

REGOLAMENTO (CE) N. 1883/2006 DELLA COMMISSIONE**del 19 dicembre 2006****che stabilisce i metodi di campionamento e d'analisi per il controllo ufficiale dei livelli di diossine e di PCB diossina-simili in alcuni prodotti alimentari****(Testo rilevante ai fini del SEE)**

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità europea,

visto il regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali ⁽¹⁾, in particolare l'articolo 11, paragrafo 4,

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione, del 19 dicembre 2006, che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari ⁽²⁾ stabilisce i tenori massimi per le diossine e per i furani e per la somma di diossine, furani e PCB diossina-simili in alcuni prodotti alimentari.
- (2) La direttiva 2002/69/CE della Commissione, del 30 luglio 2002, che stabilisce i metodi di campionamento e d'analisi per il controllo ufficiale di diossine e la determinazione di PCB diossina-simili nei prodotti alimentari ⁽³⁾ stabilisce disposizioni specifiche relative ai metodi di campionamento e di analisi da applicare ai fini del controllo ufficiale.
- (3) Per applicare i nuovi livelli massimi per la somma di diossine, furani e PCB diossina-simili è necessario modificare la direttiva 2002/69/CE. A fini di chiarezza, è opportuno sostituire la direttiva 2002/69/CE con il presente regolamento.
- (4) Le disposizioni stabilite nel presente regolamento si riferiscono unicamente al prelievo di campioni e all'analisi di diossine e PCB diossina-simili ai fini dell'attuazione del regolamento (CE) n. 1881/2006 e non pregiudicano la strategia di campionamento, i livelli e la frequenza dei prelievi quali indicati negli allegati III e IV della direttiva

96/23/CE del Consiglio, del 29 aprile 1996, concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti e che abroga le direttive 85/358/CEE e 86/469/CEE e le decisioni 89/187/CEE e 91/664/CEE ⁽⁴⁾. Esse non pregiudicano peraltro i criteri per il prelievo mirato di campioni prescritto dalla decisione 98/179/CE della Commissione, del 23 febbraio 1998, recante modalità d'applicazione per il prelievo ufficiale di campioni al fine della sorveglianza su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei prodotti di origine animale ⁽⁵⁾.

- (5) Sarebbe opportuno impiegare un metodo di screening ad alto rendimento, di comprovata validità e ampiamente accettato per selezionare i campioni che presentano livelli significativi di diossine e di PCB diossina-simili, livelli che occorre poi determinare tramite un metodo di conferma. Occorre pertanto stabilire criteri severi per il metodo di conferma e criteri minimi per il metodo di screening.
- (6) Per il campionamento di pesci di grandi dimensioni, è necessario specificare le modalità di campionamento al fine di garantire un'impostazione armonizzata in tutta la Comunità.
- (7) Nei pesci della stessa specie e originari della medesima regione, il livello di diossine e di PCB diossina-simili può variare in funzione delle dimensioni o dell'età dei pesci. Inoltre, il livello di diossine e di PCB diossina-simili non risulta necessariamente identico in tutte le parti del pesce. Per il campionamento dei pesci, è pertanto necessario specificare le modalità di campionamento e di preparazione dei campioni al fine di garantire un'impostazione armonizzata in tutta la Comunità.
- (8) È estremamente importante che i risultati analitici siano riferiti e interpretati in modo uniforme per assicurare un'attuazione armonizzata in tutta la Comunità.
- (9) Le misure previste nel presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali,

⁽¹⁾ GU L 165 del 30.4.2004, pag. 1; rettifica nella GU L 191 del 28.5.2004, pag. 1. Regolamento modificato dal regolamento (CE) n. 776/2006 della Commissione (GU L 136 del 24.5.2006, pag. 3).

⁽²⁾ Cfr. pagina 5 della presente Gazzetta ufficiale.

⁽³⁾ GU L 209 del 6.8.2002, pag. 5. Direttiva modificata da ultimo dalla direttiva 2004/44/CE (GU L 113 del 20.4.2004, pag. 17).

⁽⁴⁾ GU L 125 del 23.5.1996, pag. 10. Direttiva modificata da ultimo dal regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio (GU L 165 del 30.4.2004, pag. 1; rettifica nella GU L 191 del 28.5.2004, pag. 1).

⁽⁵⁾ GU L 65 del 5.3.1998, pag. 31. Decisione modificata dall'atto di adesione del 2003.

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

I campioni destinati al controllo ufficiale dei livelli di diossine, furani e PCB diossina-simili nei prodotti alimentari di cui alla sezione 5 dell'allegato del regolamento (CE) n. 1881/2006 devono essere prelevati secondo le modalità descritte nell'allegato I del presente regolamento.

Articolo 2

I campioni destinati al controllo ufficiale dei livelli di diossine, furani e PCB diossina-simili nei prodotti alimentari di cui alla sezione 5 dell'allegato del regolamento (CE) n. 1881/2006 de-

vono essere preparati ed analizzati secondo le modalità descritte nell'allegato II del presente regolamento.

Articolo 3

La direttiva 2002/69/CE è abrogata. I riferimenti alla direttiva abrogata si intendono fatti al presente regolamento.

Articolo 4

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Esso si applica a decorrere dal 1° marzo 2007.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 19 dicembre 2006.

Per la Commissione

Markos KYPRIANOU

Membro della Commissione

ALLEGATO I

METODI DI CAMPIONAMENTO PER IL CONTROLLO UFFICIALE DEI LIVELLI DI DIOSSINE (PCDD/PCDF) E DI PCB DIOSSINA-SIMILI IN ALCUNI PRODOTTI ALIMENTARI**1. CAMPO D'APPLICAZIONE**

I campioni destinati al controllo ufficiale dei livelli di diossine (PCDD/PCDF) e di PCB diossina-simili nei prodotti alimentari sono prelevati secondo le modalità indicate nel presente allegato. I campioni globali così ottenuti sono considerati rappresentativi delle partite o sottopartite da cui sono prelevati. Il rispetto dei livelli massimi stabiliti nel regolamento (CE) n. 1881/2006, che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari, viene stabilito in base ai livelli determinati nei campioni di laboratorio.

2. DEFINIZIONI

Partita: quantità identificabile di prodotto alimentare, consegnato in una sola volta e per il quale è accertata dall'addetto al controllo ufficiale la presenza di caratteristiche comuni, quali l'origine, la varietà, il tipo d'imballaggio, il confezionatore, lo speditore o la marcatura. Nel caso del pesce e dei prodotti della pesca, devono essere comparabili anche le dimensioni. Qualora le dimensioni e/o il peso del pesce non siano comparabili all'interno di una stessa consegna, quest'ultima può ancora essere considerata una partita, ma è necessario applicare modalità di campionamento specifiche.

— Sottopartita: porzione di una partita di grandi dimensioni designata per essere sottoposta a campionamento secondo le modalità stabilite. Ogni sottopartita deve essere fisicamente separata e identificabile.

— Campione elementare: quantitativo di materiale prelevato in un solo punto della partita o della sottopartita.

— Campione globale: campione ottenuto riunendo tutti i campioni elementari prelevati dalla partita o dalla sottopartita.

— Campione di laboratorio: parte/quantità rappresentativa del campione globale destinata al laboratorio.

3. DISPOSIZIONI GENERALI**3.1. Personale**

Il prelievo deve essere effettuato da personale qualificato, secondo le norme vigenti nello Stato membro.

3.2. Prodotto da campionare

Ciascuna partita o sottopartita da analizzare è oggetto di campionamento separato.

3.3. Precauzioni da prendere

Durante il campionamento e la preparazione dei campioni, occorre prendere precauzioni per evitare qualsiasi alterazione che possa modificare il tenore di diossine e di PCB diossina-simili, compromettendo le analisi o la rappresentatività dei campioni globali.

3.4. Campioni elementari

I campioni elementari devono essere prelevati per quanto possibile in vari punti distribuiti nell'insieme della partita o della sottopartita. Qualsiasi deroga a tale norma va segnalata nel verbale di cui al punto 3.8 del presente allegato.

3.5. Preparazione del campione globale

Il campione globale viene ottenuto mescolando i campioni elementari. È di almeno 1 kg, a meno che ciò sia poco pratico, ad esempio, nel caso di campionamento di una singola confezione.

3.6. Campioni replicati

I campioni replicati in esecuzione di provvedimenti amministrativi o giudiziari, a fini commerciali o per procedure arbitrali sono prelevati dal campione globale omogeneizzato, a condizione che tale procedura sia conforme alla legislazione vigente nello Stato membro in materia di diritti degli operatori del settore alimentare. Le dimensioni dei campioni di laboratorio devono essere tali da consentire almeno lo svolgimento di analisi duplici.

3.7. Confezionamento e invio dei campioni

Ciascun campione va collocato in un recipiente pulito, di materiale inerte, che lo protegga adeguatamente contro qualsiasi fattore di contaminazione, dalla perdita di analiti per assorbimento nella parete interna del recipiente e dai danni che potrebbero essere causati dal trasporto. Sono prese tutte le precauzioni necessarie ad evitare alterazioni della composizione del campione durante il trasporto o la conservazione.

3.8. Sigillatura ed etichettatura dei campioni

Ogni campione ufficiale viene sigillato sul luogo del prelievo e identificato secondo le prescrizioni vigenti nello Stato membro.

Per ciascun prelievo di campione è redatto un verbale di campionamento che consenta di identificare con certezza la partita campionata e che indichi la data e il luogo del campionamento, nonché qualsiasi informazione supplementare utile all'analista.

4. MODALITÀ DI CAMPIONAMENTO

Il metodo di prelievo applicato deve assicurare che il campione globale sia rappresentativo della partita o della sottopartita che deve essere controllata.

4.1. Divisione delle partite in sottopartite

Le partite di grandi dimensioni vengono suddivise in sottopartite purché le sottopartite possano essere separate fisicamente. La tabella 1 si applica alle grandi consegne di prodotti commercializzati sfusi (ad esempio, oli vegetali). Per gli altri prodotti si applica la tabella 2. Dato che il peso delle partite non è sempre un multiplo esatto di quello delle sottopartite, quest'ultimo può superare il peso indicato al massimo del 20 %.

Tabella 1

Suddivisione delle partite in sottopartite per i prodotti commercializzati sfusi

Peso della partita (in tonnellate)	Peso o numero delle sottopartite
$\geq 1\,500$	500 tonnellate
> 300 e $< 1\,500$	3 sottopartite
≥ 50 e ≤ 300	100 tonnellate
< 50	—

Tabella 2

Suddivisione delle partite in sottopartite per gli altri prodotti

Peso della partita (in tonnellate)	Peso o numero delle sottopartite
≥ 15	15-30 tonnellate
< 15	—

4.2. Numero dei campioni elementari

Il peso del campione globale che riunisce tutti i campioni elementari deve essere di almeno 1 kg (cfr. punto 3.5 del presente allegato).

Il numero minimo di campioni elementari da prelevare da una partita o da una sottopartita è indicato nelle tabelle 3 e 4.

Nel caso di prodotti liquidi sfusi la partita (o la sottopartita) viene accuratamente mescolata, per quanto possibile, e nella misura in cui la qualità del prodotto non viene alterata, manualmente o con mezzi meccanici immediatamente prima del prelievo. In tal caso si può presumere che i contaminanti siano distribuiti omogeneamente all'interno della partita o della sottopartita. È quindi sufficiente prelevare tre campioni elementari dalla partita o dalla sottopartita per formare il campione globale.

I campioni elementari sono di peso analogo. Ciascun campione elementare deve pesare almeno 100 grammi.

Qualsiasi deroga a tale norma va segnalata nel verbale di cui al punto 3.8 del presente allegato. Secondo quanto disposto dalla decisione 97/747/CE della Commissione, del 27 ottobre 1997, che fissa i livelli e le frequenze di prelievo di campioni, previsti dalla direttiva 96/23/CE del Consiglio, per il controllo di talune sostanze e dei loro residui in alcuni prodotti di origine animale ⁽¹⁾, un campione globale di uova di gallina è costituito da almeno 12 uova (per partite sfuse e per partite formate da confezioni singole, si vedano le tabelle 3 e 4).

⁽¹⁾ GU L 303 del 6.11.1997, pag. 12.

Tabella 3

Numero minimo di campioni elementari da prelevare da una partita o da una sottopartita

Peso o volume della partita/sottopartita (in kg o l)	Numero minimo di campioni elementari da prelevare
< 50	3
da 50 a 500	5
> 500	10

Se la partita o la sottopartita è costituita da confezioni singole o unità, il numero di confezioni o di unità che va prelevato per formare un campione globale è indicato nella tabella 4.

Tabella 4

Numero di confezioni o unità (campioni elementari) da prelevare per formare il campione globale se la partita o la sottopartita è costituita da confezioni singole o unità

Numero di confezioni o unità nella partita/sottopartita	Numero di confezioni o unità da prelevare
da 1 a 25	almeno 1 confezione o unità
da 26 a 100	il 5 % circa, almeno 2 confezioni o unità
> 100	il 5 % circa, massimo 10 confezioni o unità

4.3. Modalità specifiche di prelievo dei campioni di partite contenenti pesci interi di dimensioni e peso comparabili

Si ritiene che i pesci abbiano dimensioni e peso comparabili se le differenze di dimensioni e peso non superano il 50 % circa.

Il numero di campioni elementari da prelevare dalla partita è definito alla tabella 3. Il campione globale che raggruppa tutti i campioni elementari deve pesare almeno 1 kg (cfr. punto 3.5).

- Se la partita da cui viene prelevato il campione è costituita da pesci di piccole dimensioni (singoli pesci che pesano < 1 kg circa), il pesce intero viene prelevato come campione elementare per formare il campione globale. Se il campione globale che ne risulta pesa più di 3 kg, i campioni elementari possono essere costituiti dalla parte centrale, del peso di almeno 100 grammi, dei pesci che formano il campione globale. La parte intera cui viene applicato il livello massimo viene utilizzata per l'omogeneizzazione del campione.

La parte centrale del pesce è quella in cui si trova il centro di gravità. Nella maggior parte dei casi è situata in corrispondenza della pinna dorsale (qualora il pesce ne abbia una) o a metà strada fra l'apertura branchiale e l'ano.

- Se la partita da cui viene prelevato il campione è costituita da pesci di maggiori dimensioni (singoli pesci che pesano più di 1 kg circa), il campione elementare consiste nella parte centrale del pesce. Il peso di un campione elementare deve essere di almeno 100 grammi.

Nel caso di pesci di dimensioni intermedie (da 1 a 6 kg circa) il campione elementare è costituito da una porzione prelevata dalla spina dorsale al ventre, nella parte centrale del pesce.

Nel caso di pesci di dimensioni molto grandi (ad esempio > 6 kg circa), il campione elementare viene prelevato dal muscolo dorsolaterale destro (vista frontale) nella parte centrale del pesce. Qualora il prelievo di questa porzione dalla parte centrale del pesce comporti un considerevole danno economico, può essere sufficiente prelevare tre campioni elementari di almeno 350 grammi ciascuno, indipendentemente dalle dimensioni della partita, o in alternativa è possibile prelevare una parte equivalente del muscolo vicino alla coda e del muscolo vicino alla testa di un pesce per formare il campione elementare rappresentativo del livello di diossine nell'intero pesce.

4.4. Campionamento di partite di pesce contenenti pesci di dimensioni e/o peso differenti

- Si applicano le disposizioni di cui al punto 4.3 per la costituzione del campione.
- Qualora predomini una classe/categoria di dimensioni o peso (l'80 % circa o più della partita) il campione è prelevato dai pesci appartenenti alla classe/categoria predominante. Tale campione è considerato rappresentativo dell'intera partita.
- Qualora non predomini una particolare classe/categoria di dimensioni o peso, occorre assicurarsi che i pesci selezionati per il campione siano rappresentativi della partita. Il documento «Guidance document for the sampling of lots of fish containing whole fishes of different size and/or weight» ⁽¹⁾ fornisce orientamenti specifici per questo tipo di situazioni.

4.5. Campionamento nella fase della distribuzione al dettaglio

Il prelievo di campioni di prodotti alimentari nella fase della distribuzione al dettaglio deve essere conforme, nella misura del possibile, alle disposizioni di campionamento di cui al punto 4.2 del presente allegato.

Ove ciò non sia possibile si possono adottare altre procedure di prelievo in questa fase, purché garantiscano una sufficiente rappresentatività della partita o della sottopartita oggetto di campionamento.

5. CONFORMITÀ DELLA PARTITA O DELLA SOTTOPARTITA ALLE SPECIFICHE

La partita è accettata se il risultato di una singola analisi non supera il rispettivo livello massimo di diossine e della somma di diossine e di PCB diossina-simili fissato dal regolamento (CE) n. 1881/2006, tenendo conto dell'incertezza della misura.

La partita non è conforme al livello massimo stabilito dal regolamento (CE) n. 1881/2006 se il risultato analitico con il limite superiore ⁽²⁾, confermato da una doppia analisi ⁽³⁾, supera il livello massimo oltre ogni ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza della misura.

Si tiene conto dell'incertezza della misura in base ad una delle seguenti modalità:

- calcolando l'incertezza estesa, utilizzando un fattore di copertura di 2 corrispondente ad un livello di affidabilità del 95 % circa. Una partita o sottopartita non è conforme se il valore misurato meno U supera il livello consentito che è stato stabilito. Qualora le diossine e i PCB diossina-simili siano oggetto di determinazioni separate, per la somma di entrambi si utilizza la somma dell'incertezza estesa stimata dei risultati analitici ottenuti separatamente per le diossine e i PCB diossina-simili,
- stabilendo il limite della decisione (CCa) conformemente alle disposizioni della decisione 2002/657/CE della Commissione, del 12 agosto 2002, che attua la direttiva 96/23/CE del Consiglio relativa al rendimento dei metodi analitici e all'interpretazione dei risultati ⁽⁴⁾ (punto 3.1.2.5 dell'allegato — caso di sostanze per le quali è stato stabilito un limite consentito). Una partita o sottopartita non è conforme se il valore misurato è pari o superiore al CCa.

Le presenti norme di interpretazione vanno applicate ai risultati analitici ottenuti dal campione destinato al controllo ufficiale. Nel caso di analisi a fini di ricorso o arbitraggio si applica la normativa nazionale.

⁽¹⁾ http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm

⁽²⁾ Per il calcolo del «limite superiore», si suppone che il contributo all'equivalente tossico (TEQ) di ogni congenere non quantificato sia uguale al limite di quantificazione.

Per il calcolo del «limite inferiore», si suppone che il contributo al TEQ di ogni congenere non quantificato sia uguale a zero. Per il calcolo del «valore intermedio», si suppone che il contributo al TEQ di ogni congenere non quantificato sia uguale alla metà del limite di quantificazione.

⁽³⁾ La doppia analisi è necessaria per escludere la possibilità di una contaminazione incrociata interna o di scambio accidentale dei campioni. La prima analisi, che tiene conto dell'incertezza della misura, è utilizzata per verificare la conformità. Qualora l'analisi avvenga nell'ambito di un incidente di contaminazione da diossina, è possibile omettere la conferma mediante doppia analisi se i campioni selezionati per l'analisi possono essere associati, grazie alla tracciabilità, a tale incidente.

⁽⁴⁾ GU L 221 del 17.8.2002, pag. 8. Decisione modificata dalla decisione 2004/25/CE (GU L 6 del 10.1.2004, pag. 38).

ALLEGATO II

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI E PRESCRIZIONI PER I METODI D'ANALISI IMPIEGATI NEL CONTROLLO UFFICIALE DEI LIVELLI DI DIOSSINE (PCDD/PCDF) E DI PCB DIOSSINA-SIMILI IN ALCUNI PRODOTTI ALIMENTARI**1. CAMPO D'APPLICAZIONE**

Le prescrizioni di cui al presente allegato si applicano all'analisi di prodotti alimentari nell'ambito dei controlli ufficiali del tenore di diossine [policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF)] e di PCB diossina-simili.

Il controllo della presenza di diossine nei prodotti alimentari può essere effettuato mediante una strategia che preveda un metodo di screening per selezionare i campioni con livelli di diossine e di PCB diossina-simili inferiori di un valore al di sotto del 25 % o superiori al livello massimo. Occorre poi determinare/confermare la concentrazione di diossine e la somma di diossine e di PCB diossina-simili nei campioni con livelli significativi tramite un metodo di conferma.

I metodi di screening sono impiegati per rilevare la presenza di diossine e PCB diossina-simili ai livelli considerati. Essi sono dotati di una grande capacità di trattamento di campioni, il che consente di passare al vaglio un'elevata quantità di campioni per ricercare quelli che potrebbero rivelarsi positivi. Questi metodi sono specialmente concepiti in modo da evitare i falsi risultati negativi.

I metodi di conferma forniscono informazioni complete o complementari che consentono di individuare e quantificare in maniera inequivocabile le diossine e i PCB diossina-simili al livello d'interesse.

2. CONTESTO

Le concentrazioni delle singole sostanze in un dato campione vengono dapprima moltiplicate per i rispettivi fattori di tossicità equivalente (TEF), quali stabiliti dall'Organizzazione mondiale della sanità ed elencati nell'appendice del presente allegato, e poi sommate per ottenere la concentrazione totale dei composti diossina-simili espressi in equivalenti tossici (TEQ).

Ai fini del presente regolamento, il limite specifico accettato di quantificazione di un singolo congenere è la concentrazione di un analita nell'estratto di un campione che produce una risposta strumentale a due ioni differenti, da controllare con un rapporto S/R (segnale/rumore) di 3:1 per il segnale meno sensibile e rispetta i requisiti di base, quali, ad esempio, il tempo di ritenzione e il rapporto isotopico, secondo la procedura di determinazione descritta nel metodo EPA 1613, revisione B.

3. PRESCRIZIONI DI GARANZIA DELLA QUALITÀ DA RISPETTARE NELLA PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Occorre adottare misure per evitare qualsiasi contaminazione incrociata durante ogni fase del campionamento e dell'analisi.
- I campioni devono essere conservati e trasportati in appositi contenitori di vetro, alluminio, polipropilene o polietilene, dopo avere rimosso eventuali tracce di polvere di carta dal contenitore. Gli strumenti in vetro devono essere risciacquati con solventi certificati esenti da diossine o previamente sottoposti a un controllo volto a determinare la presenza di diossine.
- La conservazione e il trasporto devono svolgersi in modo da preservare l'integrità del campione alimentare.
- Se necessario, macinare finemente e mescolare bene ogni campione di laboratorio ricorrendo a un metodo che garantisca una completa omogeneizzazione (ad esempio, macinazione che consenta al materiale di passare attraverso un setaccio a maglie di 1 mm); prima della macinazione, i campioni devono essere asciugati, nel caso il livello di umidità sia troppo elevato.
- Occorre eseguire un'analisi in bianco, ovvero effettuare l'intera procedura analitica senza il campione.
- Il peso del campione utilizzato per l'estrazione deve essere tale da rispettare le prescrizioni relative alla sensibilità.
- Le procedure specifiche di preparazione del campione utilizzate per i prodotti in questione devono essere convalidate in base a orientamenti riconosciuti a livello internazionale.

- Nel caso dei pesci, è necessario eliminare la pelle dal momento che il livello massimo si applica al muscolo privo di pelle. Occorre tuttavia raschiare accuratamente e completamente tutti i resti di muscolo e di grasso attaccati alla parte interna della pelle e aggiungerli al campione da analizzare.

4. PRESCRIZIONI APPLICABILI AI LABORATORI

- I laboratori devono dimostrare la validità del metodo nell'intervallo di tolleranza del livello d'interesse, ad esempio, 0,5x, 1x e 2x il livello d'interesse, con un coefficiente di variazione accettabile per analisi ripetute. Per ulteriori informazioni sui criteri di accettazione, si veda il punto 5.
- Il limite di quantificazione per un metodo di conferma deve situarsi in un intervallo di circa un quinto del livello d'interesse.
- Si devono regolarmente effettuare controlli in bianco, esperimenti con campioni arricchiti o analisi dei campioni di controllo (di preferenza, se disponibile, materiale di riferimento certificato), quali misure interne di controllo della qualità.
- La competenza del laboratorio deve essere dimostrata dalla partecipazione regolare ed efficace a studi condotti in collaborazione con altri laboratori sulla determinazione di diossine e di PCB diossina-simili nelle corrispondenti matrici di prodotti alimentari/mangimi.
- Conformemente a quanto prescritto dal regolamento (CE) n. 882/2004, i laboratori devono essere accreditati da un organismo riconosciuto che opera in conformità della guida ISO 58 per garantire che applichino la garanzia della qualità relativamente ai metodi d'analisi. I laboratori devono essere accreditati in base alla norma EN ISO/IEC 17025.

5. PRESCRIZIONI APPLICABILI ALLA PROCEDURA D'ANALISI PER LE DIOSSINE E I PCB DIOSSINA-SIMILI

Prescrizioni di base per l'accettazione delle procedure d'analisi:

- *Elevata sensibilità e bassi limiti di rilevabilità.* Per quanto concerne le PCDD e i PCDF, le quantità rilevabili devono essere dell'ordine del picogrammo TEQ (10^{-12} g) data l'estrema tossicità di alcuni di questi composti. È noto che i PCB si presentano in quantità più elevate rispetto alle PCDD e ai PCDF. Per quanto concerne la maggior parte dei congeneri di PCB, è sufficiente una sensibilità dell'ordine del nanogrammo (10^{-9} g). Tuttavia, per la determinazione dei congeneri più tossici dei PCB diossina-simili (in particolare i congeneri non orto sostituiti) si deve ottenere la stessa sensibilità che per le PCDD e i PCDF.
- *Alta selettività (specificità).* Occorre distinguere le PCDD, i PCDF e i PCB diossina-simili da una moltitudine di altri composti che, estratti simultaneamente dal campione e suscettibili d'interferire, sono presenti in concentrazioni molto superiori a quelle degli analiti da rilevare. Per quanto concerne i metodi di gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS), è necessario distinguere tra vari congeneri, in particolare tra quelli tossici (ad esempio, i diciassette PCDD e PCDF sostituiti alle posizioni 2,3,7,8 e i PCB diossina-simili) e altri congeneri. Mediante biotest è possibile determinare selettivamente i valori di TEQ quali somma di PCDD, PCDF e PCB diossina-simili.
- *Estrema accuratezza (esattezza e precisione).* La determinazione deve fornire una stima valida della concentrazione reale presente in un campione. È necessario porre estrema cura (accuratezza della misura: grado di concordanza tra il risultato di una misura e il valore reale o assegnato del misurando) per evitare che i risultati dell'analisi di un campione siano respinti a causa della scarsa affidabilità della stima dei TEQ. L'accuratezza è espressa come esattezza (differenza tra il valore medio misurato per un analita in un materiale certificato e il suo valore certificato, espressa in percentuale di tale valore) e precisione (deviazione standard relativa RSD_R calcolata in base a risultati ottenuti in condizioni di ripetibilità).

I metodi di screening possono comprendere biotest e metodi GC/MS, mentre i metodi di conferma sono costituiti dalla gascromatografia ad alta risoluzione e dalla spettrometria ad alta risoluzione (HRGC/HRMS). Si devono osservare i seguenti criteri per il valore totale TEQ:

	Metodi di screening	Metodi di conferma
Percentuale di falsi negativi	< 1 %	
Esattezza		da - 20 % a + 20 %
Precisione (RSD_R)	< 30 %	< 15 %

6. PRESCRIZIONI SPECIFICHE APPLICABILI AI METODI D'ANALISI GC/MS CON FINALITÀ DI SCREENING O DI CONFERMA

- Per convalidare la procedura d'analisi, occorre aggiungere all'inizio dell'analisi, ad esempio prima dell'estrazione, standard interni di PCDD/F clorosostituiti alle posizioni 2,3,7,8 e marcati con ^{13}C e standard interni di PCB diossina-simile marcati con ^{13}C . Va aggiunto almeno un congenere per ciascun gruppo omologo di PCDD/F da tetra a octaclorati e almeno un congenere per ciascun gruppo omologo di PCB diossina-simile (in alternativa, è possibile aggiungere almeno un congenere per ciascuna funzione di registrazione di ioni selezionati tramite spettrografia di massa utilizzata per il controllo di PCDD/F e PCB diossina-simili). Si consiglia vivamente, soprattutto per i metodi di conferma, di utilizzare l'insieme dei diciassette standard interni di PCDD/F sostituiti alle posizioni 2,3,7,8 marcati con ^{13}C , nonché la totalità dei dodici standard interni di PCB diossina-simile marcati con ^{13}C .

Vanno inoltre determinati i fattori di risposta relativa per quei congeneri ai quali non è stato aggiunto alcun analogo marcato con ^{13}C , utilizzando soluzioni di taratura adeguate.

- Per i prodotti alimentari d'origine vegetale e per i prodotti alimentari d'origine animale con un contenuto di grassi inferiore al 10 %, l'aggiunta di standard interni prima dell'estrazione è obbligatoria. Per i prodotti alimentari d'origine animale con un contenuto di grassi superiore al 10 %, gli standard interni possono essere aggiunti prima o dopo l'estrazione dei grassi. Occorre convalidare adeguatamente l'efficacia dell'estrazione, a seconda della fase in cui sono stati introdotti gli standard interni e del modo in cui i risultati sono riportati (sulla base del prodotto o dei grassi).
- Prima dell'analisi GC/MS, occorre aggiungere 1 o 2 standard di recupero (surrogato).
- È necessario effettuare il controllo del recupero. Per i metodi di conferma, i recuperi dei singoli standard interni devono essere compresi tra il 60 % e il 120 %. Recuperi inferiori o superiori per singoli congeneri, in particolare per alcune dibenzodiossine e alcuni dibenzofurani epta e octaclorati, sono accettabili, purché il loro contributo al valore TEQ non superi il 10 % del valore totale TEQ (tenendo conto della somma di PCDD/F e di PCB diossina-simili). Per quanto concerne i metodi di screening, i recuperi devono essere compresi tra il 30 % e il 140 %.
- È opportuno separare le diossine dai composti clorurati interferenti, quali i PCB non diossina-simili e gli eteri clorurati di difenile, ricorrendo ad adeguate tecniche cromatografiche (di preferenza tramite una colonna di florisil, d'allumina e/o di carbone).
- È sufficiente la separazione gascromatografica degli isomeri (< 25 % da picco a picco tra 1,2,3,4,7,8-HxCDF e 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- La determinazione deve essere effettuata conformemente al metodo EPA 1613 revisione B: diossine e furani da tetra a octa-clorati per diluizione degli isotopi con HRGC/HRMS, o un altro metodo con criteri di rendimento equivalenti.
- La differenza tra il livello massimo e il livello minimo non deve essere superiore al 20 % per i prodotti alimentari con una contaminazione da diossina di circa 1 pg OMS/TEQ/g di base lipidica (tenendo conto della somma di PCDD/PCDF e di PCB diossina-simili). Per i prodotti alimentari a basso contenuto di grasso si applicano le stesse prescrizioni che per i livelli di contaminazione dell'ordine di circa 1 pg OMS/TEQ/g di prodotto. Per livelli di contaminazione inferiori, ad esempio 0,50 pg OMS-TEQ/g di prodotto, la differenza tra il livello massimo e il livello minimo può essere dell'ordine del 25-40 %.

7. METODI D'ANALISI DI SCREENING

7.1. Introduzione

Il metodo di screening consente di applicare vari approcci analitici: un approccio puramente di screening e un approccio quantitativo.

Approccio di screening

La risposta dei campioni è confrontata con quella di un campione di riferimento al livello d'interesse. I campioni la cui risposta è inferiore a quella del campione di riferimento sono considerati negativi, mentre quelli con risposta superiore sono ritenuti positivi. Prescrizioni:

- in ogni serie di prove si devono includere un campione di riferimento e uno in bianco, estratti e analizzati allo stesso tempo e alle medesime condizioni. Il campione di riferimento deve presentare una risposta nettamente superiore a quella del campione in bianco,
- si devono includere campioni di riferimento supplementari con concentrazione pari a 0,5x e 2x il livello d'interesse, per dimostrare l'efficacia del test nell'intervallo considerato per il controllo del livello d'interesse,

- qualora si analizzino altre matrici, occorre dimostrare la validità dei campioni di riferimento, utilizzando di preferenza campioni il cui livello di TEQ, stabilito tramite HRGC/HRMS, sia simile a quello del campione di riferimento o un bianco arricchito per raggiungere questo livello,
- poiché nei biotest non si possono utilizzare standard interni, si devono effettuare test di ripetibilità per ottenere informazioni sullo scostamento standard nell'ambito di una serie di test. Il coefficiente di variazione deve essere inferiore al 30 %,
- per quanto concerne i biotest, occorre definire quali sono i composti-bersaglio, le potenziali interferenze e il valore massimo tollerato per il bianco.

Approccio quantitativo

L'approccio quantitativo comprende obbligatoriamente una serie di diluizioni standard, un processo di purificazione e di misurazione doppio o triplo, nonché analisi in bianco e controlli di recupero. Il risultato può essere espresso in TEQ, dando per scontato che i composti responsabili del segnale soddisfino il principio TEQ. A tal fine, si può impiegare la TCDD (o una miscela-tipo di diossine/furani/PCB diossina-simili) per elaborare una curva di taratura che consenta di calcolare il livello di TEQ nell'estratto e, di conseguenza, nel campione. Tale risultato è poi corretto con il livello di TEQ calcolato per un campione in bianco (per tenere conto di impurezze derivanti dai solventi e dalle sostanze chimiche utilizzate) e per il recupero (quest'ultima quantità è calcolata a partire dal livello di TEQ in un campione di controllo qualità la cui concentrazione è analoga a quella del livello d'interesse). È fondamentale tenere conto che una parte della perdita apparente del recupero può essere dovuta agli effetti della matrice e/o alle differenze tra i valori dei TEF nei biotest e i valori dei TEF ufficiali stabiliti dall'OMS.

7.2. Prescrizioni per i metodi d'analisi utilizzati per lo screening

- Lo screening può essere effettuato tramite metodi d'analisi GC/MS e biotest. Ai metodi GC/MS si applicano le prescrizioni stabilite al punto 6. Prescrizioni specifiche sono stabilite al punto 7.3 del presente allegato per i biotest cellulari e al punto 7.4 per i biotest realizzati con kit.
- Sono necessarie informazioni sul numero di risultati falsi positivi e falsi negativi di un'ampia serie di campioni al di sopra e al di sotto dei livelli massimi o dei livelli d'azione, raffrontati al contenuto di TEQ determinato tramite metodo analitico di conferma. La percentuale reale di falsi negativi deve essere inferiore all'1 %. Affinché il metodo di screening risulti vantaggioso, la percentuale di campioni falsi positivi deve essere sufficientemente bassa.
- I risultati positivi devono essere sempre convalidati tramite un metodo analitico di conferma (HRGC/HRMS). I campioni corrispondenti a una vasta gamma di TEQ devono inoltre essere confermati tramite HRGC/HRMS (circa 2-10 % dei campioni negativi). Si devono fornire dati sulle corrispondenze tra i risultati dei biotest e quelli della HRGC/HRMS.

7.3. Prescrizioni specifiche per i biotest cellulari

- Quando si effettua un biotest, si deve utilizzare in ogni prova una serie di concentrazioni di riferimento di TCDD o una miscela di diossine/furani/PCB diossina-simili (curva di risposta con $R^2 > 0,95$ per una dose completa). Tuttavia, ai fini dello screening, si può utilizzare nell'analisi dei campioni a bassa concentrazione una curva dettagliata nei livelli bassi.
- Per i risultati del biotest in un intervallo di tempo costante, è necessario usare una concentrazione di riferimento di TCDD (circa 3x il limite di quantificazione) su un modulo di controllo della qualità. In alternativa, si può utilizzare la risposta relativa di un campione di riferimento paragonata a una curva di taratura di TCDD, dato che la risposta delle cellule può dipendere da molteplici fattori.
- Occorre compilare e verificare i grafici del controllo della qualità (QC) per ogni tipo di materiale di riferimento allo scopo di garantire che il risultato sia conforme agli orientamenti indicati.
- L'induzione della diluizione utilizzata per il campione deve situarsi nella parte lineare della curva di risposta, in particolare per i calcoli quantitativi. I campioni situati al di sopra della parte lineare della curva di risposta devono essere diluiti e nuovamente analizzati. Occorre pertanto analizzare 3 o più diluizioni alla volta.
- La deviazione standard percentuale non deve essere superiore al 15 % quando si effettua una determinazione tripla per ogni diluizione del campione, né superiore al 30 % fra tre esperimenti indipendenti.
- È possibile scegliere come limite di rilevabilità un valore equivalente a 3x la deviazione standard della soluzione di solvente in bianco o della risposta di fondo. Un altro metodo consiste nell'applicare una risposta che sia superiore alla risposta di fondo (fattore di diluizione 5x il solvente in bianco) calcolata dalla curva di taratura del giorno. È possibile scegliere come limite di quantificazione un valore equivalente a 5x-6x la deviazione standard della soluzione di solvente in bianco o della risposta di fondo oppure applicare una risposta che sia superiore alla risposta di fondo (fattore d'induzione 10x il solvente in bianco) calcolata dalla curva di taratura del giorno.

7.4. Prescrizioni specifiche per i biotest effettuati con kit

- Occorre assicurarsi che i biotest effettuati con kit dimostrino una sensibilità ed un'affidabilità sufficienti per essere applicati ai prodotti alimentari.
- Occorre seguire le istruzioni del fabbricante relative alla preparazione dei campioni e alle analisi.
- Il kit non deve essere utilizzato oltre la data di scadenza indicata.
- Non si devono utilizzare materiali o componenti previsti per altri kit.
- I kit vanno conservati e utilizzati alle temperature di conservazione e di impiego indicate.
- Il limite di rilevazione per gli immunodosaggi è pari a $3x$ la deviazione standard, basandosi su 10 analisi ripetute del bianco, diviso per il valore della pendenza dell'equazione di regressione lineare.
- Occorre impiegare standard di riferimento per le prove di laboratorio al fine di garantire che la risposta allo standard rientri in un intervallo di valori accettabile.

8. COMUNICAZIONE DEI RISULTATI

A condizione che il metodo d'analisi impiegato lo consenta, i risultati dell'analisi devono contenere i livelli dei singoli congeneri di PCDD/F e PCB, nonché essere indicati come limite inferiore, limite superiore e valore intermedio, onde fornire la maggior quantità di dati possibile e permettere così d'interpretare i risultati in base alle prescrizioni specifiche.

La relazione deve inoltre menzionare il contenuto lipidico del campione e il metodo impiegato per l'estrazione del grasso.

I recuperi dei singoli standard interni devono essere forniti se si situano al di fuori dell'intervallo menzionato al punto 6, qualora eccedano il livello massimo e negli altri casi dietro richiesta.

Deve essere indicata anche l'incertezza della misura poiché tale parametro va preso in considerazione al fine di determinare la conformità di un campione. I risultati analitici vanno quindi indicati nella forma « $x \pm U$ », dove x è il risultato dell'analisi e U l'incertezza di misura estesa, calcolata per mezzo di un fattore di copertura 2 che dà un livello di affidabilità del 95 % circa. Qualora le diossine e i PCB diossina-simili siano oggetto di determinazioni separate, per la somma di entrambi si utilizza la somma dell'incertezza estesa stimata dei risultati analitici ottenuti separatamente per le diossine e i PCB diossina-simili.

Se l'incertezza della misura è presa in considerazione applicando il CCa (quale descritto nell'allegato I, parte 5), occorre indicare tale parametro.

I risultati devono essere espressi nelle stesse unità e con almeno lo stesso numero di cifre significative dei tenori massimi stabiliti dal regolamento (CE) n. 1881/2006.

Appendice dell'allegato II

Tabella OMS-TEF per la valutazione dei rischi per l'uomo in base alle conclusioni della riunione dell'Organizzazione mondiale della sanità tenutasi a Stoccolma, Svezia, il dal 15 al 18 giugno 1997 [Van den Berg *et al.*, (1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. *Environmental Health Perspectives*, 106(12), 775]

Congeneri	Valore TEF	Congeneri	Valore TEF
Dibenzo-p-diossine («PCDD»)		PCB «diossina-simili»: PCB non-orto + PCB mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1	PCB non-orto	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB mono-orto	
OCDD	0,0001	PCB 105	0,0001
Dibenzofurani («PCDF»)		PCB 114	0,0005
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 118	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 123	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 156	0,0005
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Abbreviazioni utilizzate: «T» = tetra; «Pe» = penta; «Hx» = esa; «Hp» = epta; «O» = octa; «CDD» = clorodibenzodiossina; «CDF» = clorodibenzofurano; «CB» = clorobifenile.