muestras seleccionadas para el análisis se pueden relacionar, merced a la trazabilidad, con dicho incidente, y si el nivel encontrado es significativamente superior al contenido máximo.

⁽⁷⁾ Idéntica explicación y requisitos para el análisis por duplicado del control de los umbrales de intervención que en la nota 6 para los contenidos 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. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Los requisitos establecidos en el presente anexo deberán aplicarse en el análisis de los productos alimenticios realizado a efectos del control oficial de los niveles de policlorodibenzo-*p*-dioxinas 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 en lo que respecta a la preparación de las muestras y los requisitos analíticos con otros fines reglamentarios, incluidos los controles llevados a cabo por el explotador de la empresa alimentaria para garantizar el cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 4 del Reglamento (CE) n.º 852/2004.

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

a) *Métodos de cribado*

El objetivo de los métodos de cribado es seleccionar las muestras con niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas que superen los contenidos máximos o los umbrales de intervención. Estos métodos deberán garantizar que se consiga un elevado número de muestras con una buena relación coste-eficacia, aumentando de esa manera la oportunidad de descubrir nuevos incidentes en los que una alta exposición puede conducir a riesgos para la salud de los consumidores. Su aplicación deberá tener como objetivo que no se produzcan falsos negativos. Asimismo, podrán incluir métodos bioanalíticos y de CG/EM.

Los métodos de cribado comparan el resultado analítico con un valor de corte, proporcionando una decisión de tipo sí/no sobre la posible superación del contenido máximo o el umbral de intervención. En las muestras sospechosas de ser no conformes, debe determinarse o confirmarse la concentración de PCDD y PCDF y la suma de PCDD, PCDF y PCB similares a las dioxinas mediante un método de confirmación.

Además, los métodos de cribado podrán dar una indicación de los niveles de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas presentes en la muestra. En caso de aplicación de métodos bioanalíticos de cribado, el resultado se expresa en equivalentes bioanalíticos (EQB), mientras que, en caso de aplicación de métodos CG-EM fisicoquímicos, se expresa en términos de equivalentes tóxicos (EQT). Los resultados de los métodos de cribado indicados de forma numérica son adecuados para demostrar el cumplimiento o la sospecha de incumplimiento, o bien la superación de los umbrales de intervención, y ofrecen una indicación de la serie de niveles en caso de seguimiento mediante métodos de confirmación. No son adecuados para fines tales como la evaluación de los niveles de fondo, la estimación de la dosis, el seguimiento de las tendencias temporales en los niveles o la reevaluación de los umbrales de intervención y los contenidos máximos.

b) *Métodos de confirmación*

Los métodos de confirmación permiten la identificación y cuantificación inequívoca de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas presentes en una muestra y proporcionan información completa sobre la base de los congéneres. Por consiguiente, estos métodos permiten el control de los contenidos máximos y los umbrales de intervención, incluida la confirmación de los resultados obtenidos por los métodos de cribado. Además, los resultados podrán ser utilizados para otros fines, tales como la determinación de los niveles de base en el control de alimentos, el seguimiento de las tendencias temporales, la evaluación de la exposición de la población y la construcción de una base de datos que permita reevaluar los umbrales de intervención y los contenidos máximos. Son importantes también para elaborar patrones de congéneres con objeto de identificar la fuente de una posible contaminación. Estos métodos utilizan CG-EMAR. Para confirmar el cumplimiento o el incumplimiento del contenido máximo, también puede utilizarse CG/EM-EM.

2. ANTECEDENTES

Para calcular las concentraciones de EQT, las concentraciones de cada sustancia en una muestra dada se multiplicarán por sus respectivos 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 en el contenido máximo o el umbral de intervención.

3. 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 en 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.
- Deberá 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 deberá 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 del contenido máximo o el umbral de intervención.
- Los procedimientos concretos de preparación de muestras que se empleen para los productos en cuestión deberán 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 rascarse cuidadosamente para retirarlos por completo y añadirlos a la muestra que vaya a analizarse.

4. REQUISITOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS LABORATORIOS

- De conformidad con lo dispuesto en el Reglamento (CE) n.º 882/2004, los laboratorios deberán 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 deberá efectuarse conforme a la norma EN ISO/IEC 17025. Deberán aplicarse los principios que se describen en las orientaciones técnicas para la estimación de la incertidumbre de medida y los límites de cuantificación para el análisis de PCDD/PCDF y PCB ⁽¹⁾.
- 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 deberán 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.

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

5.1. Intervalo de trabajo y límites de cuantificación bajos

- En el caso de PCDD o PCDF, las cantidades detectables deben encontrarse en el intervalo superior de los femtogramos (10^{-15} g) dada 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).

⁽¹⁾ «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [enlace al sitio web], «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [enlace al sitio web].

5.2. 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 analitos 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 positivos o compuestos que puedan disminuir la respuesta, dando lugar a falsos negativos.

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

- Para los métodos de CG/EM, la determinación deberá 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 analito 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, deberá determinarse la recuperación aparente del bioensayo.

5.4. Validación en el intervalo del contenido máximo y medidas generales de control de calidad

- Los laboratorios deberán demostrar el funcionamiento de un método en el intervalo del contenido máximo, por ejemplo 0,5, una y dos veces el contenido máximo, 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, deberán 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.

5.5. Límite de cuantificación

- Para un método bioanalítico de cribado, no es indispensable establecer el límite de cuantificación, pero el método deberá demostrar que es capaz de distinguir entre el valor en blanco y el valor de corte. Al transmitirse un valor EQB, deberá establecerse un nivel de notificación para decidir qué se hace con las muestras con una respuesta por debajo de ese nivel. Deberá 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, deberá 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 contenido máximo.

5.6. Criterios de análisis

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

	Cribado por métodos bioanalíticos o fisicoquímicos	Métodos de confirmación
Porcentaje de falsos negativos (*)	< 5 %	
Veracidad		- 20 % a + 20 %

	Cribado por métodos bioanalíticos o fisicoquímicos	Métodos de confirmación
Repetibilidad (RSD _d)	< 20 %	
Precisión intermedia (RSD _R)	< 25 %	< 15 %

(*) Con respecto a los contenidos máximos.

5.7. Requisitos específicos para métodos de cribado

- El cribado podrá realizarse tanto utilizando métodos de CG/EM como métodos bioanalíticos. Para los métodos de CG/EM deben aplicarse los criterios establecidos en el punto 6. Para los métodos bioanalíticos en células se establecen requisitos específicos en el punto 7.
- Los laboratorios que aplican métodos de cribado para los controles sistemáticos de muestras cooperarán estrechamente con los que aplican 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 celular y la citotoxicidad.

Un 20 % de los extractos de muestra se medirán a través de un cribado sistemático con y sin adición de TCDD correspondiente al contenido máximo o al umbral de intervención, para comprobar si se ha podido suprimir la respuesta a causa de sustancias interferentes presentes en el extracto de la 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. Los resultados se controlarán por medio de gráficos de control de calidad.

- Control de calidad de muestras conformes

Deberán confirmarse 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.

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

Deberá determinarse el porcentaje de falsos negativos derivado del cribado de muestras por debajo y por encima del contenido máximo o del umbral de intervención. El porcentaje real de falsos negativos deberá ser inferior 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 porcentaje de falsos negativos 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 porcentaje de falsos negativos. Las muestras cubrirán los patrones de congéneres más frecuentes, que representen diversas fuentes.

Aunque el cribado se destina sobre todo a detectar muestras que superan el umbral de intervención, el criterio para determinar el porcentaje de falsos negativos es 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 nuevo análisis completo de la muestra original mediante un método de confirmación. Esas muestras se pueden usar asimismo para evaluar el porcentaje de falsos negativos. Para los métodos de cribado, el porcentaje de falsos resultados negativos es la fracción de resultados cuyo cumplimiento se haya confirmado mediante un análisis de confirmación, 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 positivas con el número total de muestras comprobadas. Ese porcentaje 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 .

6. REQUISITOS ESPECÍFICOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS MÉTODOS CG/EM UTILIZADOS CON FINES DE CRIBADO O DE CONFIRMACIÓN

6.1. **Diferencias aceptables entre los niveles de límite superior y límite inferior de EQT-OMS**

- La diferencia entre el límite superior y el límite inferior no superará el 20 % para la confirmación o la superación del contenido máximo o, en caso de necesidad, de los umbrales de intervención.

6.2. **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 clorosustituídos en las posiciones 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). En los métodos de confirmación, se utilizarán los diecisiete patrones internos de PCDD/PCDF sustituidos en las posiciones 2, 3, 7 y 8 y marcados con ^{13}C , así como los doce patrones internos de PCB similares a las dioxinas marcados con ^{13}C .
- Deberán determinarse asimismo factores de respuesta relativos en el caso de los congéneres para los que no se añade ningún análogo marcado con ^{13}C , empleando las 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 deberán 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 por CG/EM, los porcentajes de recuperación deben situarse en un intervalo del 30 % al 140 %.

6.3. **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 difenílicos 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 deberá ser suficiente (< 25 % de pico a pico entre 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF y 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF).

6.4. **Calibración con curva estándar**

- El intervalo de la curva de calibración cubrirá el intervalo pertinente del contenido máximo o de los umbrales de intervención.

6.5. **Requisitos específicos para métodos de confirmación**

- Para CG/EMAR:

En EMAR, la resolución será normalmente mayor o igual a 10 000 para todo el intervalo de masa a un valle del 10 %.

Cumplimiento de otros criterios de identificación y confirmación, tal como se describen en normas reconocidas internacionalmente, por ejemplo en la norma EN 16215:2012 (Alimentos para animales. Determinación de dioxinas, de PCB como dioxinas y de PCB indicadores mediante GC/HRMS) y/o en los métodos EPA 1613 y 1668 modificados.

— Para CG-EM/EM:

Control de al menos 2 iones precursores específicos, cada uno con un ion de transición correspondiente específico producido para todos los analitos marcados y no marcados en el ámbito de aplicación de los análisis.

Tolerancia máxima permitida de las intensidades relativas del ion de $\pm 15\%$ para iones de transición seleccionados producidos en comparación con los valores calculados o medidos (media de los patrones de calibración), en condiciones idénticas de EM/EM, en particular energía de colisión y presión del gas de colisión, para cada transición de un analito.

La resolución de cada cuadrupolo debe ser igual o superior a la resolución de masa unitaria (resolución de masa unitaria: resolución suficiente para separar dos picos de una unidad de masa) con el fin de minimizar las posibles interferencias con los analitos considerados.

Cumplimiento de otros criterios tal como se describen en normas reconocidas internacionalmente, por ejemplo en la norma EN 16215:2012 (Alimentos para animales. Determinación de dioxinas, de PCB como dioxinas y de PCB indicadores mediante GC/HRMS) y/o en los métodos EPA 1613 y 1668 modificados, excepto la obligación de utilizar CG-EMAR.

7. 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 establece requisitos para los métodos bioanalíticos en general.

Un método de cribado, en principio, clasifica una muestra como conforme o presuntamente no conforme. Para ello, se compara el nivel de EQB calculado con el valor de corte (véase el punto 7.3). Las muestras por debajo del valor de corte se consideran conformes, y las muestras iguales o superiores al valor de corte, presuntamente no conformes, lo que exige un análisis mediante un método de confirmación. En la práctica, un EQB correspondiente a dos tercios del contenido máximo puede servir como valor de corte siempre que se garantice un porcentaje de falsos negativos inferior a 5% y un porcentaje aceptable de falsos positivos. 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 de los umbrales de intervención respectivos.

Si el nivel indicativo se expresa en EQB, los resultados de la muestra deberán presentarse en el intervalo de trabajo y superar el límite de notificación (véanse los puntos 7.1.1 y 7.1.6).

7.1. Evaluación de la respuesta al ensayo

7.1.1. Requisitos generales

— Cuando se calculan las concentraciones a partir de una curva de calibración de TCDD, los valores del límite 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 EC_{70} (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 (véase el punto 7.3) deben encontrarse dentro del intervalo de trabajo.

— Las soluciones estándar y los extractos de muestras deben someterse a ensayo por triplicado o, 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 $CV < 15\%$.

7.1.2. Calibración

7.1.2.1. 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. El valor R^2 , por sí mismo, es de poca ayuda o ninguna para estimar la calidad 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 o 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 contenido máximo o el umbral de intervención). Para llevar a cabo una corrección de recuperación, la recuperación aparente debe situarse siempre dentro del intervalo requerido (véase el punto 7.1.4.). Las muestras de referencia utilizadas para la corrección de recuperación deberán cumplir los criterios establecidos en el punto 7.2.

7.1.2.2. 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 7.2): un blanco de matriz y tres muestras de referencia de 0,5, 1,0 y 2,0 veces el contenido máximo o el umbral de intervención, eliminando así la necesidad de corregir el blanco y la recuperación, si las propiedades de la matriz de las muestras de referencia se corresponden con las de las muestras desconocidas. En este caso, la respuesta correspondiente a dos tercios del contenido máximo (véase el punto 7.3) puede calcularse directamente de estas muestras y utilizarse como valor de corte. Para el control de las muestras que superan los umbrales de intervención, podría tomarse como valor de corte un porcentaje adecuado de estos umbrales.

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

Los extractos pueden dividirse en fracciones que contienen 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.

7.1.4. 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 contenido máximo o al umbral de intervención y expresados en porcentaje del valor EQB en comparación con el nivel de EQT. Según el tipo de ensayo y los FET ⁽¹⁾ utilizados, las diferencias entre el FET y la REP para los PCB similares a las dioxinas pueden producir una baja recuperación aparente en 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 20 % al 60 % para los PCB similares a las dioxinas y 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 reflejan dichos intervalos y se situarán entre el 30 % y el 130 %.

7.1.5. 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 método de confirmación. La recuperación deberá hallarse entre el 60 % y el 120 %, especialmente en el caso de los congéneres que contribuyen con más del 10 % al nivel de EQT en varias mezclas.

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

7.1.6. 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. Se tendrán en cuenta los efectos de la extracción y la limpieza. El límite de comunicación debe establecerse, como mínimo, en el triple del de los análisis en blanco.

7.2. Utilización de muestras de referencia

- Las muestras de referencia deberán representar la matriz de la muestra, las pautas de congéneres y los intervalos de concentración de PCDD, PCDF y PCB similares a las dioxinas en torno al contenido máximo o al umbral 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 del contenido máximo o el umbral de intervención. Esas muestras deben extraerse y analizarse al mismo tiempo y en condiciones idénticas. Como garantía de que el ensayo es adecuado, la muestra de referencia deberá presentar una respuesta claramente superior a la de la muestra en blanco. Esas muestras pueden usarse para la corrección del blanco y de la recuperación.
- Las muestras de referencia elegidas para llevar a cabo una corrección de recuperación deberán ser representativas de las muestras de ensayo, lo que significa que los patrones de congéneres no deberán dar lugar a una subestimación de los niveles.
- Podrán incluirse muestras de referencia suplementarias de, por ejemplo, 0,5 y dos veces el contenido máximo o el umbral de intervención, a fin de demostrar la eficacia del ensayo en el intervalo de referencia para el control del contenido máximo o el umbral de intervención. Combinadas, estas muestras pueden utilizarse para calcular los EQB en las muestras de ensayo (véase el punto 7.1.2.2).

7.3. Determinación de los valores de corte

Deberá establecerse la relación entre los resultados bioanalíticos en EQB y los resultados de los métodos de confirmación 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 (del blanco y de la recuperación) pueden calcularse a partir de esa relación, pero deben comprobarse en cada serie de ensayos incluyendo blanco de procedimiento/de matriz y muestras de recuperación (véase el punto 7.2).

Se establecerán valores de corte para decidir si una muestra es conforme a los contenidos máximos o para controlar los umbrales de intervención, si son considerados, con los respectivos contenidos máximos o umbrales de intervención fijados para PCDD/PCDF o para PCB similares a las dioxinas por separado, 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 del método de confirmación 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 del método de confirmación es el contenido máximo, teniendo en cuenta la incertidumbre de medida expandida.

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

7.3.1. Uso de la banda inferior del intervalo de predicción del 95 % en el límite de decisión del método de confirmación:

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

Donde:

EQB_{DL}	EQB corresponde al límite de decisión del método de confirmación, contenido máximo que tiene en cuenta la incertidumbre de medida expandida
$s_{y,x}$	desviación estándar residual
$t_{\alpha, f = m - 2}$	factor de Student ($\alpha = 5$ %, $f =$ 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 (en EQT) del punto de calibración I determinada por un método de confirmación
- \bar{x} media de las concentraciones (en EQT) de todas las muestras de calibración

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

i = índice del punto de calibración i

- 7.3.2. 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 del método de confirmación, como el criterio de valoración *más bajo* de la distribución de los datos en la correspondiente media de EQB:

$$\text{Valor de corte} = EQB_{DL} - 1,64 \times SD_R$$

Donde:

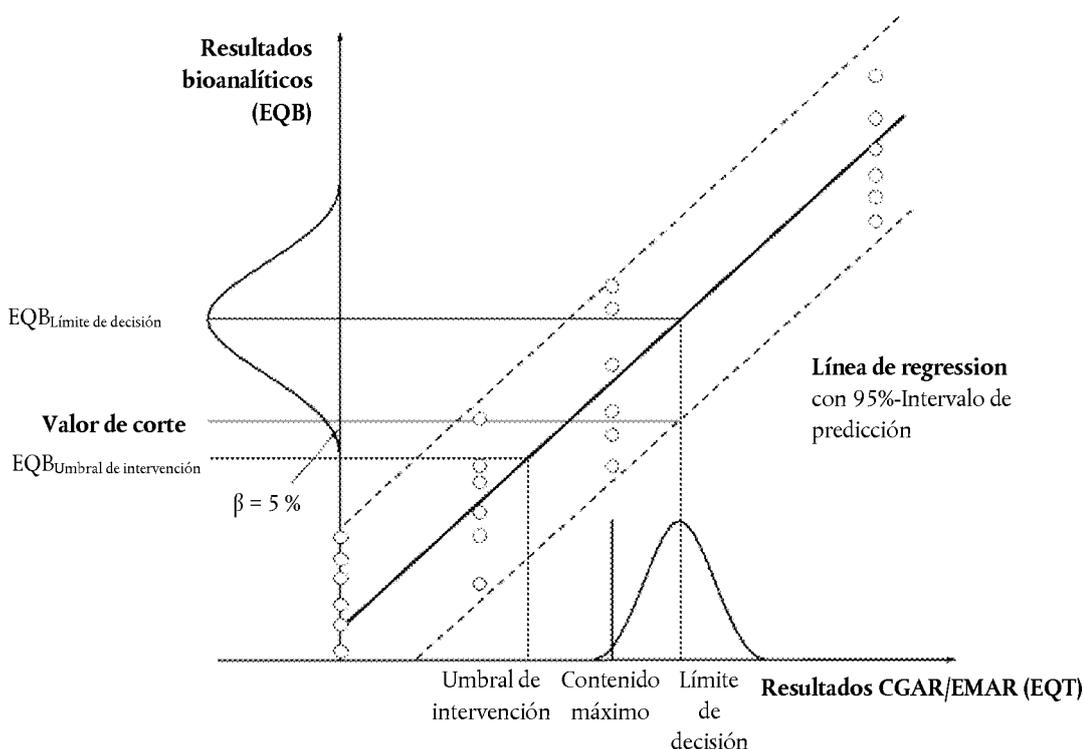
SD_R desviación estándar de los resultados de los bioensayos en EQB_{DL} , medidos en condiciones de reproducibilidad intralaboratorio

- 7.3.3. 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 contenido máximo o el umbral de intervención. Todo ello se desprende al observar que este nivel se halla en torno al valor de corte determinado con arreglo al punto 7.3.1 o al punto 7.3.2.

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) a partir de la banda *inferior* del intervalo de predicción del 95 % en el límite de decisión del método de confirmación;
- 2) a partir de múltiples análisis de muestras ($n \geq 6$) contaminadas en el límite de decisión del método de confirmación, como el criterio de valoración *más bajo* de la distribución de los datos (representado en la figura por una curva en forma de campana) en la correspondiente media de EQB.

Figura 1



7.3.4. 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 contenidos máximos o los umbrales de intervención 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, preferentemente, de los dos tercios del contenido máximo o el umbral de intervención.

7.4. 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 %, sobre la base de los niveles calculados en EQB tras la corrección en función del blanco y de la recuperación.
- Como parte del proceso de validación, tendrá que demostrarse que las pruebas permiten discriminar entre una muestra en blanco y un contenido en el valor de corte, de modo que puedan identificarse las muestras con contenido superior al correspondiente valor de corte (véase el punto 7.1.2).
- Deberán identificarse claramente los compuestos diana, las posibles interferencias y los contenidos máximos tolerables de blanco.
- La desviación porcentual estándar de la respuesta o la 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 podrá ser superior al 15 %.
- Los resultados no corregidos de la muestra o las muestras de referencia expresados en EQB (en blanco y en el contenido máximo o umbral de intervención) se utilizarán para evaluar el funcionamiento del método bioanalítico en un intervalo de tiempo constante.
- Los controles en blanco y cada tipo de muestras de referencia se registrarán en fichas de control y se comprobarán para verificar que el análisis cumple los requisitos de funcionamiento; los controles en blanco, en particular, con respecto a la requerida diferencia mínima con el extremo inferior del intervalo de trabajo, y las muestras de referencia, en cuanto a la reproducibilidad intralaboratorio. Deben controlarse bien los blancos de procedimiento con objeto de evitar falsos negativos cuando se restan.
- Deberán recogerse los resultados de los análisis por métodos de confirmación de las muestras sospechosas y del 2 % al 10 % de las muestras conformes (veinte muestras como mínimo por matriz) 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 porcentaje 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.

8. NOTIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS

Métodos de confirmación

- Los resultados del análisis deberán incluir los niveles de los congéneres individuales de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas y los valores de EQT deberán 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.
- La notificación deberá 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 matrices 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.

- Deberán indicarse los porcentajes de recuperación de cada patrón interno en caso de que estén fuera del intervalo mencionado en el punto 6.2 cuando se supere el contenido máximo (en este caso, las recuperaciones de uno de los dos análisis por duplicado) 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 expandida, también se indicará este parámetro. Así pues, los resultados analíticos deben expresarse como $x \pm U$, donde x es el resultado analítico y U es la incertidumbre de medida expandida, aplicando un factor de cobertura de 2, que ofrece un nivel de confianza aproximado del 95 %. Si se determinan por separado PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas, para establecer su suma se utilizará la suma de la incertidumbre expandida estimada de los resultados analíticos obtenidos por separado para PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas.
- Los resultados deberán expresarse en las mismas unidades y con el mismo número de cifras significativas que los contenidos máximos establecidos en el Reglamento (CE) n.º 1881/2006.

Métodos bioanalíticos de cribado

- El resultado del cribado se expresará como conforme o presuntamente no conforme («sospechoso»).
- Además, podrá indicarse un resultado indicativo para PCDD/PCDF y/o PCB similares a las dioxinas expresado en EQB (no en EQT) (véase el punto 1). Las muestras con una respuesta inferior al límite de notificación se expresarán como inferiores a dicho límite. Las muestras cuya respuesta sea superior al intervalo de trabajo se notificarán como muestras que superan el intervalo de trabajo y el nivel correspondiente al límite superior del intervalo de trabajo se expresará en EQB.
- Para cada tipo de matriz de la muestra, la notificación mencionará el contenido máximo o el umbral de intervención en el que se basa la evaluación.
- La notificación mencionará el tipo de ensayo realizado, sus principios básicos y el tipo de calibración.
- La notificación indicará, 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 matrices 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.
- En el caso de las muestras presuntamente no conformes, la notificación debe incluir una nota sobre las medidas que deben tomarse. La concentración de PCDD/PCDF y de la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en esas muestras con niveles elevados debe determinarse o confirmarse mediante un método de confirmación.
- Los resultados no conformes únicamente se notificarán a partir de análisis de confirmación.

Métodos fisicoquímicos de cribado

- El resultado del cribado se expresará como conforme o presuntamente no conforme («sospechoso»).
- Para cada tipo de matriz de la muestra, la notificación mencionará el contenido máximo o el umbral de intervención en el que se basa la evaluación.
- Además, podrán indicarse los niveles de los congéneres individuales de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas y los valores de EQT comunicados como límite inferior, límite superior y límite intermedio. Los resultados deberán 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.º 1881/2006.
- Deberán indicarse los porcentajes de recuperación de cada patrón interno en caso de que estén fuera del intervalo mencionado en el punto 6.2, así como en otros casos cuando se solicite.
- El informe mencionará el método CG-EM aplicado.
- La notificación indicará, 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 matrices 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.

-
- En el caso de las muestras presuntamente no conformes, la notificación debe incluir una nota sobre las medidas que deben tomarse. La concentración de PCDD/PCDF y de la suma de PCDD/PCDF y PCB similares a las dioxinas en esas muestras con niveles elevados debe determinarse o confirmarse mediante un método de confirmación.
 - La no conformidad solamente puede decidirse tras realizar un análisis de confirmación.
-

Apéndice

FET-OMS para la evaluación del riesgo para la salud humana basados en las conclusiones de la reunión de expertos del Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), celebrada en Ginebra en junio de 2005 ⁽¹⁾.

Congéneres	Valor FET	Congéneres	Valor FET
Dibenzo-p-dioxinas («PCDD»)		<i>PCB «similares a las dioxinas»</i>	
		PCB no-orto + PCB mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB no-orto	
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»)		PCB mono-orto	
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 utilizadas: «T» = tetra; «Pe» = penta; «Hx» = hexa; «Hp» = hepta; «O» = octa; «CDD» = clorodibenzodioxina; «CDF» = clorodibenzofurano; «CB» = clorobifenilo.			

⁽¹⁾ 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).

ANEXO IV

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y REQUISITOS APLICABLES A LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS UTILIZADOS EN EL CONTROL OFICIAL DE LOS NIVELES DE PCB NO SIMILARES A LAS DIOXINAS EN DETERMINADOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS

Los requisitos establecidos en el presente anexo deberán aplicarse en el análisis de los productos alimenticios realizado a efectos del control oficial de los niveles de PCB no similares a las dioxinas, y en lo que respecta a la preparación de las muestras y los requisitos analíticos con otros fines reglamentarios, incluidos los controles llevados a cabo por el explotador de la empresa alimentaria para garantizar el cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 4 del Reglamento (CE) n.º 852/2004.

Las disposiciones relativas a la preparación de las muestras que se establecen en el punto 3 del anexo III del presente Reglamento también serán aplicables al control de los niveles de PCB no similares a las dioxinas en los alimentos.

1. Métodos de detección aplicables:

Cromatografía de gases con detección por captura electrónica (CG/ECD), CG/EMBR, CG/EM-EM, CG/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 PCB no similares a las dioxinas (de las 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 ⁽¹⁾).
- Para las técnicas de CG/EM:
 - Control de al menos el siguiente número de iones moleculares o iones característicos del agregado molecular:
 - dos iones específicos en el caso de la EMAR,
 - tres iones específicos en el caso de la EMBR,
 - dos iones precursores específicos, cada uno con un ion de transición correspondiente específico producido 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 calificadores: ± 15 %.
- Para la CG/ECD:

Confirmación de los resultados que superen el contenido máximo con dos columnas de CG con fases estacionarias de polaridad diferente.

3. Demostración del funcionamiento del método:

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

4. Límite de cuantificación:

La suma de los límites de cuantificación ⁽²⁾ de los PCB no similares a las dioxinas no deberá superar un tercio del contenido máximo ⁽³⁾.

5. Control de calidad:

Controles en blanco a intervalos regulares, análisis de muestras enriquecidas, muestras para el control de la calidad y participación en estudios interlaboratorios con las matrices pertinentes.

⁽¹⁾ Los congéneres que suelen eluir conjuntamente son, por ejemplo, los PCB 28/31, los 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.

⁽²⁾ Deberán aplicarse, cuando proceda, los principios que se describen en el «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [enlace al sitio web].

⁽³⁾ 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 analitos 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 PCB no similares a las dioxinas marcados con isótopos:
 - corrección de resultados para recuperaciones de patrones internos,
 - recuperaciones generalmente aceptables de patrones internos marcados con isótopos entre el 60 % y el 120 %,
 - son aceptables recuperaciones inferiores o superiores para congéneres individuales con una contribución para la suma de los PCB no similares a las dioxinas inferior a 10 %.
- Requisitos para los métodos que no utilizan los seis patrones internos marcados con isótopos u otros patrones internos:
 - control de la recuperación del patrón o los patrones internos para cada muestra,
 - recuperaciones aceptables del patrón o los patrones internos 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 contenido máximo. Los porcentajes de recuperación aceptables para esos congéneres se sitúan entre el 60 % y el 120 %.

7. Requisitos que deben cumplir los laboratorios:

De conformidad con lo dispuesto en el Reglamento (CE) n.º 882/2004, los laboratorios deberán 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 deberá efectuarse conforme a la norma EN ISO/IEC 17025. Además, deberán aplicarse, en su caso, los principios que se describen en las orientaciones técnicas para la estimación de la incertidumbre de medida y los límites de cuantificación para el análisis de PCB ⁽¹⁾.

8. Características de funcionamiento: criterios para la suma de PCB no similares a las dioxinas en el contenido máximo:

	Espectrometría de masas con dilución isotópica (*)	Otras técnicas
Veracidad	- 20 a + 20 %	- 30 a + 30 %
Precisión intermedia (RSD _R)	≤ 15 %	≤ 20 %
Diferencia entre el cálculo del límite superior y del límite inferior	≤ 20 %	≤ 20 %

(*) Es preciso utilizar los seis análogos marcados con ¹³C como patrones internos.

9. Notificación de los resultados

- Los resultados del análisis deberán incluir los niveles de los congéneres individuales de PCB no similares a las dioxinas y la suma de PCB no similares a las dioxinas, indicados 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.

⁽¹⁾ «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [enlace al sitio web], «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [enlace al sitio web].

- La notificación deberá 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 matrices 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 expandida, también se indicará este parámetro. Así pues, los resultados analíticos deben expresarse como $x \pm U$, donde x es el resultado analítico y U es la incertidumbre de medida expandida, aplicando un factor de cobertura de 2, que ofrece un nivel de confianza aproximado del 95 %.
 - Los resultados deberán expresarse en las mismas unidades y con el mismo número de cifras significativas que los contenidos máximos establecidos en el Reglamento (CE) n.º 1881/2006.
-