

DIRECTIVA 2002/70/CE DE LA COMISIÓN**de 26 de julio de 2002****por la que se establecen los requisitos para la determinación de los niveles de dioxinas y de PCB similares a las dioxinas en los piensos****(Texto pertinente a efectos del EEE)**

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Vista la Directiva 70/373/CEE del Consejo, de 20 de julio de 1970, relativa a la introducción de métodos para la toma de muestras y de métodos de análisis comunitarios para el control oficial de la alimentación animal ⁽¹⁾, cuya última modificación la constituye el Acta de adhesión de Austria, de Finlandia y de Suecia, y, en particular, su artículo 2,

Considerando lo siguiente:

- (1) La Directiva 1999/29/CE del Consejo, de 22 de abril de 1999, relativa a las sustancias y productos indeseables en la alimentación animal ⁽²⁾, cuya última modificación la constituye la Directiva 2001/102/CE ⁽³⁾, establece niveles máximos de dioxinas y furanos en determinados piensos y sus materias primas.
- (2) A fin de garantizar que los laboratorios utilizan métodos de análisis con niveles de eficacia comparables, es necesario establecer los requisitos que debería cumplir cada método de análisis.
- (3) Las disposiciones relativas a la toma de muestras y a los métodos de análisis se han elaborado basándose en los conocimientos actuales y podrán adaptarse a fin de tener en cuenta la evolución de los conocimientos científicos y tecnológicos.
- (4) Las disposiciones establecidas en la presente Directiva se refieren únicamente al análisis de las dioxinas y los PCB similares a las dioxinas a efectos de la aplicación de la Directiva 2001/102/CE, que modifica la Directiva 1999/29/CE relativa a las sustancias y productos indeseables en la alimentación animal.
- (5) Deberá adoptarse un enfoque activo que permita obtener datos completos y fiables sobre la presencia de PCB similares a las dioxinas en los piensos y sus materias primas. Se considera, por tanto, necesario establecer requisitos para los métodos de análisis utilizados en la determinación de la presencia de PCB similares a las dioxinas en los piensos y sus materias primas.
- (6) Podría utilizarse un método analítico de cribado de gran eficacia, cuya validez se haya demostrado y sea ampliamente aceptable, para seleccionar las muestras con niveles significativos de dioxinas. Posteriormente, los niveles de dioxinas en estas muestras podrán determi-

narse mediante un método analítico de confirmación. Se considera, por tanto, necesario establecer requisitos para los métodos analíticos de confirmación y para el método de cribado.

- (7) Las medidas previstas en la presente Directiva se ajustan al dictamen del Comité permanente de la cadena alimentaria y de sanidad animal.

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Los Estados miembros deberán garantizar que la toma de muestras a fines del control oficial de los niveles de dioxinas y furanos y la determinación de los niveles de PCB similares a las dioxinas en los piensos se realiza conforme a los métodos descritos en el anexo I.

Artículo 2

Los Estados miembros deberán garantizar que la preparación de las muestras y los métodos de análisis utilizados para el control oficial de los niveles de dioxinas y furanos y la determinación de los niveles de PCB similares a las dioxinas en los piensos cumplen los criterios establecidos en el anexo II.

Artículo 3

Los Estados miembros pondrán en vigor las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para dar cumplimiento a la presente Directiva, a más tardar el 28 de febrero de 2003. Informarán inmediatamente de ello a la Comisión.

Cuando los Estados miembros adopten dichas disposiciones, éstas harán referencia a la presente Directiva o irán acompañadas de dicha referencia en su publicación oficial. Los Estados miembros establecerán las modalidades de la mencionada referencia.

Artículo 4

La presente Directiva entrará en vigor el vigésimo día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*.

⁽¹⁾ DO L 170 de 3.8.1970, p. 2.

⁽²⁾ DO L 115 de 4.5.1999, p. 32.

⁽³⁾ DO L 6 de 10.1.2002, p. 45.

Artículo 5

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 26 de julio de 2002.

Por la Comisión
David BYRNE
Miembro de la Comisión

ANEXO I

MÉTODOS DE MUESTREO PARA EL CONTROL OFICIAL DE LOS NIVELES DE DIOXINAS (PCDD/PCDF) Y LA DETERMINACIÓN DE PCB SIMILARES A LAS DIOXINAS EN DETERMINADOS PIENSOS

1. Objeto y ámbito de aplicación

Las muestras destinadas al control oficial de los niveles de contenido de dioxinas (PCDD/PCDF), así como a la determinación del contenido de PCB ⁽¹⁾ similares a las dioxinas en los piensos, se tomarán de conformidad con lo dispuesto en la Directiva 76/371/CEE de la Comisión, de 1 de marzo de 1976, sobre determinación de modos comunitarios de toma de muestras para el control oficial de la alimentación animal ⁽²⁾. Las muestras globales así obtenidas se considerarán representativas de los lotes o sublotes de los que se obtengan. El cumplimiento de los niveles máximos establecidos en la Directiva 1999/29/CE se determinará en función de los niveles hallados en las muestras de laboratorio.

2. Conformidad del lote o sub lote con las especificaciones

El laboratorio de control analizará la muestra de laboratorio destinada a medidas sancionadoras en dos análisis independientes en caso de que el resultado obtenido en el primer análisis sea menos de un 20 % inferior al nivel máximo o exceda de dicho nivel, y calculará la media de los resultados. El lote será aceptado si el resultado del primer análisis es más de un 20 % inferior al nivel máximo, o cuando el análisis por duplicado es necesario, si la media se ajusta al nivel máximo correspondiente establecido en la Directiva 1999/29/CE.

⁽¹⁾ Cuadro FET fijado por la OMS a fines de la evaluación del riesgo para la salud humana, basado en las conclusiones de la reunión de la OMS celebrada en Estocolmo (Suecia) del 15 al 18 de junio de 1997 [Van den Berg y otros., (1998). Factores de equivalencia tóxica (FET) para los PCB, PCDD y PCDF en seres humanos y animales. Environmental Health Perspectives, 106(12), 775].

Congéneres	Valor FET	Congéneres	Valor FET
Dibenzo-p-dioxinas («PCDD»)		PCB «similares a las dioxinas» PCB no-orto + PCB mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1	PCB no-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		
OCDD	0,0001	PCB mono-orto	
Dibenzofuranos («PCDF»)		PCB 105	0,0001
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 114	0,0005
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 118	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 123	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Abreviaturas utilizadas: T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octo; CDD = clorodibenzodioxina; CDF = clorobenzofurano; CB = clorobifenilo.

⁽²⁾ DO L 102 de 15.4.1976, p. 7.

ANEXO II

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y REQUISITOS PARA LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS UTILIZADOS EN EL CONTROL OFICIAL DE LOS NIVELES DE DIOXINAS (PCDD/PCDF) Y EN LA DETERMINACIÓN DE PCB SIMILARES A LAS DIOXINAS EN DETERMINADOS PIENSOS**1. Objetivo y ámbito de aplicación**

Estos requisitos deberán aplicarse en el análisis de los piensos y sus materias primas realizado a efectos de la determinación de dioxinas [dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDD) y dibenzofuranos policlorados (PCDF)] y de policlorobifenilos similares a las dioxinas (PCB).

El control de la presencia de dioxinas en los piensos puede efectuarse mediante una estrategia que incluye un método de detección selectiva, a fin de seleccionar las muestras cuyo contenido de dioxinas y de PCB similares a las dioxinas sea menos de un 30-40 % inferior al nivel considerado o exceda de dicho nivel. La concentración de dioxinas en esas muestras deberá determinarse/confirmarse mediante un método de confirmación.

Los métodos de detección selectiva son los que se utilizan para detectar la presencia de dioxinas y PCB similares a dioxinas en el nivel considerado. Estos métodos se caracterizan por su capacidad de analizar un elevado número de muestras en poco tiempo con el fin de detectar posibles positivos. Están específicamente diseñados para evitar resultados falsos negativos.

Son métodos de confirmación los que proporcionan una información completa o complementaria que permite la identificación y cuantificación inequívoca de las dioxinas y los PCB similares a las dioxinas en el nivel considerado.

2. Contexto

Habida cuenta de que las muestras ambientales y biológicas (incluidas las muestras de materias primas/piensos) contienen, por lo general, mezclas complejas de diferentes congéneres de dioxinas, se ha desarrollado el concepto de factores de equivalencia tóxica (FET) a fin de facilitar la evaluación de los riesgos. Estos FET permiten expresar concentraciones de mezclas de PCDD y PCDF sustituidos en posiciones 2,3,7 y 8, y, más recientemente, de algunas formas de PCB con cloros sustituidos en posiciones no-orto y mono-orto que presentan una actividad similar a las dioxinas en equivalentes tóxicos (EQT) de 2,3,7,8-TCDD (véase la nota 1 del anexo I).

Las concentraciones de cada sustancia en una muestra dada se multiplican por sus respectivos FET y se suman a continuación para obtener la concentración total de compuestos similares a dioxinas expresados en EQT.

El concepto de «límite superior» exige la utilización del límite de cuantificación para la contribución de cada congénere no cuantificado al EQT.

El concepto de «límite inferior» exige la utilización de cero para la contribución de cada congénere no cuantificado al EQT.

El concepto de «límite intermedio» exige la utilización de la mitad del límite de cuantificación para calcular la contribución de cada congénere no cuantificado al EQT.

3. Requisitos de garantía de calidad que han de cumplirse en la preparación de las muestras

Serán aplicables las disposiciones generales relativas a la preparación de muestras de análisis que figuran en el anexo de la Directiva 81/680/CEE de la Comisión, de 30 de julio de 1981, por la que se modifican las Directivas 71/250/CEE, 71/393/CEE, 72/199/CEE, 73/46/CEE, 74/203/CEE, 75/84/CEE, 76/372/CEE y 78/633/CEE, que establece métodos comunitarios de análisis para el control oficial de los piensos ⁽¹⁾.

Deberán cumplirse, además, los siguientes requisitos:

- Las muestras deberán ser almacenadas y transportadas en recipientes de vidrio, aluminio, polipropileno o polietileno. Deberán eliminarse del recipiente que contiene la muestra los restos de polvo de papel. Los recipientes de vidrio deberán lavarse con disolventes previamente sometidos a un control de detección de dioxinas.
- Efectuar un análisis en blanco para lo cual se realizará todo el procedimiento analítico omitiendo únicamente la muestra.
- El peso de la muestra utilizada para la extracción deberá ser el suficiente para que se cumplan los requisitos relativos a la sensibilidad.

4. Requisitos que deben cumplir los laboratorios

- Los laboratorios deberán demostrar la eficacia de un método en el nivel considerado, por ejemplo 0,5, 1 y 2 veces el nivel considerado con un coeficiente de variación aceptable para análisis repetidos. Por lo que se refiere a los criterios de validez, véase el punto 5.
- El límite de cuantificación en un método de confirmación deberá situarse en un intervalo de aproximadamente un quinto del nivel considerado, a fin de garantizar coeficientes de variación aceptables en el intervalo de referencia.

⁽¹⁾ DO L 246 de 29.8.1981, p. 32.

- Como medidas internas de garantía de 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).
- La participación con éxito en estudios entre laboratorios que evalúan la competencia del laboratorio es la mejor manera de demostrar la aptitud de éste para efectuar análisis específicos. No obstante, la participación con éxito en estudios entre laboratorios cuando se trata, por ejemplo, de muestras de suelos o de aguas residuales no prueba necesariamente la competencia en el ámbito de las muestras de alimentos o piensos, que presentan un nivel de contaminación más bajo. Por lo tanto, la participación continua en estudios entre laboratorios para la detección de dioxinas y PCB similares a las dioxinas en las matrices de alimentos/piensos es obligatoria.
- Los laboratorios deberán estar acreditados por un organismo reconocido que opere de conformidad con la Guía ISO 58, a fin de garantizar que cumplen la garantía de calidad analítica. Dicha acreditación debe ser conforme a la norma ISO/IEC/17025:1999.

5. Requisitos para los procedimientos analíticos aplicables a las dioxinas y a los PCB similares a las dioxinas

Requisitos básicos de aceptación de los procedimientos analíticos:

- *Sensibilidad elevada y límites de detección bajos.* En el caso de los PCDD y PCDF, los umbrales de detección deben situarse en el picogramo EQT (10^{-12} g) habida cuenta de la extrema toxicidad de algunos de estos compuestos. Se sabe que los PCB suelen presentarse en cantidades más elevadas que los PCDD y PCDF. Para la mayoría de los congéneres del grupo de los PCB, es suficiente una sensibilidad en el intervalo de nanogramos (10^{-9} g). No obstante, para medir los PCB similares a las dioxinas más tóxicos (en particular, los congéneres sustituidos no-orto) es preciso conseguir la misma sensibilidad que para los PCDD y los PCDF.
- *Selectividad elevada (especificidad).* Es necesario establecer una distinción entre los PCDD, los PCDF y los 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 (GC/MS), es necesario distinguir entre varios congéneres, en particular entre los tóxicos (es decir, los diecisiete PCDD y PCDF sustituidos en 2,3,7 y 8 y los PCB similares a las dioxinas) y otros congéneres. Los bioensayos deberían permitir una determinación selectiva de los valores EQT como suma de PCDD, PCDF y PCB similares a las dioxinas.
- *Exactitud elevada (veracidad y precisión).* La determinación debería proporcionar una estimación válida y fiable 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 de la estimación de EQT, es necesario lograr un alto grado de exactitud (exactitud de la medición: grado de concordancia entre el resultado de la medición y el valor real o atribuido de la medición). La exactitud se expresa como veracidad (diferencia entre el valor medio medido para un analito en un material certificado y su valor certificado, expresado en porcentaje de dicho valor) y como precisión (la precisión suele calcularse como desviación típica; incluye la repetibilidad y la reproducibilidad e indica la diferencia entre los resultados obtenidos aplicando varias veces el procedimiento experimental en condiciones establecidas).

Los métodos de cribado pueden incluir bioensayos y métodos GC/MS; los métodos de confirmación son métodos de cromatografía de gases de alta resolución/espectrometría de masas de alta resolución (HRGC/HRMS). Deben cumplirse los siguientes criterios para el valor EQT total:

	Métodos de cribado	Métodos de confirmación
Porcentaje de falsos negativos	< 1 %	
Veracidad		- 20 % a + 20 %
CV (coeficiente de variación)	< 30 %	< 15 %

6. Requisitos específicos que deben cumplir los métodos GC/MS utilizados con fines de cribado o de confirmación

- A fin de validar el procedimiento analítico, es preciso añadir patrones internos de PCDD/F marcados con ^{13}C y con cloros sustituidos en 2,3,7 y 8 (y patrones internos de PCB similares a las dioxinas marcados con ^{13}C , cuando sea necesario determinar los PCB similares a las dioxinas) desde el inicio o antes de comenzar el método analítico, por ejemplo previamente a la fase de extracción. Deberá añadirse al menos un congénere para cada grupo homólogo de PCDD/F tetra a octoclorados (y al menos un congénere para cada uno de los grupos homólogos de PCB similares a las dioxinas, cuando sea necesario determinar los PCB similares a las dioxinas) (alternativamente, deberá utilizarse para el control de PCDD/F y de PCB similares a las dioxinas al menos un congénere para cada función de registro de iones seleccionados para la espectrometría de masas). Se recomienda utilizar, sobre todo en los métodos de confirmación, el conjunto de los diecisiete patrones internos de PCDD/F sustituidos en 2,3,7 y 8 y marcados con ^{13}C , así como la totalidad de los doce patrones internos de PCB similares a las dioxinas marcados con ^{13}C (en caso de que sea necesario determinar los PCB similares a dioxinas).

Habrán de determinarse asimismo los factores de respuesta relativos en el caso de los congéneres para los que no se añade ningún análogo marcado con ^{13}C , mediante la utilización de soluciones de calibración apropiadas.

- Para los piensos de origen vegetal y los piensos de origen animal con un contenido de grasa inferior al 10 %, es obligatorio añadir patrones internos antes de proceder a la extracción. Por lo que respecta a los piensos de origen animal con un contenido de grasa superior al 10 %, los patrones internos podrán añadirse antes de la fase de extracción o después de la extracción de grasas. Conviene validar 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.
- Previamente al análisis mediante GC/MS, deberá añadirse uno o dos patrones de recuperación (sustituto).
- Es preciso realizar un control de recuperación. Para los métodos de confirmación, los porcentajes de recuperación de cada patrón interno deberán situarse en un intervalo del 60 % al 120 %. En el caso de congéneres individuales, en particular para algunas dibenzodioxinas y dibenzofuranos hepta y octoclorados, podrían aceptarse porcentajes de recuperación inferiores o superiores siempre y cuando su contribución al valor EQT no supere el 10 % del valor total de EQT (teniendo únicamente en cuenta los PCDD/F). Para los métodos de cribado los porcentajes de recuperación deberán situarse en un intervalo del 30 % al 140 %.
- Es conveniente separar las dioxinas de los compuestos clorados interferentes, tales como los PCB y los éteres difenílicos clorados, mediante técnicas de cromatografía adecuadas (de preferencia con una columna de florisil, alúmina y/o carbono).
- La separación de los isómeros por cromatografía de gases debería ser suficiente (< 25 % de pico a pico entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF y 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- La determinación deberá realizarse con arreglo al método EPA 1613, revisión B: dioxinas y furanos tetra a octoclorados por dilución de isótopos con HRGC/HRMS u otro método con criterios de realización equivalentes.
- La diferencia entre el límite superior y el límite inferior no debe exceder el 20 % para los piensos cuya contaminación por dioxinas sea similar o superior al nivel máximo. Para los piensos con niveles de contaminación muy inferiores al nivel máximo, se acepta una diferencia en un intervalo del 25 % al 40 %.

7. Métodos analíticos de detección selectiva

7.1. Introducción

Es posible aplicar distintos enfoques analíticos en el método de detección selectiva: un enfoque exclusivamente de cribado y un enfoque cuantitativo.

Técnica de cribado

La respuesta de las muestras se compara con la de una muestra de referencia en el nivel considerado. Las muestras cuya respuesta es inferior a la de la muestra de referencia se consideran negativas, y las muestras cuya respuesta es superior se consideran positivas. Requisitos:

- En cada serie de ensayos deberán utilizarse blancos y muestras de referencia, extraídas y analizadas al mismo tiempo y en condiciones idénticas. La respuesta de la muestra de referencia debe ser claramente superior a la del blanco.
- Deberán incluirse otras muestras de referencia con una concentración equivalente a 0,5 veces y 2 veces el nivel considerado a fin de demostrar la eficacia del ensayo en el intervalo de referencia para el control del nivel considerado.
- Cuando se analicen otras matrices, deberá demostrarse la validez de las muestras de referencia, utilizando de preferencia muestras cuya concentración en EQT, establecida mediante un método HRGC/HRMS, sea similar a la de la muestra de referencia o, en su defecto, de un blanco enriquecido hasta concentraciones del mismo orden.
- Puesto que en los bioensayos no pueden utilizarse patrones internos, las pruebas de repetibilidad son muy importantes para obtener datos sobre la desviación típica en una serie de ensayos. El coeficiente de variación debe ser inferior al 30 %.
- En el caso de los bioensayos, deberán identificarse claramente los compuestos diana, las posibles interferencias y los niveles máximos tolerables de blanco.

Enfoque cuantitativo

El enfoque cuantitativo exige varias series de diluciones del patrón, procesos de limpieza y mediciones dobles o triples, así como ensayos en blanco y controles de recuperación. El resultado podrá expresarse en EQT, dando por sentado que los compuestos responsables de la señal cumplen el principio de EQT. Para ello, puede utilizarse el TCDD (o una mezcla de patrones de dioxinas/furanos) a fin de producir una curva de calibración que permita calcular el nivel de EQT en el extracto y, por lo tanto, en la muestra. A continuación, este resultado se corrige con el nivel de EQT calculado para un blanco (para tener en cuenta las impurezas procedentes de los disolventes o productos químicos utilizados) y para la recuperación (calculada a partir del nivel de EQT en una muestra de control de calidad próxima al límite considerado). Es fundamental tener en cuenta que parte de la pérdida de recuperación aparente puede deberse a efectos matriciales y/o a las diferencias entre los valores de FET en los bioensayos y los valores oficiales de FET definidos por la OMS.

7.2. Requisitos aplicables a los métodos analíticos de cribado

- El cribado puede realizarse utilizando métodos analíticos GC/MS o bioensayos. Para los métodos GC/MS deben utilizarse los criterios establecidos en el punto 6. Por lo que se refiere a los bioensayos celulares y los bioensayos realizados con kits, los requisitos específicos aplicables figuran, respectivamente, en los puntos 7.3 y 7.4.

- Es necesario proporcionar información sobre el número de resultados falsos positivos y falsos negativos obtenidos para una amplia serie de muestras por debajo y por encima del nivel máximo o umbral de intervención, en comparación con el contenido en EQT determinado mediante un método analítico de confirmación. Los porcentajes reales de falsos negativos deben ser inferiores al 1 %. La tasa de falsas muestras positivas debe ser lo suficientemente baja para que el método de cribado resulte eficaz.
- Los resultados positivos deberán confirmarse siempre mediante un método analítico de confirmación (HRGC/HRMS). Además, las muestras correspondientes a una amplia gama de EQT deberán ser confirmadas por un método HRGC/HRMS (aproximadamente 2 % a 10 % de las muestras negativas). Deberá facilitarse información sobre la correspondencia entre los resultados de los bioensayos y los del método HRGC/HRMS.

7.3. Requisitos específicos aplicables a los bioensayos celulares

- Cuando se efectúe un bioensayo, deberá utilizarse en cada prueba una serie de concentraciones de referencia de TCDD o una mezcla de dioxinas/furanos (curva de respuesta con un $R^2 > 0,95$ para una dosis completa). Sin embargo, a efectos del cribado, puede utilizarse en el análisis de las muestras de baja concentración una curva detallada en los niveles bajos.
- Para los resultados del bioensayo en un intervalo de tiempo constante, conviene utilizar una concentración de referencia de TCDD (aproximadamente 3 veces el límite de cuantificación) en una ficha de control de calidad. Otra posibilidad sería utilizar la respuesta relativa de una muestra de referencia comparada con una línea de calibración de TCDD, habida cuenta de que la respuesta de las células depende de múltiples factores.
- Se recomienda registrar y verificar los gráficos de control de calidad (QC) para cada tipo de material de referencia, a fin de garantizar que el resultado es conforme a las indicaciones establecidas.
- El punto de entrada de la dilución de la muestra utilizada debe situarse en la parte lineal de la curva de respuesta, en particular para los cálculos cuantitativos. Las muestras situadas por encima de la parte lineal de la curva de respuesta deberán diluirse y analizarse de nuevo. Por esta razón, se aconseja realizar el análisis con tres o más diluciones a la vez.
- La desviación típica no debe ser superior al 15 % cuando se lleva a cabo una determinación en triplicado para cada dilución de la muestra, ni superior al 30 % para tres análisis independientes.
- El límite de detección podrá fijarse en 3 veces la desviación típica del blanco de disolvente o de la respuesta de fondo. Otro método consistiría en aplicar una respuesta superior a la respuesta de fondo (factor de inducción 5 veces superior al blanco de disolvente) calculada a partir de la curva de calibración del día. El límite de cuantificación podrá fijarse en 5 a 6 veces la desviación típica del blanco de disolvente o de la respuesta de fondo. Otro método consistiría en aplicar una respuesta netamente superior a la respuesta de fondo (factor de inducción 10 veces superior al blanco de disolvente) calculada a partir de la curva de calibración del día.

7.4. Requisitos específicos aplicables a los bioensayos realizados por medio de kits⁽¹⁾

- Deberán respetarse las instrucciones del fabricante por lo que respecta a la preparación de las muestras y los análisis.
- No deberán utilizarse los kits después de la fecha de caducidad indicada.
- No deberán utilizarse materiales o componentes previstos para otros kits.
- Los kits deberán conservarse y utilizarse en las condiciones de temperatura de conservación y de utilización indicadas.
- El límite de detección aceptable para los inmunoensayos se obtiene sumando la media a un valor igual a tres veces la desviación típica, para una serie de diez análisis repetidos del blanco, dividido por el valor de la pendiente de la ecuación de regresión final.
- Conviene utilizar patrones de referencia para los análisis de laboratorio, a fin de garantizar que la capacidad de respuesta al patrón se sitúa en un intervalo aceptable.

8. Notificación de los resultados

En la medida en que el procedimiento analítico lo permita, los resultados del análisis deberán incluir los niveles de los congéneres individuales de PCDD/F y PCB e indicarse como límite inferior, límite superior y límite intermedio, a fin de incluir el máximo de información posible en la notificación de los resultados. Ello permitirá interpretar los resultados en función de los requisitos específicos.

El informe deberá indicar asimismo el contenido en lípidos de la muestra, así como el método utilizado para su extracción.

Deberán indicarse los porcentajes de recuperación de cada patrón interno en caso de que dichos porcentajes estén fuera del intervalo mencionado en el punto 6, en caso de que se supere el nivel máximo, y en los demás casos cuando se soliciten.

⁽¹⁾ Hasta la fecha, los bioensayos realizados mediante kits disponibles en el mercado no han demostrado la suficiente sensibilidad y fiabilidad para poder ser utilizados a fines de detección de la presencia de dioxinas en los niveles exigidos para las muestras de productos alimenticios y de piensos.