

# **GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION**

## **DOSAGE DES MYCOTOXINES ET DES PHYCOTOXINES DANS LES DENREES ALIMENTAIRES DESTINEES A L'HOMME OU AUX ANIMAUX**

**LAB GTA 21**

Révision 02



## SOMMAIRE

<b>1. OBJET DU DOCUMENT .....</b>	<b>3</b>
<b>2. REFERENCES ET DEFINITIONS.....</b>	<b>3</b>
2.1 REFERENCES NORMATIVES .....	3
2.2 DEFINITIONS.....	3
2.3 SIGLES ET ABREVIATIONS.....	4
<b>3. DOMAINE D'APPLICATION.....</b>	<b>4</b>
<b>4. MODALITES D'APPLICATION .....</b>	<b>5</b>
<b>5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS .....</b>	<b>5</b>
<b>6. PORTEES D'ACCREDITATION.....</b>	<b>5</b>
<b>7. GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES D'ACCREDITATION ET RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>9</b>
7.1 GENERALITES.....	9
7.2 METHODES.....	9
7.2.1 Méthodes reconnues .....	9
7.2.2 Méthodes non reconnues .....	9
7.3 PRESCRIPTIONS TECHNIQUES RELATIVES AU DOSAGE DES MYCOTOXINES ET DES PHYCOTOXINES... 10	
7.3.1 Echantillon pour laboratoire.....	10
7.3.1.1 Réception des échantillons .....	10
7.3.1.2 Préparation des échantillons.....	10
7.3.2 Installation et conditions ambiantes.....	11
7.3.3 Equipements – Traçabilité du mesurage.....	11
7.3.4 Réactifs et consommables.....	12
7.3.5 Qualité des résultats.....	12
7.3.6 Rapport d'analyse.....	13
7.3.7 Sécurité.....	13
<b>8. MODALITES D'EVALUATION .....</b>	<b>13</b>
DOCUMENTS ANNEXES .....	14
Annexe I : Liste des méthodes d'analyse du LNR ( <i>phycotoxines</i> ).....	15
Annexe II : Masses minimales des échantillons pour l'analyse des mycotoxines et des phycotoxines .....	16
Annexe III : Matrices et sous-matrices* .....	19
Annexe IV : Paramètres analytiques* ( <i>grandeurs</i> ).....	22
Annexe V : Méthode de mesure ( <i>dosage</i> ).....	23

## 1. OBJET DU DOCUMENT

La norme NF EN ISO/CEI 17025 et le document Cofrac LAB REF 02 définissent les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'analyses.

En ligne avec l'annexe B de la norme NF EN ISO/CEI 17025, le présent guide technique d'accréditation a pour objet d'expliciter certaines exigences appliquées à la recherche et au dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux.

Il rappelle également les exigences spécifiques à satisfaire par les laboratoires dans le cadre des analyses en référence à la réglementation, et donne des recommandations à leur attention pour les aider à obtenir et maintenir l'accréditation dans ce domaine d'analyses.

Ces recommandations sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le Cofrac pour répondre aux exigences de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et à celles du document Cofrac LAB REF 02.

Le laboratoire est libre de ne pas appliquer ces recommandations mais il lui appartient dans ce cas de démontrer que les dispositions qu'il met en œuvre lui permettent de satisfaire pleinement les exigences de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et celles du document Cofrac LAB REF 02.

## 2. REFERENCES ET DEFINITIONS

La liste des documents ci-dessous constitue une base de données non exhaustive. Il appartient au laboratoire d'assurer la veille documentaire (normative et réglementaire).

### 2.1 Références normatives

Le présent texte fait référence aux documents suivants :

- **Norme NF EN ISO/CEI 17025** « Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais ».
- **LAB REF 02** « Exigences pour l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 ».
- **LAB REF 08** « Expression et évaluation des portées d'accréditation ».

### 2.2 Définitions

Accréditation : reconnaissance, par un organisme indépendant faisant autorité, de la compétence d'un organisme à réaliser des activités spécifiées d'évaluation de la conformité (extrait du LAB REF 05).

Portée d'accréditation : énoncé formel et précis des activités pour lesquelles l'organisme est accrédité, tel que défini dans le document LAB REF 08 (extrait du LAB REF 05).

Ligne de portée d'accréditation : Elle est composée au minima des champs « Objet », « Caractéristique mesurée ou recherchée », « Principe de la méthode » et « Référence de la méthode ».

Comparaison interlaboratoires : Organisation, exécution et évaluation d'étalonnages / d'essais sur des objets soumis à l'étalonnage / l'essai identiques ou semblables par au moins deux laboratoires différents dans des conditions prédéterminées (extrait du LAB REF 05).

## 2.3 Sigles et abréviations

- Afnor, Association Française de Normalisation, [www.afnor.org](http://www.afnor.org)
- Cofrac, Comité Français d'Accréditation, [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)
- ANSES, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, [www.anses.fr](http://www.anses.fr)
- LNR, Laboratoire National de Référence
- ISO, Organisation Internationale de normalisation, [www.iso.org](http://www.iso.org)
- JOUE, Journal Officiel de l'Union Européenne
- CG, Chromatographie gazeuse
- CL, Chromatographie liquide
- SM, Spectrométrie de masse
- ELISA, Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
- CCM, Chromatographie sur couche mince
- UV, Ultra-violet
- FLUO, Fluorimétrie
- LD, Limite de détection
- LQ, Limite de quantification
- EIL, Essais inter-laboratoires
- MRC, Matériau de référence certifié
- MRE, Matériau de référence externe
- MRI, Matériau de référence interne
- PSP, Phycotoxines paralysantes
- ASP, Phycotoxines amnésiantes
- SI, Système International d'unités
- E.A, European Cooperation for Accreditation

## 3. **DOMAINE D'APPLICATION**

Ce document s'applique aux laboratoires candidats à l'accréditation pour la recherche et le dosage des mycotoxines et phycotoxines réalisés selon des méthodes normalisées ou non.

Ce document s'adresse également aux :

- Evaluateurs du Cofrac amenés à intervenir dans ce secteur. Il constitue une base d'harmonisation à leur usage,
- Membres des instances décisionnelles du Cofrac : Comité de Section Laboratoires, Commission d'Accréditation Agro – Alimentaire,
- Membres de la structure permanente du Cofrac,
- Clients des laboratoires,
- Instances officielles.

L'accréditation est délivrée pour une portée définie par le laboratoire correspondant à ses besoins et suivant les différentes options décrites dans le document LAB REF 08.

## 4. MODALITES D'APPLICATION

Ce document est applicable à compter du **15 juillet 2017**.

## 5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS

Ce document annule et remplace la révision 01 de ce guide technique d'accréditation.

Les modifications apportées sont indiquées par une marque de révision en marge gauche du document. Ces modifications concernent la reformulation de l'expression des portées d'accréditation, telles que définies dans le document LAB REF 08 révision 04. Elles touchent uniquement la forme des dénominations des portées d'accréditation et ne modifient pas le champ de compétence revendiqué.

## 6. PORTEES D'ACCREDITATION

La portée d'accréditation est définie, conformément aux exigences décrites dans le document LAB REF 08, par le laboratoire à partir des quatre éléments suivants :

1. Objet (*matrice et sous-matrice*),
2. Grandeur ou caractéristique mesurée (*paramètre analytique recherché ou dosé*),
3. Principe de mesure (*extraction, purification, analyse*),
4. Référence de la méthode (*textes normatifs, méthode interne*).

Pour établir sa portée, le laboratoire se reporte aux annexes III, IV & V qui listent les matrices, grandeurs et méthodes de mesure applicables au cas du dosage des mycotoxines et phycotoxines.

Plusieurs exemples de portée d'accréditation pour des demandes de type Fixe, flexible FLEX1, flexible FLEX2 et flexible FLEX3 sont indiqués ci-après.

### Exemple d'expression de portée FIXE

Ce type de portée peut s'appliquer à un laboratoire ne souhaitant pas faire évoluer les versions de ses méthodes reconnues, ou les protocoles techniques de ses méthodes non reconnues, entre deux évaluations Cofrac.

Le laboratoire ne peut pas utiliser sous accréditation les révisions de ses méthodes reconnues ou les modifications techniques apportées à ses méthodes non reconnues. Il doit pour cela demander auparavant une évolution de sa portée, qui est examinée par le Cofrac dans le cadre d'une évaluation d'extension.

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> ( <i>Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21</i> )			
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>	<b>Référence de la méthode</b>
Vin et bière	Dosage de l'ochratoxine A	<b>Purification</b> :Immunoaffinité <b>Analyse</b> : CL/FLUO	NF EN 14133 Janvier 2004

Portée FIXE : Le laboratoire est reconnu compétent pour pratiquer les méthodes décrites en respectant strictement les méthodes reconnues mentionnées dans la portée d'accréditation.

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> (Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21)			
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>	<b>Référence de la méthode</b>
Maïs	Dosage des fumonisines B1 et B2	<b>Extraction</b> Par solvant (Eau/Méthanol) <b>Purification</b> : Immunoaffinité <b>Analyse</b> : CL/SM	Méthode interne (référence précisée)

*Portée FIXE* : Le laboratoire est reconnu compétent pour pratiquer les méthodes décrites en respectant strictement les méthodes mentionnées dans la portée d'accréditation. Les modifications techniques du mode opératoire ne sont pas autorisées.

### **Exemple d'expression de portée flexible FLEX1**

Ce type de portée FLEX1 est particulièrement adapté pour un laboratoire souhaitant s'appropriier les révisions successives d'une méthode reconnue et les pratiquer sous accréditation sans évaluation et décision préalables du Cofrac, tant que le contenu de la méthode reste en adéquation avec la description de la portée. Les révisions des méthodes reconnues figurant dans sa portée d'accréditation ne doivent pas induire de compétences nouvelles pour lesquelles le laboratoire n'a pas été initialement évalué. La définition d'une méthode reconnue étant précisée dans le document LAB REF 08.

Lors de l'évolution des méthodes reconnues citées en référence dans la portée d'accréditation, à la suite de nouvelles éditions ou révisions, le laboratoire mettra en application la nouvelle version selon les modalités qu'il aura définies dans son système de management de la qualité et ce dans un délai de 6 mois à compter de la date de parution de la nouvelle version.

Si la révision de la méthode reconnue implique une nouvelle compétence, le laboratoire doit se soumettre à une évaluation du Cofrac avant de pouvoir revendiquer l'application de la méthode révisée sous accréditation.

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> (Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21)			
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>	<b>Référence de la méthode</b>
Vin et bière	Dosage de l'ochratoxine A	<b>Purification</b> : Immunoaffinité <b>Analyse</b> : CL/FLUO	NF EN 14133
<b>Coquillages</b> : Chair totale des coquillages et petits poissons herbivores	Dosage de l'acide domoïque : <i>Phycotoxines amnésiantes (ASP)</i>	<b>Extraction</b> : Par solvant <b>Purification</b> : liquide/solide SPE (optionnelle) <b>Analyse</b> : CL/UV	LNRBM-ASP 01

*Portée flexible FLEX1* : Le laboratoire est reconnu compétent pour pratiquer les essais en suivant les méthodes référencées et leurs révisions ultérieures.

## Exemple d'expression de portée flexible FLEX2

Ce type de flexibilité est particulièrement adapté pour les laboratoires qui souhaitent avoir en plus la possibilité, entre deux visites d'évaluation du Cofrac, d'utiliser sous accréditation des méthodes reconnues reposant sur des compétences techniques qu'ils ont précédemment démontrées.

Par exemple, un laboratoire utilisant en routine des normes pourra aussi étendre son activité accréditée à de nouvelles méthodes reconnues après obtention de son accréditation et restant en adéquation avec sa portée d'accréditation, sans évaluation et décision préalables du Cofrac

### Portée générale

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> (Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21)		
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>
Maïs	Mycotoxines	<b>Extraction :</b> Par solvant <b>Purification :</b> Immunoaffinité <b>Analyse :</b> CL/FLUO
Coquillages	Phycotoxines	<b>Extraction :</b> Par solvant <b>Purification :</b> Néant <b>Analyse :</b> Bioessais sur souris CL/UV

*Portée flexible FLEX2 : le laboratoire est reconnu compétent pour adopter toute méthode reconnue dans le domaine couvert par la portée générale.*

### Portée détaillée\*

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> (Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21)			
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>	<b>Référence de la méthode</b>
Maïs	Dosage des fumonisines B1 et B2	<b>Extraction :</b> Par solvant (méthanol/Eau) <b>Purification :</b> Colonne phase solide (EPS) <b>Analyse :</b> CL/FLUO	NF EN 13585
<b>Coquillages :</b> Glande digestive des coquillages	Dosage de phycotoxines lipophiles	<b>Extraction :</b> Par solvant <b>Purification :</b> Partition liquide/liquide <b>Analyse :</b> Bioessais sur souris	LNRBM-LIP 01

\*La liste exhaustive des analyses proposées sous accréditation est tenue à jour par le laboratoire.

### Exemple d'expression de portée flexible FLEX3

Ce type de portée est adapté pour un laboratoire qui demande l'accréditation pour un champ de compétences défini sans spécifier la référence des méthodes. Il peut utiliser sous accréditation sans évaluation préalable du Cofrac tout type de méthodes correspondant au descriptif fait dans sa portée d'accréditation, pourvu qu'il ait apporté la preuve qu'elles sont validées et maîtrisées.

Ce profil de flexibilité de portée inclut les possibilités offertes dans le type FLEX2, mais aussi la possibilité de concevoir des méthodes, d'adapter des méthodes existantes ou d'adopter des méthodes non reconnues et de les utiliser sous accréditation sans évaluation préalable du Cofrac.

En fonction de la portée détaillée revendiquée par le laboratoire, la portée générale et le commentaire associé seront adaptés pour correspondre aux besoins du laboratoire et aux compétences démontrées.

#### Portée générale

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> (Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21)		
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>
Céréales	Mycotoxines	<b>Extraction</b> : Par solvant <b>Purification</b> : Immunoaffinité <b>Analyse</b> : CL/SM-SM

*Portée flexible FLEX3* : Le laboratoire est reconnu compétent pour adopter toute méthode reconnue dans le domaine couvert par la portée générale, et pour développer ou mettre en œuvre toute autre méthode dont il aura assuré la validation.

#### Portée détaillée\*

<b>Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques</b> (Dosage des mycotoxines et des phycotoxines dans les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux - LAB GTA 21)			
<b>Objet</b>	<b>Caractéristique mesurée ou recherchée</b>	<b>Principe de la méthode</b>	<b>Référence de la méthode</b>
Maïs	Dosage de la Zéaralénone	<b>Extraction</b> : Par solvant (méthanol/Eau) <b>Purification</b> : Immunoaffinité <b>Analyse</b> : CL/SM-SM	Méthode interne (référence précisée)

\*La liste exhaustive des analyses proposées sous accréditation est tenue à jour par le laboratoire.

## 7. GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES D'ACCREDITATION ET RECOMMANDATIONS

### 7.1 Généralités

L'aptitude d'un laboratoire à être accrédité par le Cofrac est examinée au regard du respect :

- des exigences de la norme NF EN ISO/CEI 17025,
- des exigences générales du Cofrac, principalement celles définies dans le document LAB REF 02,
- des explicitations de ces exigences pour le domaine technique en objet, approuvées par la Commission Technique Agroalimentaire et déclinées ci-après.

### 7.2 Méthodes

#### 7.2.1 Méthodes reconnues

Les méthodes normalisées et les méthodes considérées comme reconnues (portées de type FLEX1 et FLEX2) publiées dans des documents de référence par des organismes reconnus ne nécessitent pas de validation préalable à l'accréditation.

Le laboratoire établira toutefois un dossier de **caractérisation**, qui comporte a minima, pour les méthodes physico-chimiques, les éléments suivants :

- La linéarité, si applicable,
- La limite de détection (LD),
- La limite de quantification (LQ),
- Les données de fidélité (répétabilité et reproductibilité),
- Les données de justesse\* (EIL, MRC, MRE, MRI, Ajouts dosés).

\* En ce qui concerne les méthodes de type Bioessais sur animaux, le dossier de **caractérisation** comportera des données de justesse.

#### 7.2.2 Méthodes non reconnues

Pour toute méthode reconnue ayant fait l'objet d'une adaptation et toute méthode développée en interne ainsi que les protocoles fournisseurs de Kits ELISA, le laboratoire doit être à même de présenter à l'appui un dossier de validation conformément aux exigences de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et du LAB REF 02.

Pour valider une matrice principale (Cf. annexe III), il est envisageable de réaliser :

- Une validation complète sur une sous-matrice,
- Un complément de validation par une étude du rendement à la LQ et à 10 x LQ ou par l'exploitation des données inter-laboratoires (EIL avec un Z-score  $\leq |2|$ ) sur 2 autres sous-matrices.

Toutefois dans tous les cas, il appartiendra au laboratoire de s'interroger sur un éventuel « effet matrice » lors de l'intégration d'une nouvelle sous-matrice.

Dans le cas où le champ d'application d'une méthode ne porterait que sur une ou deux sous matrices, la validation n'est réalisée que sur ces dernières.

Il est attendu que le dossier de validation comporte au minimum les éléments suivants :

- La linéarité, si applicable,
- La limite de détection (*LD*),
- La limite de quantification (*LQ*),
- Les données de fidélité (*répétabilité et reproductibilité*),
- Les données de justesse (*EIL, MRC, MRE, MRI, Ajouts dosés*),
- L'étendue de mesure (*domaine de validité des mesures*),
- La spécificité,
- Le rendement (*taux de récupération devrait être compris entre 50 % et 120 %*).

### **7.3 Prescriptions techniques relatives au dosage des mycotoxines et des phycotoxines**

#### **7.3.1 Echantillon pour laboratoire**

**NF EN ISO/CEI 17025 § 5.7**

##### 7.3.1.1 Réception des échantillons

Le laboratoire doit définir des critères d'acceptabilité des échantillons à réception.

Dans le cas où les échantillons réceptionnés au laboratoire ne répondent pas à ces critères, il conviendra d'en informer le client, de le notifier sur le rapport d'essai et d'en tenir compte dans le cas d'une demande de déclaration de conformité.

Le laboratoire définira en particulier les masses minimales d'échantillon suivant les recommandations définies dans l'annexe II, ceci dans le cas où ces informations ne sont pas définies dans la méthode d'essai ou dans tout autre document modifiant la méthode.

L'enregistrement de la masse d'échantillon réceptionnée doit être assuré.

##### 7.3.1.2 Préparation des échantillons

Le laboratoire doit définir un protocole de préparation des échantillons pour essai permettant d'assurer la meilleure homogénéité du produit, ceci dans le cas où ces exigences ne sont pas définies dans la méthode d'analyse. Durant cette phase de préparation (broyage et homogénéisation), il convient de prendre toutes les dispositions pour que les échantillons ne soient pas contaminés.

D'une manière générale, il est recommandé que la totalité de l'échantillon reçu au laboratoire soit utilisée pour la préparation de l'échantillon pour essai notamment concernant le broyage et l'homogénéisation de l'échantillon. Il est toutefois possible pour le laboratoire de diviser la taille de l'échantillon reçu et de ne conduire ainsi les opérations de broyage et d'homogénéisation que sur une partie réduite de l'échantillon réceptionné. Dans ce cas, il appartiendra au laboratoire de définir et de justifier le protocole de réduction de l'échantillon reçu de manière à montrer que ce protocole conduit bien à un échantillon réduit représentatif de l'échantillon de départ.

Pour cette opération de broyage / homogénéisation, il convient que le laboratoire définisse les points suivants :

- Quantité d'échantillon traité,
- Technique d'homogénéisation retenue (sec ou humide),
- Type d'équipement utilisé,

- Finesse de la mouture finale (pour les produits secs, il est recommandé que la granulométrie soit au maximum de 1mm. Au-delà de cette valeur, il appartiendra au laboratoire de justifier son choix),
- Procédure de nettoyage des équipements.

Le protocole retenu tiendra compte de la matrice et du niveau d'hétérogénéité de contamination.

### 7.3.2 Installation et conditions ambiantes

**NF EN ISO/CEI 17025 § 5.3**

La disposition des locaux et l'organisation des flux (échantillons standards...) devront permettre d'éviter toutes contaminations croisées.

#### Cas des phycotoxines

Le local où sont préparés les échantillons (*extraction et purification des extraits*) doit être séparé du local de manipulation des souris (*cas des bio-essais*).

### 7.3.3 Equipements – Traçabilité du mesurage

**NF EN ISO/CEI 17025 § 5.6**

Les équipements de mesure critiques doivent faire l'objet d'un raccordement métrologique conformément aux dispositions décrites dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 et le document Cofrac LAB REF 02.

Le laboratoire procédera en particulier au raccordement en longueur d'onde et en absorbance du spectromètre UV/Visible utilisé pour le contrôle des solutions standards de mycotoxines. Ce raccordement peut se faire par l'utilisation de filtres ou de solutions étalons raccordés en longueur d'onde et absorbance par un laboratoire d'étalonnage accrédité.

Les équipements de chromatographie (*liquide ou gazeuse*) ne nécessitent pas un raccordement métrologique : la fiabilité du système analytique peut se vérifier par rapport à des matériaux de référence (*MRC, MRE ou MRI*).

Les lecteurs de plaques ELISA sont à considérer comme des équipements critiques et feront l'objet, au même titre que les spectromètres UV/Visible d'un raccordement au SI.

Pour ce qui concerne les Instruments Volumétriques à Piston (*micropipettes*), un certificat d'étalonnage avec logotype Cofrac (*ou de tout autre organisme signataire des accords de reconnaissance multilatéraux étalonnage d'E.A*) permet d'assurer un raccordement au SI. Toutefois, un raccordement interne au SI par pesée suivant une procédure détaillée est recevable.

Pour la verrerie jaugée de classe A ( *fioles, pipettes*), un contrôle métrologique systématique n'est pas nécessaire mais une vérification peut être envisagée dans le cadre de l'évaluation des incertitudes de mesure.

Lorsque la température a une influence sur le résultat d'analyse, celle-ci est à mesurer à l'aide d'un système de mesure raccordé au SI.

De plus, la température des enceintes thermostatées de stockage des échantillons, des étalons, des consommables est à contrôler. Chaque laboratoire définit la criticité des produits contenus dans ses enceintes et adapte les contrôles à mettre en place pour assurer la qualité des résultats. Le suivi de la température est à réaliser a minima avec un thermomètre mini/maxi. Par ailleurs, lorsque des réactifs sont à conserver à une température évitant de les altérer, alors la cartographie de l'enceinte concernée est à réaliser.

### 7.3.4 Réactifs et consommables

**NF EN ISO/CEI 17025 § 4.6**

Le laboratoire doit disposer d'une procédure pour la sélection, l'achat, la réception et le stockage des produits consommables qui ont des incidences sur la qualité des résultats (*colonne d'immunoaffinité, kit enzymatique, étalons de mycotoxines*).

#### **Cas des mycotoxines :**

Les colonnes d'immunoaffinité feront l'objet avant toute utilisation d'un nouveau lot, d'une vérification de leur capacité et du taux de récupération selon une procédure définie, ceci dans le cas où cette disposition n'est pas déjà décrite dans la méthode. Le certificat du fournisseur n'est pas suffisant pour assurer la conformité des colonnes d'immunoaffinité.

Les solutions étalon de mycotoxines sont à contrôler selon une procédure et une fréquence définies. Pour les solutions standards pour lesquelles ce contrôle ne peut être réalisé, le laboratoire devrait disposer de la part de son fournisseur d'un certificat garantissant la teneur annoncée.

#### **Cas des phycotoxines :**

Il est recommandé d'utiliser des solutions standards certifiées. Lorsque des solutions standards non certifiées sont utilisées, un contrôle de leur teneur est à réaliser préalablement à leur utilisation, au moyen d'une solution standard certifiée. A défaut de pouvoir contrôler le titre des solutions standards, le laboratoire doit disposer d'un certificat garantissant la teneur annoncée, délivré par son fournisseur.

Dans le cas particulier des méthodes qualitatives par bio-essais sur souris, une solution standard préparée à partir d'un étalon non certifié peut être utilisée pour la supplémentation des contrôles internes sans détermination préalable de la teneur par un étalon certifié.

### 7.3.5 Qualité des résultats

**NF EN ISO/CEI 17025 § 5.9**

Le laboratoire doit disposer d'une procédure de maîtrise de la qualité pour surveiller régulièrement la validité des essais réalisés (*autocontrôle*) conformément aux exigences de la norme EN ISO/CEI 17025 et à celles du LAB REF 02.

Le laboratoire disposera d'une procédure de détermination du taux de récupération par type de mycotoxines et de matrices (a minima 1 sous-matrice par matrice principale), à une fréquence définie. Il est recommandé que cette vérification soit effectuée une fois par an par type de mycotoxines et de matrices (a minima 1 sous-matrice par matrice principale). Pour évaluer ce taux de récupération, il convient de privilégier l'utilisation de matériaux de référence (MRC, MRE, MRI,) ou à défaut de recourir à des échantillons supplémentés. Dans ce dernier cas, le laboratoire devra disposer d'une procédure de supplémentation des échantillons.

Le laboratoire a l'obligation de participer à des essais interlaboratoires (EIL) pour les paramètres objets de l'accréditation quand de tels circuits existent. Dans le cas des mycotoxines, il est fortement recommandé que le laboratoire participe aux circuits de comparaisons interlaboratoire :

- une fois par an pour chaque mycotoxine,
- une fois dans le cycle d'accréditation pour chaque matrice.

L'exploitation de ces résultats doit être réalisée conformément aux exigences du LAB REF 02.

### 7.3.6 Rapport d'analyse

**NF EN ISO/CEI 17025 § 5.10**

La masse de l'échantillon reçu au laboratoire devrait être reportée sur le rapport d'essai.

Le résultat doit être reporté sur le rapport d'analyse en précisant si ce résultat est sous forme corrigée ou non corrigée du taux de récupération.

L'incertitude de mesure doit obligatoirement être évaluée par le laboratoire pour chaque essai de sa portée d'accréditation, exception faite des bio-essais sur souris. Pour ce dernier cas, il conviendra d'identifier les facteurs susceptibles d'influencer le résultat de mesure.

Cette incertitude doit être reportée sur le rapport d'essai sous la forme  $y \pm U$ , en précisant la valeur du facteur d'élargissement  $k$  appliqué, dans les cas indiqués au § 9.2.2.2 du LAB REF 02.

### 7.3.7 Sécurité

**NF EN ISO/CEI 17025 § 4.1.2**

Les pratiques relatives à la dangerosité de certaines mycotoxines (*cancérogènes*) ne sont pas considérées lors de l'évaluation du laboratoire par le Cofrac. Toutefois, le laboratoire est sensé appliquer des règles de bonnes pratiques de laboratoire au regard du domaine concerné.

## 8. MODALITES D'EVALUATION

L'évaluation du laboratoire est réalisée conformément aux dispositions des documents LAB REF 05 (règlement d'accréditation) et LAB REF 08 (expression et évaluation des portées d'accréditation) en vigueur. L'équipe d'évaluation chargée des opérations d'évaluation sur site est composée, selon le cas, d'un évaluateur qualicien et d'un ou plusieurs évaluateurs techniques, ou d'un évaluateur technique responsable d'évaluation.

## **DOCUMENTS ANNEXES**

**Annexe I** Liste des méthodes d'analyse du LNR (Phycotoxines)

**Annexe II** Masses minimales des échantillons pour l'analyse des mycotoxines et des phycotoxines

**Annexe III** Matrices et sous-matrices

**Annexe IV** Grandeurs analytiques

**Annexe V** Méthodes de mesures

## Annexe I : Liste des méthodes d'analyse du LNR (*phycotoxines*)

Code	Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
1	<b>Coquillages :</b> Chair totale des coquillages et petits poissons herbivores	Dosage de l'acide domoïque : <i>Phycotoxines amnésiantes (ASP)</i>	<b>Extraction :</b> Par solvant <b>Purification :</b> liquide/solide SPE (optionnelle) <b>Analyse :</b> CLHP/UV	LNRBM-ASP 01
2	<b>Coquillages :</b> Glande digestive des coquillages	Dosage de phycotoxines lipophiles	<b>Extraction :</b> Par solvant <b>Purification :</b> Partition liquide/liquide <b>Analyse :</b> Bioessai sur souris	LNRBM-LIP 01
3	<b>Coquillages :</b> Chair totale	Dosage de phycotoxines lipophiles	<b>Extraction:</b> Par solvant <b>Purification :</b> Partition liquide/liquide <b>Analyse :</b> Bioessai sur souris	LNRBM-LIP 02
4	<b>Coquillages :</b> Chair totale ou partie comestible des coquillages	Dosage des phycotoxines paralysantes ( <i>PSP</i> ) (saxitoxine et dérivés)	<b>Extraction</b> Par solvant en milieu acide <b>Analyse :</b> Bioessai sur souris	LNRBM-PSP 01
5	<b>Coquillages :</b> Chair totale ou partie comestible des coquillages	Dosage des toxines lipophiles	<b>Extraction :</b> Par méthanol <b>Purification (option):</b> liquide/solide SPE <b>Analyse :</b> CL-SM-SM	Anses MA CAT-NAT 07

## Annexe II : Masses minimales des échantillons pour l'analyse des mycotoxines et des phycotoxines

### II-1 Produits d'origine végétale (matières premières)

Matrices principales	Sous matrices*	Masse minimale
<b>Céréales</b>	<b>Blé tendre, Blé dur, Maïs, Orge, Avoine, Seigle, Sorgho, Riz</b> <i>(et autres céréales de même taille)</i>	<b>1000 g</b>
<b>Oléagineux</b> <i>(graines et fruits)</i>	<b>Colza, sésame</b> <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	<b>500 g</b>
	<b>Soja, Tournesol, Arachide, Coton</b> <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	<b>2000 g</b>
	<b>Palmiste, Palme, Olive</b> <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	<b>3000 g</b>
	<b>Coprah</b> <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	<b>5000 g</b>
<b>Fruits à coques</b>	<b>Arachide, Pistache, Amande, Noisette</b> <i>(et autres fruits à coques de même taille)</i>	<b>2000 g</b>
	<b>Noix et Noix du Brésil</b> <i>(et autres fruits à coques de même taille)</i>	<b>3000 g</b>
<b>Fruits séchés</b>	<b>Raisin</b> <i>(et autres fruits séchés de même taille)</i>	<b>1000 g</b>
	<b>Figues</b> <i>(et autres fruits séchés de même taille)</i>	<b>3000 g</b>
<b>Fruits frais</b>	<b>Raisin</b> <i>(et autres fruits frais de même taille)</i>	<b>2000 g</b>
	<b>Pomme, Poire</b> <i>(et autres fruits frais de même taille)</i>	<b>3000 g</b>
<b>Épices</b>	<b>Safran</b>	<b>100 g</b>
	<b>Poivre</b> <i>(et autres épices de même taille)</i>	<b>500 g</b>
	<b>Noix de muscade, Gingembre, Piments</b> <i>(et autres épices de même taille)</i>	<b>1000 g</b>
<b>Café / Cacao</b>	<b>Café vert et torréfié</b>	<b>1000 g</b>
	<b>Fève de cacao</b>	<b>3000 g</b>
<b>Légumineuses</b> <i>(légumes secs)</i>	<b>Haricot, Pois, Fève, Lentille</b> <i>(et autres légumes secs de même taille)</i>	<b>2000 g</b>
<b>Tubercules</b>	<b>Manioc, Taro, Igname</b> <i>(et autres tubercules de même taille)</i>	<b>5000 g</b>

## II-2 Produits d'origine végétale (produits dérivés et/ou transformés)

Matrices principales	Sous matrices*	Masse minimale (ou volume)
Produits dérivés des céréales	Farine, semoule, Son, Gruau	500 g
	Pâtes alimentaires	250 g
	Produits de la panification	250 g
	Produits de la biscuiterie et biscotterie	250 g
	Céréales pour petit déjeuner Préparation à base de céréales	250 g
Produits dérivés des oléagineux et des fruits à coques	Huile ( <i>brute, vierge et raffinée</i> )	500 ml
	Tourteaux oléagineux et farine	500 g
	Pâte ( <i>arachide, noisette, pistache...</i> )	500 g
Boissons alcoolisées	Vins, Bière, Cidre, Moût ( <i>et autres boissons alcoolisées</i> )	250 ml
Produits dérivés des fruits	Jus de fruits	250 ml
	Concentrés de jus de fruits	50 g
	Compotes et Purées	250 g
	Aliments infantiles	250 g
Produits dérivés du café et cacao	Poudre et beurre de cacao Chocolat et produits chocolatés	250 g
	Café soluble Préparation à base de café	250 g
Épices	Épices moulues	250 g
Aliments pour animaux	Aliments pour bovins, ovins, caprins, volailles, poissons et animaux de compagnie	500 g

### II-3 Produits d'origine animale (matières premières & produits dérivés)

<b>Matrices principales</b>	<b>Sous matrices*</b>	<b>Masse minimale (ou volume)</b>
<b>Produits laitiers</b>	<b>Lait liquide</b>	<b>250 ml</b>
	<b>Lait en poudre</b>	<b>250 g</b>
	<b>Fromage, Beurre, Yaourt</b>	<b>250 g</b>
<b>Produits carnés</b>	<b>Tissus musculaires, Rognons, Foie, Boudin noir</b>	<b>500 g*</b>
<b>Coquillages mollusques</b>	<b>Mollusques bivalves dont pectinidés</b>	Dosage toxines paralysantes : 1 kg en coquille ou 150 g décoquillé, composé de 10 individus au minimum
		Dosage toxines amnésiantes : 250g en coquille ou 100 g décoquillé, composé de 10 individus au minimum
		Dosage toxines lipophiles : 1 kg en coquille ou 150 g décoquillé, composé de 10 individus au minimum
<b>Poissons</b>	<b>Anchois et autres petits poissons herbivores</b>	<b>100 g</b>
	<b>Autres espèces</b>	<b>100 g</b>

\* Le laboratoire a la possibilité d'opérer sur des masses inférieures à celles recommandées sous réserve de justifier la dérogation et d'obtenir l'accord du client

LA VERSION ELECTRONIQUE EST NON VALABLE

### Annexe III : Matrices et sous-matrices\*

#### III-1 Produits d'origine végétale (*matières premières*)

Matrices principales	Sous matrices*
<b>Céréales</b>	Blé tendre
	Blé dur
	Maïs
	Orge
	Avoine
	Seigle
	Sorgho
	Riz
	Autres céréales ( <i>à préciser</i> )
<b>Oléagineux</b> ( <i>graines et fruits</i> )	Soja
	Tournesol
	Arachide
	Colza
	Coton
	Palmiste
	Coprah
	Palme
	Olive
	Autres oléagineux ( <i>à préciser</i> )
<b>Fruits à coques</b>	Arachide
	Pistache
	Amande
	Noisette
	Noix
	Noix du Brésil
	Autres fruits à coque ( <i>à préciser</i> )
<b>Fruits séchés</b>	Raisin
	Figues
	Date
	Abricots
	Autres fruits séchés ( <i>à préciser</i> )
<b>Fruits frais</b>	Pomme
	Raisin
	Autres fruits ( <i>à préciser</i> )
<b>Epices</b>	Piments
	Poivre
	Noix de muscade
	Gingembre
	Safran
	Autres épices ( <i>à préciser</i> )
<b>Café / Cacao</b>	Café vert
	Café torréfié ( <i>grains</i> )
	Fève de cacao
<b>Légumineuses</b> ( <i>légumes secs</i> )	Haricot
	Pois
	Fève
	Lentille
	Autres légumineuses ( <i>à préciser</i> )
<b>Tubercules</b>	Manioc
	Taro
	Igname
	Autres tubercules ( <i>à préciser</i> )

\* Liste non exhaustive

### III-2 Produits d'origine végétale (produits dérivés et/ou transformés)

Matrices principales	Sous matrices*
Produits dérivés des céréales	Farine
	semoule
	Son / Gruau
	Pâtes alimentaires
	Produits de la panification
	Produits de la biscuiterie et biscotterie
	Céréales pour petit déjeuner
	Préparation à base de céréales
	Autres produits dérivés (à préciser)
Produits dérivés des oléagineux et des fruits à coques	Huile végétale (brute, vierge et raffinée)
	Tourteaux oléagineux
	Farine
	Pâte
Boissons alcoolisées	Autres produits dérivés (à préciser)
	Vins rouge et blanc
	Vins mousseux
	Vins aromatisés
	Bière
	Cidre
	Moût
Autres produits alcooliques (à préciser)	
Produits dérivés des fruits	Jus
	Concentré
	Compote / Purée
	Aliments infantiles
Produits dérivés du café et cacao	Autres produits dérivés (à préciser)
	Poudre de cacao
	Beurre de cacao
	Chocolat
	Produits chocolatés
	Café soluble
	Préparation à base de café
	Autres produits dérivés (à préciser)
	Aliments pour animaux
Aliments pour ovins	
Aliments pour caprins	
Aliments pour volailles	
Aliments pour poissons	
Aliment pour animaux de compagnie	
Autres aliments (à préciser)	

\* Liste non exhaustive

### III-3 Produits d'origine animale (*matières premières & produits dérivés*)

<b>Matrices principales</b>	<b>Sous matrices*</b>
<b>Produits laitiers</b>	Lait liquide
	Lait en poudre
	Fromage
	Beurre
	Yaourt
<b>Produits carnés</b>	Tissus musculaires
	Rognons
	Foie
	Boudin noir
	Autres produits carnés ( <i>à préciser</i> )
<b>Coquillages mollusques</b>	Huître
	Moule
	Coquille Saint jacques
	Palourde
	Autres coquillages & mollusques
<b>Poissons</b>	Anchois et autres petits poissons herbivores
	Autres espèces

\* *Liste non exhaustive*

LA VERSION ELECTRONIQUE N'EST PAS VALABLE

## **Annexe IV : Paramètres analytiques\* (grandeurs)**

<b>Mycotoxines*</b>
Aflatoxine B1, B2, G1, G2
Aflatoxine M1
Ochratoxine A
Patuline
Zéaralénone
Déoxynivaléol (DON)
Fusarénone
Fumonisines B1, B2, B3
Toxine T-2
Toxine HT-2
Citrinine
Stérigmatocystine

<b>Phycotoxines*</b>
Phycotoxines lipophiles
Phycotoxines paralysantes du groupe de la saxitoxine (PSP)
Phycotoxines amnésiantes du groupe de l'acide domoïque (ASP)

\* *Liste non exhaustive*

## Annexe V : Méthode de mesure (dosage)

<b>Extraction (solvant)</b>	<b>Purification</b>
Chloroforme	Partition liquide / liquide
Méthanol	Précipitation
Acétone	liquide / solide (SPE)
Acétonitrile	Colonne d'immunoaffinité
Autre solvant (à préciser)	Autre technique (à préciser)

<b>Détection et quantification*</b>	
<b>Technique</b>	<b>Abréviations</b>
Chromatographie en couche mince (détection UV)	CCM UV lecture visuelle CCM UV scanner
Chromatographie en couche mince à haute performance (détection UV)	CCM HP lecture visuelle CCM HP scanner
Enzymo-immunologie (détection UV-Visible, fluorimétrie)	ELISA microplaque ELISA tune ELISA bandelette
Chromatographie en phase gazeuse (détection ionisation de flamme et capture d'électrons)	CG-FID CG-ECD
Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	CG-SM CG- SM-SM
Chromatographie liquide à haute performance (détection UV, fluorimétrie)	CL-UV/VIS CL-Fluorescence
Chromatographie liquide à haute performance avec couplage spectrométrie de masse	CL-SM CL-SM-SM CL-SM-SM-SM
Bioessais sur souris	
Autre technique (à préciser)	

\* Liste non exhaustive