

LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE **POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES**

Stabilité des résidus de pesticides dans les produits entreposés

INTRODUCTION

1. Lorsque l'on compile des données quantitatives sur les résidus contenus dans des cultures, des produits végétaux et des produits d'origine animale, il est essentiel de veiller à ce que les résidus de tous les composants couverts par les définitions de résidus (aux fins de l'évaluation des risques et du contrôle du respect de la réglementation) contenus dans un échantillon destiné à une étude quantitative restent mesurables avec précision durant l'ensemble de la période comprise entre le prélèvement de l'échantillon/la récolte et l'analyse. Si les échantillons destinés à une étude quantitative ne sont pas analysés le plus rapidement possible après leur prélèvement, les éléments constitutifs des résidus peuvent subir des transformations chimiques, ce qui risque de fausser les résultats. Lorsqu'il est impossible d'analyser un échantillon destiné à une étude quantitative aussitôt après son prélèvement, l'échantillon doit être entreposé à une température adéquate inférieure à 0 °C jusqu'au moment de l'analyse. Dans ce cas, il faut évaluer l'effet des conditions d'entreposage sur la stabilité des résidus. Les références clés utilisées pour la présente ligne directrice sont énumérées au paragraphe 38 i) à v) inclus.

OBJECTIF

2. Ces études visent à déterminer la période durant laquelle la stabilité des résidus est mise en évidence dans des produits végétaux représentatifs, par extrapolation à des fractions transformées de produits végétaux, et dans des produits d'origine animale. Les demandeurs doivent ensuite veiller à analyser les échantillons destinés aux études quantitatives avant l'expiration de la période la plus courte durant laquelle la stabilité des résidus a été démontrée dans des produits représentatifs. Les études de quantification des résidus comprennent notamment des essais de terrain sur des cultures, des études limitées effectuées sur le terrain sur des cultures en rotation, des études sur des aliments pour animaux d'élevage et des études sur des produits transformés.

GÉNÉRALITÉS

3. Dans la plupart des cas, les échantillons recueillis pour procéder à des études de quantification des résidus sont entreposés pendant un certain temps avant leur analyse. Au cours de cette période d'entreposage, il est possible que des résidus de pesticides et/ou certains de leurs métabolites couverts par les définitions de résidus diminuent en raison de processus tels que la volatilisation ou la dégradation enzymatique. Par conséquent, pour s'assurer que les teneurs en résidus qui caractérisaient les échantillons destinés à une étude quantitative lors du prélèvement sont les mêmes qu'au moment de l'analyse, des études contrôlées doivent être réalisées pour évaluer l'effet de l'entreposage sur les teneurs en résidus des échantillons. En d'autres termes, les demandeurs doivent soit démontrer que les résidus de pesticides sont stables pendant l'entreposage au congélateur de l'échantillon destiné à être analysé dans le cadre d'une étude de quantification, soit indiquer le taux de diminution des résidus au cours de cette période.

© OCDE, (2007).

L'OCDE autorise l'utilisation de ce contenu pour usage personnel, dans un but non commercial sans autorisation préalable, sous réserve de mention de la source. Toute utilisation à but commercial doit faire l'objet d'une autorisation écrite préalable de l'OCDE.

4. Si les échantillons destinés à une étude quantitative sont toujours analysés dans les 30 jours suivant leur entreposage à une température inférieure à 0°C, les demandeurs peuvent s'abstenir d'effectuer une étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur, pour autant que cette décision soit justifiée, ce qui est notamment le cas lorsque les données de base relatives aux propriétés physico-chimiques montrent que les résidus ne sont ni volatils, ni labiles. Les échantillons destinés à une étude quantitative doivent normalement être congelés dans les 24 heures suivant le prélèvement ou la récolte. Si tel n'est pas le cas, la durée de l'entreposage à température ambiante ou au réfrigérateur doit être prise en compte lors de la planification de l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur.

5. Dans des circonstances normales, il est admis que des études concomitantes de stabilité durant l'entreposage au congélateur ne doivent pas être réalisées pour tous les produits, car les données relatives à un produit peuvent être représentatives d'autres produits de la même famille (voir les catégories de produits énumérées à l'annexe 1). Pour autant qu'elle ait démontré que les résidus de pesticides sont stables dans les produits étudiés, une étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur entamée à une date différente dans un congélateur distinct sera jugée acceptable pour autant que les conditions d'entreposage (en particulier la température et la forme de la matrice, à savoir entière ou homogénéisée) soient identiques à celles de l'étude de quantification des résidus correspondante.

6. En ce qui concerne les pesticides dont les résidus sont reconnus instables ou volatils ou sont soupçonnés de l'être (y compris les produits de fumigation), il conviendrait de réaliser une étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur pour chacun des composants couverts par les définitions de résidus préalablement à l'étude quantitative, ce qui permettrait de déterminer les conditions adéquates et les durées maximales d'entreposage avant d'entreposer les échantillons destinés à l'étude quantitative. À défaut, il se peut qu'il faille réaliser des études concomitantes pour garantir que les données relatives aux composants couverts par les définitions de résidus provenant des études quantitatives soient jugées acceptables.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Introduction

7. Les études de stabilité durant l'entreposage au congélateur doivent disposer d'une quantité suffisante de matériel de départ et d'une teneur en résidus suffisamment élevée pour pouvoir mesurer toute diminution observée durant l'entreposage. Les échantillons peuvent être prélevés sur des produits végétaux (ou animaux) qui ont été traités avec des pesticides sur le terrain, c'est-à-dire qui contiennent des résidus provenant d'une application de pesticides, ou sur des produits de contrôle (non traités) enrichis de quantités connues de chacun des composants couverts par les définitions de résidus. Des échantillons de contrôle de produits entreposés fraîchement enrichis doivent être analysés chaque fois que des produits vieillis/entreposés sont retirés des congélateurs en vue d'être analysés, de manière à pouvoir opérer une distinction entre les pertes liées aux méthodes utilisées et celles qui sont imputables aux conditions et à la durée de l'entreposage. Les échantillons de contrôle utilisés pour déterminer le taux de récupération analytique doivent être prélevés sur le même produit, mais ne doivent pas nécessairement provenir du lot de substance d'essai qui a été enrichi et entreposé. Les échantillons de produits contenant des résidus provenant d'une application de pesticides doivent être analysés le plus rapidement possible après la récolte pour mesurer les teneurs en résidus au temps zéro.

Substance d'essai

8. En règle générale, la formulation ne devrait pas influencer de manière notable sur la stabilité des composants des résidus contenus dans les produits végétaux récoltés entreposés au congélateur. Toutefois, dans le cas peu probable où il en irait autrement, le demandeur doit justifier la validité des résultats des

études de stabilité durant l'entreposage au congélateur. Si l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur a été réalisée sur des produits contenant des résidus provenant d'une application de pesticides, le demandeur doit démontrer que tous les composants couverts par les définitions de résidus sont présents dans les échantillons destinés aux études de quantification et que les concentrations sont suffisantes pour permettre l'observation d'une éventuelle diminution.

9. Lorsque des analytes sont ajoutés en laboratoire à des produits non traités, il s'agit le plus souvent de la substance active et/ou de métabolites identifiés intéressants. Lorsque les définitions de résidus couvrent plusieurs composants, les études doivent permettre de démontrer la stabilité de chacun d'entre eux. L'utilisation de solutions contenant plusieurs analytes n'est donc pas recommandée, car elle pourrait masquer l'éventuelle transformation d'un composé en un autre. Par conséquent, l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur doit utiliser des échantillons distincts pour chacun des produits étudiés, qui seront séparément enrichis de chacun des composants couverts par les définitions de résidus.

Méthodes analytiques

10. Les produits sur lesquels portent les études de stabilité durant l'entreposage au congélateur doivent être analysés selon la procédure validée qui a été appliquée dans les études de quantification des résidus correspondantes. Toutefois, si l'on applique une méthode analytique différente, celle-ci doit être entièrement validée à l'instar de la méthode appliquée dans les études quantitatives.

11. Les méthodes produisant un dérivé commun ne permettent pas de mesurer la stabilité de chacun des composants couverts par les définitions de résidus. En outre, il arrive parfois que ces méthodes détectent des composés qui contiennent le dérivé, mais qui ne sont pas couverts par les définitions de résidus, ce qui peut également masquer une éventuelle diminution des résidus. Par conséquent, il est généralement déconseillé d'utiliser des méthodes produisant un dérivé commun dans des études de stabilité durant l'entreposage au congélateur. Ces méthodes peuvent toutefois être appliquées dans des circonstances exceptionnelles et pour autant que cette décision soit justifiée. Par exemple, lorsqu'une méthode produisant un dérivé commun a été utilisée dans le cadre d'une étude quantitative pour mesurer l'importance des résidus, elle peut également être utilisée pour déterminer la stabilité des résidus durant l'entreposage.

Concentrations d'enrichissement

12. Pour pouvoir déterminer convenablement la stabilité des résidus dans des conditions d'entreposage, la concentration d'enrichissement des échantillons doit être de 10x la limite de quantification (LQ) de la méthode pour chacune des substances d'essai. On limite ainsi le risque que la stabilité des résidus soit impossible à déterminer en raison de l'existence de taux de récupération très variables. Ces études sont basées sur des modèles et doivent être optimisées pour le domaine analytique confirmé de la méthode. Les méthodes d'enrichissement doivent être identiques à celles appliquées aux échantillons dans le cadre du processus de validation des méthodes analytiques, par exemple en ce qui concerne les données sur la récupération. Si c'est impossible, il convient de présenter une argumentation détaillée justifiant la validité des données.

13. Lorsqu'aucun résidu détectable n'est mis en évidence dans des produits traités sur le terrain ou lorsque les teneurs observées sont voisines de la limite de quantification de la méthode analytique, les études de stabilité durant l'entreposage au congélateur doivent être réalisées sur des produits de contrôle enrichis et non sur des produits contenant des résidus provenant d'une application de pesticides.

Forme de l'échantillon

14. Il est préférable que la forme du produit (homogénat, produit grossièrement haché, produit entier, extrait) utilisée dans l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur soit, dans la mesure du possible, identique à celle utilisée dans l'étude de quantification des résidus correspondante. Dans certains cas, il se peut que l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur doive refléter l'entreposage sous plus d'une des formes ci-dessus. Par exemple, si des échantillons prélevés dans le cadre d'essais de quantification des résidus sont entreposés sous forme d'homogénats pendant plusieurs mois avant d'être extraits et si ces extraits sont à leur tour entreposés durant plusieurs semaines avant l'analyse finale, les produits utilisés dans le cadre de l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur doivent être manipulés de la même manière.

15. Dans certains cas, les échantillons destinés aux analyses de quantification des résidus sont entreposés à l'état entier, tandis que les échantillons destinés à l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur sont conservés à l'état d'homogénats pour garantir un enrichissement uniforme. Pour autant que les résidus s'avèrent stables, les résultats de cette étude seront normalement acceptés étant donné que l'utilisation d'un homogénat dans l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur représentera vraisemblablement le scénario le plus défavorable par rapport à l'utilisation d'un produit entier.

16. Si une étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur utilise des produits qui n'ont pas été entreposés à l'état d'extraits et ne reflète donc pas l'entreposage des extraits d'échantillons destinés à la quantification des résidus avant l'analyse finale, il n'est pas nécessaire de reprendre toute l'étude. Une méthode acceptable consisterait à enrichir des extraits d'échantillons non traités, à les entreposer durant la même période et dans les mêmes conditions que les extraits correspondants des échantillons devant servir à l'étude quantitative, et à les analyser ensuite pour déterminer la stabilité des résidus dans l'extrait. Pour éviter cette étude supplémentaire, les demandeurs sont invités à intégrer systématiquement l'entreposage d'extraits au protocole de leurs études de stabilité durant l'entreposage au congélateur, sauf si leurs pratiques normalisées de laboratoire prévoient d'analyser les extraits le jour même de leur réception. Des données sur la stabilité des résidus dans les extraits peuvent également provenir d'autres études, par exemple des études de validation de la méthode ou des études sur le métabolisme.

Conditions d'entreposage

17. Il est indéniable que les échantillons destinés à l'étude de quantification des résidus doivent généralement être transportés du site d'étude au laboratoire avant d'être entreposés jusqu'à ce que les résidus puissent être analysés. Il faut veiller à conserver les échantillons dans un environnement aussi froid que possible pendant le transport, en les enveloppant dans de la neige carbonique par exemple, et à limiter au maximum la durée des déplacements. L'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur doit ensuite simuler ces conditions, notamment la température utilisée en laboratoire pour l'entreposage des échantillons destinés à l'étude quantitative avant leur analyse. Les températures d'entreposage doivent être égales ou inférieures à -18°C et les produits doivent être conservés dans l'obscurité pour éliminer tout risque de réaction photochimique. En ce qui concerne les pesticides dont l'instabilité est avérée, on peut envisager de limiter cette instabilité en entreposant les échantillons destinés aux études quantitatives à des températures encore plus basses ou en congelant les extraits dans un solvant. On peut également stabiliser les échantillons provenant des études quantitatives par l'adjonction d'un acide ou d'une base durant l'homogénéisation ou par broyage cryogénique. Toutes ces mesures supplémentaires doivent également être prises dans le cadre de l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur.

18. Les conditions d'entreposage doivent faire l'objet d'une surveillance constante et être consignées de manière à pouvoir démontrer le maintien de températures d'entreposage acceptables. Si les conditions d'entreposage connaissent des variations sensibles, par exemple à la suite d'une panne de courant, il

convient de fournir des explications détaillées et d'examiner des données obtenues à divers points temporels afin de vérifier si l'intégrité de l'étude a été préservée.

19. Dans toute la mesure du possible, les contenants des échantillons doivent avoir la même conception et la même composition inerte que ceux utilisés dans l'étude de quantification des résidus. Toutefois, si c'est impossible et pour autant que le pesticide ne soit pas volatil, la seule utilisation de contenants différents n'entraînera pas le rejet de l'étude.

Fréquence des échantillonnages et durée d'utilisation des échantillons

20. Au début de l'étude, il est recommandé d'entreposer au congélateur un nombre approprié de fractions aliquotes de chaque produit pour permettre l'analyse d'un nombre suffisant de points temporels répartis sur toute la durée d'entreposage des échantillons destinés aux études quantitatives. Il est également recommandé de prévoir des échantillons de réserve pour pouvoir procéder à de nouvelles analyses en cas de problème ou pour prolonger les durées d'entreposage si nécessaire. Dans tous les cas, les temps d'échantillonnage doivent comporter un temps zéro permettant de déterminer et de contrôler les teneurs en résidus présentes au moment où les échantillons sont entreposés. Le nombre minimal de temps d'échantillonnage variera selon la stabilité des résidus et la durée maximale de la période d'entreposage des échantillons destinés aux études quantitatives.

21. Le demandeur peut décider de ne prévoir que deux temps d'échantillonnage : le temps zéro et 12 ou 24 mois, par exemple. Toutefois, il procède ainsi à ses risques et périls, dans la mesure où il est impossible de calculer le taux de diminution et où il pourrait être impossible d'extrapoler les données au-delà de la période visée, ce qui risque de compromettre la validité des études de quantification des résidus. Pour les résidus dont la stabilité est établie, il est recommandé de prévoir les temps d'échantillonnage habituels, à savoir 0, 1, 3, 6 et 12 mois, et de les prolonger, par exemple jusqu'à deux ans, si les échantillons destinés aux études quantitatives sont entreposés plus longtemps. En revanche, si l'on suspecte une diminution relativement rapide des résidus, on peut choisir des temps d'échantillonnage de 0, 2, 4, 8 et 16 semaines, par exemple. En l'absence d'informations sur la stabilité, on peut opter pour une combinaison des formules décrites ci-dessus.

22. À chaque point temporel, on analysera deux échantillons identiques de chaque produit pour tous les composants couverts par les définitions de résidus. Toutefois, si l'on observe une différence notable (supérieure à 20 %) entre les résultats donnés par les deux échantillons d'un même point temporel, on examinera l'opportunité d'analyser des échantillons supplémentaires du produit à partir de ce moment. Il appartiendra au demandeur d'apprécier s'il y a lieu de recommencer l'analyse de l'échantillon concerné. Il est recommandé d'effectuer une analyse du produit avant l'enrichissement afin de mettre en évidence les éventuelles interférences liées à la présence d'autres substances ou à une contamination par des substances d'essai et pour déterminer, dans certains cas, s'il y a lieu de répéter l'étude.

23. Le demandeur doit veiller à ce que tous les échantillons destinés à l'étude de quantification des résidus soient analysés avant l'expiration de la période durant laquelle la stabilité durant l'entreposage au congélateur a été démontrée pour tous les composants couverts par les définitions de résidus. Toutefois, si tel n'est pas le cas, cela ne compromet pas nécessairement l'utilisation des données quantitatives sur les résidus. Dans des cas exceptionnels et en l'absence de toute diminution observable, on peut envisager d'extrapoler les données à des points temporels non couverts par les intervalles d'entreposage. L'ampleur d'une telle extrapolation doit toutefois être examinée au cas par cas avec l'autorité de réglementation.

PRODUITS VÉGÉTAUX À ANALYSER

24. Lorsque les études concernent des produits végétaux, il est recommandé d'appliquer le principe d'extrapolation entre les végétaux appartenant aux catégories spécifiques suivantes : produits à forte teneur en eau ; produits à forte teneur en acide ; produits à forte teneur en huile ; produits à forte teneur en protéines ; et produits à forte teneur en amidon. Les études concernées étant des modélisations, certains produits susceptibles d'appartenir à plusieurs catégories ont été placés dans la catégorie la plus représentative.

25. S'il est démontré que les résidus sont stables dans tous les produits étudiés, une étude portant sur un produit dans chacune des cinq catégories sera jugée acceptable. Les résidus contenus dans tous les autres produits de la même catégorie (voir annexe 1) seront alors supposés stables durant la même période pour autant que les conditions d'entreposage soient les mêmes.

26. Lorsque l'utilisation d'un pesticide est étudiée dans une seule des cinq catégories de produits, des données sur la stabilité des résidus durant l'entreposage au congélateur doivent être fournies pour plusieurs végétaux représentatifs de cette catégorie (sauf en ce qui concerne la catégorie des produits à forte teneur en protéines, qui ne comprend qu'un seul type de produit dans le cadre de cette ligne directrice). L'étude portant sur les produits relevant de cette catégorie doit alors être réalisée selon les modalités suivantes :

Catégorie des produits à forte teneur en eau:

Si la stabilité de la substance d'essai est confirmée dans trois produits différents appartenant à cette catégorie, il n'est pas nécessaire d'analyser d'autres végétaux de cette catégorie.

Catégorie des produits à forte teneur en huile:

Si la stabilité de la substance d'essai est confirmée dans deux produits différents appartenant à cette catégorie, il n'est pas nécessaire d'analyser d'autres végétaux de cette catégorie.

Catégorie des produits à forte teneur en protéines:

Si la stabilité de la substance d'essai est confirmée dans des légumes secs/des légumineuses, il n'est pas nécessaire d'analyser d'autres produits de cette catégorie.

Catégorie des produits à forte teneur en amidon:

Si la stabilité de la substance d'essai est confirmée dans deux produits différents appartenant à cette catégorie, il n'est pas nécessaire d'analyser d'autres produits de cette catégorie.

Catégorie des produits à forte teneur en acides:

Si la stabilité de la substance d'essai est confirmée dans deux produits différents appartenant à cette catégorie, il n'est pas nécessaire d'analyser d'autres produits de cette catégorie.

27. Lorsqu'aucune diminution des résidus n'est observée dans l'ensemble des cinq catégories de produits, il n'est pas nécessaire de fournir des données sur la stabilité durant l'entreposage au congélateur se rapportant spécifiquement à des produits transformés. Toutefois, si une instabilité est mise en évidence après une période d'entreposage donnée, le demandeur doit veiller à ce que les produits (qu'il s'agisse de produits agricoles bruts ou de produits transformés) soient analysés avant l'expiration de la période durant laquelle la stabilité des résidus durant l'entreposage est établie.

28. Les orientations concernant les produits représentatifs s'appliquent à des pesticides qui seront appliqués à toutes les catégories de produits. Or, de nombreux pesticides ne sont appliqués qu'à certaines de ces catégories. Lorsque l'utilisation d'un pesticide est étudiée dans deux catégories au moins, mais que des données sur la stabilité des résidus durant l'entreposage au congélateur n'ont pas été générées pour

l'ensemble des cinq catégories, le nombre de produits représentatifs qu'il faudra analyser dépendra de la combinaison des catégories concernées et du nombre de végétaux qui seront traités avec le pesticide dans chacune des catégories. Il est impossible de donner des orientations pour toutes les combinaisons possibles de produits susceptibles d'être traités avec des pesticides. Les demandeurs devront déterminer au cas par cas les produits représentatifs à analyser dans le cadre des études de stabilité durant l'entreposage au congélateur. Par exemple, dans le cas d'un pesticide dont l'utilisation sera limitée aux fruits à coque (qui appartiennent à la catégorie des produits à forte teneur en huile) et aux fruits à noyau (qui appartiennent à la catégorie des produits à forte teneur en eau), ils devront fournir des données sur la stabilité durant l'entreposage au congélateur pour un fruit à coque au moins (la noix ou l'amande, par exemple) et pour un fruit à noyau au moins (la pêche ou la cerise, par exemple). Dans l'hypothèse où l'utilisation de ce pesticide serait ensuite étendue à d'autres végétaux relevant de la catégorie des produits à forte teneur en eau, comme les légumes à feuilles et les cucurbitacées, ils devraient fournir des données sur la stabilité durant l'entreposage au congélateur pour ces deux types de produits, afin de s'acquitter de l'obligation de fournir des données sur trois produits différents de cette catégorie. La stabilité durant l'entreposage au congélateur serait ainsi établie pour tous les végétaux de la catégorie des produits à forte teneur en eau.

29. Les études de stabilité durant l'entreposage au congélateur réalisées sur des produits représentatifs de chacune des cinq catégories couvrent des végétaux comportant plusieurs sous-produits (comme les céréales, par exemple, qui contiennent le grain, la paille et le fourrage). Toutefois, si l'utilisation du pesticide est limitée aux céréales, il faut alors générer des données pour le grain et pour le fourrage (qui seront respectivement représentatives de la forte teneur en amidon et de la forte teneur en eau du produit végétal).

30. Les produits utilisés pour l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur peuvent également provenir d'études sur le métabolisme utilisant des substances radiomarquées. Dans ce cas, les résidus couverts par les définitions de résidus doivent être dosés après extraction à l'aide du procédé prévu dans la méthode d'analyse utilisée pour quantifier les résidus ou dans toute autre méthode validée, combiné à une technique de détection radiochimique appropriée à l'analyte ou aux analytes étudiés. En d'autres termes, les données relatives à la stabilité durant l'entreposage au congélateur ne doivent pas être fondées sur de simples valeurs de radioactivité totale. (Remarque: ce paragraphe ne concerne pas les données sur la stabilité des résidus durant l'entreposage en congélateur nécessaires pour étayer une étude sur le métabolisme ; cette question est abordée ailleurs).

PRODUITS ANIMAUX À ANALYSER

31. Lorsque les études concernent des produits animaux – études sur les aliments pour animaux d'élevage ou sur le traitement dermique, par exemple – on choisira les produits suivants en fonction du type d'animal :

- muscle – bovins et/ou volaille, par exemple
- foie – bovins et/ou volaille, par exemple
- lait
- œufs

32. S'il est démontré que les résidus sont stables dans tous les produits animaux étudiés, une étude portant sur chacun des produits animaux ci-dessus sera jugée acceptable. Les résidus contenus dans tous les autres produits animaux seront alors supposés stables durant la même période pour autant que les conditions d'entreposage soient les mêmes. Les demandeurs doivent s'assurer que tous les échantillons destinés à l'étude de quantification des résidus dans des produits animaux soient analysés avant l'expiration de la période la plus courte durant laquelle la stabilité des résidus a été mise en évidence pour les produits animaux ci-dessus.

AUTRES CONSIDÉRATIONS RELATIVES AUX DONNÉES

33. Lors d'une étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur, des échantillons témoins fraîchement enrichis doivent être analysés chaque fois que des échantillons vieillis/entreposés destinés à l'étude sont retirés des congélateurs pour être analysés, afin de démontrer la bonne récupération analytique des résidus au moment de l'analyse. Cela permet d'interpréter correctement l'éventuelle diminution des résidus lorsque les taux de récupération analytique varient dans le temps. En effet, lorsque les taux de récupération analytique sont proches de 100 %, mais que les produits entreposés présentent des taux de récupération peu élevés, on peut conclure que les résidus ont diminué pendant l'entreposage. En revanche, lorsque les taux de récupération des produits entreposés et les taux de récupération analytique sont similaires et également faibles, on peut conclure que les résidus n'ont pas diminué pendant l'entreposage.

34. Le fait que la diminution mise en évidence par l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur soit limitée ne compromet pas nécessairement l'utilisation des données quantitatives. Il est déconseillé de fixer des seuils de diminution et d'affirmer que la diminution observée est acceptable ou non. La diminution observée et l'ampleur de celle-ci dépendent d'un certain nombre de facteurs, qui peuvent notamment inclure le taux de diminution et l'existence éventuelle d'un plateau (équilibre); l'évaluation des risques ; la variabilité des procédés de récupération et le lien entre les produits utilisés dans l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur et les produits végétaux utilisés dans les essais de quantification des résidus. Dans l'ensemble, la validité des études sera appréciée au cas par cas en tenant compte des facteurs énumérés ci-dessus.

35. Lorsque la diminution des résidus est mesurable et que l'on dispose d'un nombre de points temporels suffisant pour élaborer un graphique adéquat, on peut appliquer le principe d'interpolation pour estimer la diminution à tout moment donné. La diminution doit être déterminée en tenant compte des concentrations non corrigées de résidus dans les produits entreposés et des taux de récupération analytique. Si la diminution est confirmée, le demandeur doit veiller à ce que tous les échantillons destinés à l'étude de quantification des résidus soient analysés avant l'expiration de la période durant laquelle la stabilité des résidus étudiés a été démontrée dans le produit.

CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU RAPPORT D'ÉTUDE

36. Le rapport d'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur doit comporter une description détaillée des éléments suivants: produits entreposés (qu'il s'agisse de produits bruts ou transformés); composé(s) analysé(s); protocole expérimental et conditions d'entreposage (température du congélateur, durée de l'entreposage, types de contenants, etc.), méthode(s) de dosage des résidus et instruments utilisés; résultats des expériences de stabilité durant l'entreposage au congélateur et présentation des données; analyse statistique; mesures de contrôle de la qualité ou précautions prises pour assurer la validité des opérations, et notamment les dates de chacune des étapes ci-dessus. Il est important que les demandeurs décrivent les procédures de préparation des échantillons destinés aux études quantitatives (par exemple grossièrement hachés, homogénéisés, avec adjonction d'eau ou d'une solution tampon avant l'entreposage).

37. Lorsque plusieurs produits ont été analysés à un moment déterminé, il faut consigner les taux de récupération observés dans chacun des produits (plutôt que de simples valeurs moyennes) pour tous les produits et toutes les récupérations analytiques. Les résultats doivent être présentés en valeurs absolues (en mg/kg) non corrigées par récupération, ainsi qu'en pourcentage de la valeur d'enrichissement nominale. Les taux de récupération analytique individuels, ainsi que la moyenne, doivent également être fournis pour tous les échantillons, y compris pour le premier échantillon prélevé au temps zéro. L'échantillon au temps zéro correspond à la première récupération analytique. Un tableau destiné à

consigner les résultats, ainsi qu'un tableau présenté à titre d'exemple avec quelques remarques supplémentaires, sont présentés à l'annexe 2.

Matériels

(i) Substance d'essai

(A) Si l'on utilise une méthode d'enrichissement, décrire la(les) substance(s) d'essai (nom chimique / nom commun / nom utilisé pour les essais / nom CAS), et notamment les données de détermination/vérification de la pureté des composés d'essai (pour tous les composants couverts par les définitions de résidus), ainsi que la préparation des solutions étalons. Fournir des certificats d'analyse.

(B) Si l'on utilise des échantillons de produits contenant des résidus provenant d'une application de pesticides, confirmer la présence et la quantité de tous les composants couverts par les définitions de résidus dans l'échantillon au « temps zéro » (défini comme étant le début de l'essai de stabilité durant l'entreposage au congélateur). Les premières analyses des échantillons de produits contenant des résidus provenant d'une application de pesticides doivent être effectuées le plus rapidement possible après la récolte.

(C) Toute information complémentaire que le demandeur juge utile et pertinente pour parachever une description et une identification complètes et détaillées des substances d'essai utilisées dans l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur.

(ii) Produit d'essai

(A) Identification des produits, notamment culture, type, variété, nom botanique, le cas échéant.

(B) Stade de croissance, état général (immature/mature, vert/mûr, frais/sec, par exemple) et taille des produits.

(C) Description de la procédure de préparation des échantillons utilisée pour tous les produits avant les essais de stabilité durant l'entreposage au congélateur et durant chaque intervalle de temps (taille, nettoyage ou autre mode d'élimination des résidus, compostage, préparation de sous-échantillons, hachage et extraction, par exemple).

(D) En ce qui concerne les échantillons de produits contenant des résidus provenant d'une application de pesticides: description de la source des échantillons destinés aux études de quantification des résidus, numéro d'identification des essais sur le terrain, échantillon témoin ou échantillon de produit contenant des résidus provenant d'une application de pesticides, informations de codage et d'étiquetage, qui doivent être identiques aux informations attribuées à l'échantillon lors de la récolte ou comporter un renvoi à ces données.

(E) Toute information complémentaire que le demandeur juge utile et pertinente pour parachever une description complète et détaillée des produits.

Méthodes

(iii) Protocole expérimental (nombre de produits d'essai, nombre de substances d'essai, nombre et identification des teneurs d'essai, nombre de répliques par composé et par teneur d'essai, nombre d'intervalles d'échantillonnage, par exemple).

(iv) Méthodes expérimentales

- (A) Méthode d'enrichissement, le cas échéant : description détaillée de la manière dont le(s) composé(s) d'essai a/ont été introduit(s) dans les substrats d'essai.
- (B) Conditions d'entreposage : température, éclairage, types/tailles des contenants, état du produit (extrait/macérât/etc.), taille/poids des échantillons, durée de l'entreposage, etc.
- (C) Échantillonnage: description de la procédure de prélèvement des échantillons au temps zéro, puis à des intervalles réguliers.
- (D) Dates de la préparation des échantillons (macération, extraction, etc.), de l'enrichissement ou de la détermination du type/de la quantité des résidus contenus (au temps zéro) dans des produits ayant été traités avec des pesticides, intervalles d'échantillonnage, date de la fin de l'entreposage au congélateur et des analyses des résidus.
- (E) Méthodes d'analyse des résidus: il convient de mentionner les données/informations suivantes dans le rapport d'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur ou d'annexer la totalité des informations/le rapport complet sur la méthode analytique au rapport d'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur.
 - (1) Titre, désignation, date et source de la méthode analytique. Si la méthode utilisée dans l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur est identique à celle utilisée dans l'étude de quantification des résidus, un simple renvoi à la section concernée suffira.
 - (2) Discussion sur tout écart concernant les réactifs, les méthodes, les instruments, les paramètres opérationnels, etc., par rapport aux méthodes utilisées pour l'analyse des résidus contenus dans des échantillons d'essais sur le terrain ou dans des produits transformés.
 - (3) Explications détaillées sur les principes et les procédures séquentielles, notamment l'extraction, la purification, la préparation de dérivés, le dosage, ainsi que sur les modifications effectuées, les espèces chimiques déterminées, les techniques de confirmation utilisées, etc.
 - (4) Description des instruments et indication des paramètres opérationnels : marque/modèle, type/spécificité des détecteurs, colonnes (garnissage, taille), gaz vecteurs, débits, températures, tension, limite de quantification et sensibilité, méthodes d'étalonnage, etc.
 - (5) Explications sur l'utilisation des réactifs ou sur les étapes nécessitant des mesures de précaution particulières visant à écarter tout risque pour la sécurité ou la santé.
 - (6) Description des méthodes utilisées pour calculer les teneurs en résidus et les taux de récupération.
 - (7) Toute information complémentaire que le demandeur juge utile et pertinente pour parachever une description minutieuse de la méthode d'analyse et des méthodes de calcul des résultats concernant les résidus.

Résultats/Discussion

- (v) Résultats concernant les résidus: données brutes, informations détaillées sur les facteurs de dilution nécessaires, hauteurs/surfaces des pics, taux de récupération analytique (%), formule(s)/courbes d'étalonnage utilisées, concentration des résidus dans les échantillons (mg/kg), récupération, taux de diminution par rapport au jour zéro (le cas échéant) en fonction de la durée d'entreposage, justification de la durée de l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur, etc.
- (vi) Traitements statistiques: description des essais appliqués aux données brutes.
- (vii) Autres: toute information complémentaire que le demandeur juge utile et pertinente pour parachever une description complète et détaillée des résultats.

Conclusion

- (viii) Analyse des conclusions possibles quant à la stabilité du/des composé(s) d'essai dans les produits d'essai en fonction de la durée d'entreposage et des données utilisées pour l'interpolation et l'extrapolation.

Certification

- (ix) Le directeur de l'étude doit fournir une attestation d'authenticité (signature, nom en caractères d'imprimerie, titre, employeur, adresse, numéro de téléphone et date).
- (x) Le responsable désigné doit fournir une déclaration attestant le respect des bonnes pratiques de laboratoire (signature, nom en caractères d'imprimerie, titre, employeur, adresse, numéro de téléphone et date).

Tableaux/figures

- (xi) Tableaux présentant les données relatives aux essais de stabilité durant l'entreposage au congélateur et tableau récapitulatif des teneurs en résidus des échantillons entreposés en fonction des produits et de la durée d'entreposage.
- (xii) Graphiques, figures, diagrammes, etc.

Annexes

- (xiii) Exemplaires représentatifs des chromatogrammes.
- (xiv) Tirés à part des méthodes et des autres études mentionnées, sauf si elles figurent déjà ailleurs dans le dossier, auquel cas un renvoi suffira.
- (xv) Autres: tout renseignement pertinent qui ne relève d'aucune section du rapport.

LITTÉRATURE

- (1) U.S. Environmental Protection Agency (1996), OPPTS 860.1380, 1996, Residue Chemistry.
- (2) Commission des Communautés européennes (1997), document d'orientation 7032/VI/95 rev5, Appendix H, Storage Stability of Residues Samples, 22/7/97.
- (3) Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (1994), Stability of Pesticide Residues in Stored Analytical Samples, ébauche rédigée en 1994 par le Groupe de travail *ad hoc* sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage du Comité du Codex sur les résidus de pesticides.
- (4) Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (1986), Directives pour les essais de résidus de pesticides pour l'obtention de données applicables aux fins d'homologation de pesticides et d'établissement de limites maximales de résidus - Partie 1 – Cultures et produits végétaux.
- (5) Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire du Canada. (1998). Directive 98-02. Lignes directrices sur les résidus chimiques.

ANNEXE 1

Catégories de produits utilisées dans le cadre des analyses de stabilité des résidus de pesticides dans les produits végétaux entreposés

Il convient de faire preuve de jugement dans le choix des produits représentatifs à analyser en vue d'extrapoler les résultats à d'autres produits d'une même catégorie. Ainsi, il ne serait pas judicieux de choisir uniquement des épices ou des houblons et de considérer qu'ils sont représentatifs d'un éventail de produits à forte teneur en huile.

Catégories de produits	Produits compris dans cette catégorie	Produits typiquement représentatifs
Produits à forte teneur en eau	Fruits à pépins Fruits à noyau Légumes à bulbe Légumes à fruit/cucurbitacées Légumes du genre Brassica Légumes à feuilles et herbacées fraîches Légumes à tige Fourrages Légumineuses fraîches Feuilles de légumes-racines et tubercules Canne à sucre Thé vert frais Champignons	Pommes, poires Abricots, cerises, pêches Oignons Tomates, poivrons, concombres, melons chou-fleur, chou de Bruxelles, chou laitue, épinard Poireau, céleri, asperge Fourrage de blé et d'orge, luzerne, Pois frais avec cosse, petit pois, mange tout, fève, haricot à rames, haricot vert Feuilles de betteraves sucrières et fourragères
Produits à forte teneur en huile	Fruits à coque Graines oléagineuses Olives Avocats Houblons Fèves de cacao Grains de café Épices	Noix, noisette, châtaigne Colza oléagineux, tournesol, coton, soja, arachide
Produits à forte teneur en protéines	Légumineuses/légumes secs	Féverole, fève séchée, haricots secs (jaunes, blancs, bruns, coco)
Produits à forte teneur en amidon	Grains de céréales Racines des légumes-racines et tubercules Plantes racines à haute teneur en amidon	Grains de blé, de seigle, d'orge et d'avoine Racines de betteraves sucrières et fourragères, carotte Pomme de terre, patate douce
Produits à forte teneur en acide	Agrumes Baies Groscilles Raisins Kiwi Ananas Rhubarbe	Citron, mandarine, clémentine, orange Fraise, myrtille, framboise Groscilles noires, rouges et blanches

REMARQUE IMPORTANTE: la liste de produits/matrices ci-dessus n'est pas une liste exhaustive et d'autres produits peuvent être utilisés. Les demandeurs sont invités à s'adresser aux autorités de réglementation pour obtenir des informations sur l'utilisation d'autres produits.

ANNEXE 2

Exemple de rapport pour une valeur d'enrichissement de 0.1 mg/kg

Produit	Analyte	Durée d'entreposage (en mois)	Teneur en résidus de l'échantillon destiné à l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur (en mg/kg)	Teneur en résidus de l'échantillon destiné à l'étude de stabilité durant l'entreposage au congélateur (en % de la valeur d'enrichissement nominale) (fourchette plus moyenne)	Taux de récupération analytique pour l'échantillon témoin fraîchement enrichi (en %)
Grain de blé	métabolite a	0	0.101 0.121	101, 121 (111)	101, 121
Grain de blé	métabolite a	3	0.122 0.115	122, 115 (119)	114, 90, 95
Grain de blé	métabolite a	6	0.104 0.116	104, 116 (110)	99, 102, 95
Grain de blé	métabolite a	12	0.089 0.091	89, 91 (90)	98, 100, 103
Grain de blé	métabolite a	18	0.080 0.083	80, 83 (82)	77, 82, 78
Grain de blé	métabolite a	24	0.072 0.069	72, 69 (71)*	75, 80, 79
Pomme	métabolite b	0	0.103 0.096	103, 96 (100)	103, 96
Pomme	métabolite b	3	0.110 0.102	110, 102 (107)	112, 98, 95
Pomme	métabolite b	6	0.096 0.098	96, 98 (97)	100, 103, 95
Pomme	métabolite b	12	0.095 0.107	95, 107 (101)	97, 62, 103
Pomme	métabolite b	18	0.083 0.081	83, 81 (82)	104, 95, 99
Pomme	métabolite b	24	0.062 0.064	62, 64 (63)**	98, 103, 92

* Bien que la teneur en résidus semble avoir diminué de près de 30 %, les échantillons de grain de blé sont considérés comme suffisamment stables pendant une durée d'entreposage au congélateur de 24 mois, dans la mesure où tous les taux de récupération analytique observés ultérieurement sont systématiquement plus faibles que les taux plus récents (même si l'on considère qu'une légère diminution de la stabilité a été observée).

** Par contre, les résidus du métabolite b dans la pomme ne sont considérés comme suffisamment stables que pendant une durée maximale d'entreposage au congélateur de 18 mois.