

GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION

ANALYSES DE SUBSTANCES AUTORISEES OU NON A USAGE VETERINAIRE OU ZOOTECNIQUE

LAB GTA 30

Révision 01



Section LABORATOIRES

SOMMAIRE

1	OBJET DU DOCUMENT	3
2	REFERENCES ET DEFINITIONS.....	3
2.1	REFERENCES.....	3
2.2	DEFINITIONS	3
2.3	SIGLES ET ABREVIATIONS	4
3	DOMAINE D'APPLICATION.....	5
4	MODALITES D'APPLICATION.....	5
5	SYNTHESE DES MODIFICATIONS	5
6	EXPRESSION DE LA PORTEE D'ACCREDITATION	6
7	GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES D'ACCREDITATION ET RECOMMANDATIONS	12
7.1	REVUE DE CONTRAT.....	12
7.2	ECHANTILLON POUR LE LABORATOIRE	12
7.3	PRESRIPTIONS LIEES AUX METHODES D'ANALYSES.....	12
7.3.1	<i>Méthodes reconnues</i>	12
7.3.2	<i>Méthodes non reconnues</i>	13
7.4	INSTALLATION ET CONDITIONS AMBIANTES.....	14
7.5	EQUIPEMENTS – TRAÇABILITE DU MESURAGE	14
7.6	REACTIFS ET CONSOMMABLES.....	15
7.7	QUALITE DES RESULTATS	15
7.8	RAPPORT D'ANALYSE	16
8	BIBLIOGRAPHIE (NON EXHAUSTIVE).....	17

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

1 OBJET DU DOCUMENT

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 aux analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique.

Pour les aspects sanitaires des animaux de production, les substances recherchées peuvent être les substances interdites à action hormonale ou thyrostatique, les β -agonistes, les médicaments vétérinaires et les colorants à usage pharmacologique chez les animaux, dans leurs aliments, dans leurs produits et dans les denrées alimentaires destinées à l'homme tenant compte notamment de l'environnement de travail et de la réglementation spécifiques au domaine.

Ce guide traite également de la recherche des substances naturelles alimentaires prohibées (SNAP).

En complément, il établit des recommandations issues des bonnes pratiques admises dans le domaine et de la normalisation disponible.

Enfin, il contient des informations utiles aux laboratoires dans le cadre de leur démarche d'accréditation, notamment relatives à l'expression de la portée d'accréditation et aux règles particulières d'évaluation des laboratoires par le Cofrac.

Ce guide ne se substitue pas aux exigences et/ou normes applicables au sein du laboratoire. Les recommandations qu'il contient et que le laboratoire est libre d'appliquer sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le Cofrac pour répondre aux exigences de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et du document LAB REF 02. Dans tous les cas, il appartient au laboratoire de démontrer que les dispositions qu'il prend permettent de satisfaire pleinement aux exigences de la norme citée supra.

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

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 05** « Règlement d'accréditation »,
- **LAB REF 08** « Expression et évaluation des portées d'accréditation »,
- **LAB REF 16** « Politique relative à la participation des Laboratoires de Référence au système d'accréditation dans le champ d'application du Règlement 882/2004 ».

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 inter-laboratoires : organisation, exécution et évaluation de mesurages ou d'essais sur la même entité ou sur des entités similaires par deux laboratoires ou plus selon des conditions prédéterminées (*extrait du LAB REF 05*).

Méthodes de dépistage : méthodes servant pour détecter la présence d'une substance ou d'une classe de substances au niveau d'intérêt. Ces méthodes présentent généralement une grande capacité de traitement d'échantillons et sont appliquées pour passer au crible de nombreux échantillons en vue de détecter des résultats non conformes. Elles sont spécialement conçues pour éviter les résultats faux conformes.

Méthode de confirmation : méthodes qui fournissent des informations complètes ou complémentaires qui doivent permettre l'identification univoque d'une substance et, le cas échéant, sa quantification au niveau considéré. Elles sont spécialement conçues pour éviter les résultats faux non-conformes.

Pour les notions définies par la réglementation (par exemple CC α , CC β , LMPR, LMR, RPA, méthode de dépistage et de confirmation, substances interdites, substances autorisées...), se référer à la bibliographie listée au chapitre 8 du guide.

2.3 Sigles et abréviations

- Anses, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
- CC α , Limite de décision
- CC β , Capacité de détection
- CCM, Chromatographie sur couche mince
- CIL, Comparaison inter-laboratoires
- CIPM, Comité International des Poids et Mesures
- Cofrac, Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr
- DAD, Barettes de diodes (UV visible)
- EA, European Cooperation for Accreditation
- EIL, Essais inter-laboratoires
- ELISA, Enzyme linked Immunosorbent Assay
- FLUO, Fluorimétrie
- GC, Chromatographie en phase gazeuse
- GC/C/IRMS, Chromatographie en phase gazeuse couplée en ligne à un four à Combustion et à la Spectrométrie de masse de rapport isotopique
- HRMS, Spectrométrie de masse haute résolution
- ILAC, International Laboratory Accreditation Cooperation
- IRMS, Spectrométrie de masse de rapport isotopique
- LABERCA, Laboratoire d'étude des résidus et contaminants dans les aliments
- LC ou HPLC, Chromatographie en phase liquide
- LD, Limite de détection
- LMR, Limites maximales de résidus
- LMV, Laboratoire des médicaments vétérinaires (Anses Fougères)
- LNR, Laboratoire National de Référence
- LPMR (MRPL), Limite de performance minimale requise
- LQ, Limite de quantification

- MRC, Matériau de référence certifié
- MRE, Matériau de référence externe
- MRI, Matériau de référence interne
- MS, Spectrométrie de masse
- MS/MS, Spectrométrie de masse en tandem
- RPA, Reference points for action
- SI, Système International d'unités
- SNAP, Substance Naturelle Alimentaire Prohibée
- UV, Ultra-violet

3 DOMAINE D'APPLICATION

Ce guide technique d'accréditation s'adresse aux :

- laboratoires d'essais ou d'analyses accrédités ou candidats à l'accréditation selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 pour le domaine cité en objet,
- évaluateurs du Cofrac, pour lesquels il constitue une base d'harmonisation pour l'évaluation,
- membres des instances du Cofrac (Comité de Section Laboratoires, Commission d'Accréditation Biologie et Agro-Alimentaire),
- membres de la structure permanente du Cofrac,
- clients des laboratoires d'essais accrédités sur ce domaine,
- instances officielles concernées par ce domaine.

Sont notamment concernées par ce guide les techniques :

- chromatographiques couplées ou non à la spectrométrie de masse,
- microbiologiques basées sur le principe d'inhibition de la croissance bactérienne,
- ELISA (simple, multiplex).

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 (Expression et évaluation des portées d'accréditation).

Ce guide s'applique de manière équivalente aux laboratoires œuvrant dans le cadre des contrôles officiels ou aux laboratoires intervenant hors contrôle officiel. Pour les premiers, les prescriptions du document LAB REF 16 complètent celles du LAB REF 08.

4 MODALITES D'APPLICATION

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

5 SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS

Ce document annule et remplace la révision 00 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 EXPRESSION DE LA PORTEE D'ACCREDITATION

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

1. **Objet** (*matrice*)
2. **Caractéristique mesurée** (*paramètre analytique recherché ; par exemple, stéroïdes, boldénone sulfate, substances à activité antibiotique*)

La capacité de la méthode à détecter, à identifier et/ou à quantifier est précisée dans la méthode. Il est entendu par défaut que le laboratoire est apte à utiliser la méthode dans son intégralité (exemple, dépistage et confirmation si prévu dans l'utilisation de la méthode). Le cas échéant, la restriction est précisée dans la portée d'accréditation du laboratoire (exemple : dépistage uniquement).

3. **Principe de mesure** (*par exemple, extraction, purification, dérivation, analyse*)
4. **Référence de la méthode** (*par exemple, méthode reconnue, méthode interne, notice fabricant*)

Divers exemples de portée d'accréditation correspondant aux demandes de type Fixe, flexible FLEX1, FLEX2 et 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.

L'indice de révision des méthodes internes ne figure plus dans les annexes techniques. Néanmoins, la version des méthodes utilisée doit être traçable au sein du laboratoire et un état des révisions depuis la dernière évaluation doit être transmis au Cofrac en préparation des évaluations sur site.

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Muscle Oeuf	Nitroimidazoles	Préparation : Extraction solide-liquide Analyse : LC-MS/MS	Méthode interne (référence précisée)
Produits issus d'animaux et issus de la pêche : muscle, crevettes,	Chloramphénicol	Préparation Extraction par solvant Purification sur phase solide Analyse GC-MS	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.

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (SNAP)</i>			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Aliments pour chevaux	Atropine, Bufoténine, Caféine, Dimethyltryptamine, Methylbufoténine, Morphine, Scopolamine, Théobromine, Théophylline	Préparation Extraction solide/liquide Analyse : LC-MS/MS	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'approprier les révisions successives d'une méthode reconnue (exemples : texte normatif, méthode développée par les LNR, kit fournisseur validé par un organisme tierce partie) 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.

Dans le cas des méthodes certifiées (en particulier pour les techniques basées sur le principe d'inhibition de la croissance bactérienne), le laboratoire devrait agir de même et également tenir à jour les notices fournisseur et les attestations des méthodes certifiées (par exemple, s'assurer de la date de validité de la méthode).

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (substances interdites à action hormonale ou thyrostatique, β-agonistes)</i>			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Urine	β -agonistes et stanozolol	Préparation : Hydrolyse enzymatique Extraction sur phase solide Analyse : LC-MS/MS	LABERCA/A-u.1
Poils	Stéroïdes	Préparation : Hydrolyse acide Extraction liquide-liquide Extraction sur phase solide Dérivation Analyse : GC-MS/MS	LABERCA/S-p.1

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

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques et microbiologiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Muscle	Sulfamides	Préparation : Extraction solide-liquide Purification sur phase solide Analyse : HPLC-UV	LMV/92/02
Lait	Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	Préparation : Extraction liquide-liquide Analyse : LC-MS/MS	LMV/10/01
Muscle	Substances à activité antibiotique	Diffusion sur gélose (méthode des 4 boîtes)	LMV/90/01
Muscle	Substances à activité antibiotique	Diffusion en tube	Premitest® (validation Afnor RBP 31/02 – 04/11)

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 un laboratoire qui souhaite demander l'accréditation pour un champ de compétences défini qu'il entend réaliser au moyen de méthodes reconnues, mais sans spécifier la liste détaillée de ces méthodes.

Par exemple, un laboratoire utilisant en routine une méthode reconnue 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*

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (substances interdites à action hormonale ou thyrostatique, β-agonistes)</i>		
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode
Matrices biologiques d'origine animale	Résidus de substances interdites à action hormonale ou thyrostatique et de β -agonistes	Préparation : Extraction solide-liquide Hydrolyse acide Dérivation Extraction liquide-liquide Purification sur phase solide Analyse : LC-MS/MS

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

Portée détaillée*

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (substances interdites à action hormonale ou thyrostatique, β-agonistes)</i>			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Tissus	Thyrostatiques	Préparation : Extraction solide-liquide Dérivation Extraction liquide-liquide Purification sur phase solide Analyse : LC-MS/MS	LABERCA/T-t.1
Poils, Soies	Glucocorticoïdes	Préparation : Hydrolyse acide Extraction solide-liquide Extraction liquide-liquide Analyse : LC-MS/MS	LABERCA/C-p.1
Poils	β -agonistes et stanozolol	Préparation : Hydrolyse acide Purification sur phase solide Analyse : LC-MS/MS	LABERCA/A-p.1

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

Portée générale

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>		
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode
Matrices biologiques d'origine animale	Résidus de médicaments vétérinaires autorisés ou non autorisés	Préparation : Hydrolyse enzymatique Extraction liquide/solide et/ou solide/liquide Purification sur phase solide (SPE) Analyse : LC-UV, LC-DAD LC-MS/MS

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

Portée détaillée*

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques			
<i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Urine	Chloramphénicol	Préparation : Hydrolyse enzymatique Extraction liquide-solide Analyse : LC-MS/MS	LMV/07/01
Muscle, rein	Tétracyclines	Préparation : Extraction solide-liquide Purification sur phase solide Analyse : LC-UV et si confirmation, LC-DAD ou LC-MS/MS	LMV/01/03
Muscle	Sulfamides	Préparation : Extraction solide-liquide Purification sur phase solide Analyse : LC-UV	LMV/92/02

* 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

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques et microbiologiques		
<i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>		
OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Matrices biologiques d'origine animale	Résidus de médicaments vétérinaires autorisés et non autorisés	Préparation Extraction Liquide/Liquide et/ou Liquide/Solide Analyse : LC-MS/MS
Matrices biologiques d'origine animale	Résidus de médicaments vétérinaires autorisés et non autorisés	Voie microbiologique Inhibition de la croissance bactérienne

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques et microbiologiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>		
OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Miel	Sulfonamides	ELISA / Multiplex

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

Portée détaillée*

Agroalimentaire / Divers aliments / Analyses physico-chimiques et microbiologiques <i>Analyses de substances autorisées ou non à usage vétérinaire ou zootechnique (médicaments vétérinaires et colorants à usage pharmacologique)</i>			
OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Poissons	Colorants	Préparation : Extraction liquide-liquide Analyse : LC-MS/MS	Méthode interne (référence précisée)
Oeufs Muscle	Nitroimidazoles	Préparation: Extraction liquide-solide Analyse : LC-MS/MS	Méthode interne (référence précisée)
Muscle de volailles et d'animaux de boucherie Muscle et foie de palmipèdes gras	Substances à activité antibiotique	Diffusion sur gélose (méthode des 4 boîtes)	LMV/90/01
Lait	Substances à activité antibiotique	Diffusion sur gélose	Méthode interne (référence précisée)
Miel	<u>Sulfonamides :</u> Sulfaquinoxaline, sulfaméthazine, sulfachloropyradazine, sulfathiazole, sulfadiméthoxine, sulfaméthoxazole	Préparation : Extraction liquide/liquide Analyse : ELISA Multiplex	Méthode interne (référence précisée) (kit fournisseur XX)

**** 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 Revue de contrat

NF EN ISO/CEI 17025 § 4.4

La norme NF EN ISO/CEI 17025 stipule notamment que le laboratoire doit établir et maintenir des procédures pour la revue de demande et de contrat. Ces dernières doivent assurer, *a minima*, que les exigences implicites et explicites sont adéquatement définies, documentées et comprises, que la méthode d'essai appropriée est choisie et qu'elle est capable de répondre aux exigences des clients et réglementaires le cas échéant.

En cas de suspicion lors d'une analyse de dépistage, qu'il s'agisse de substances interdites ou autorisées, la revue de contrat doit être explicite sur les modalités de confirmation à mettre en œuvre. *In fine*, pour tout résultat non-conforme, la responsabilité ainsi que les modalités d'information des autorités compétentes seront clairement définies. Le laboratoire précisera notamment, s'il y a lieu, comment il se conforme aux dispositions réglementaires (en particulier, le code rural et de la pêche maritime) au regard de la déclaration de non-conformité à destination des autorités compétentes.

7.2 Echantillon pour le laboratoire

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.8

Les conditions de transport et de conservation doivent maintenir l'intégrité de l'échantillon et ne pas porter préjudice aux résultats. Le laboratoire définira des critères d'acceptabilité des échantillons à réception.

7.3 Prescriptions liées aux méthodes d'analyses

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.4

Politique LAB REF 02

LAB REF 08

Il appartient au laboratoire de démontrer que les performances de la méthode choisie sont en accord avec les exigences fixées (réglementaire, client, etc.).

7.3.1 Méthodes reconnues

Le document LAB REF 08 précise la définition d'une méthode reconnue ainsi que le document LAB REF 16 lorsque l'accréditation intervient dans un contexte réglementaire.

Dans le cadre de l'application de méthodes reconnues (norme, protocole du LNR, notice fournisseur des kits certifiés par un organisme tierce partie), le laboratoire prouvera, *a minima*, qu'il atteint les performances annoncées dans la méthode reconnue et répond aux besoins du client.

Le dossier de caractérisation (dossier de confirmation au sens du document LAB REF 08) s'appliquera aux matrices analysées par le laboratoire, et comportera les éléments suivants :

Méthode visant à détecter les	Substances autorisées		Substances interdites	
	Dépistage	Confirmation	Dépistage	Confirmation
CCβ	Oui	Non	Oui	Oui
CCα	Non	Oui	Oui*	Oui
Justesse/ Récupération	Non sauf si le résultat est chiffré	Oui	Non	Oui

Méthode visant à détecter les	Substances autorisées		Substances interdites	
	Dépistage	Confirmation	Dépistage	Confirmation
Fidélité	Non sauf si le résultat est chiffré	Oui	Oui	Oui
Sélectivité	Non	Non	Non	Non
Spécificité	Oui	Oui	Oui	Oui

* La connaissance du CC α est souhaitable.

La spécificité peut-être évaluée par l'examen des échantillons blancs utilisés pour l'évaluation du CC α et la fidélité avec les échantillons supplémentés utilisés pour l'évaluation du CC β .

En cas de changement dans la mise en application d'une méthode reconnue (nouvel appareil, changement de type de colonne, changement de conditions chromatographiques), *a minima* les performances doivent être vérifiées, et le laboratoire doit être clair sur les performances garanties au client.

7.3.2 Méthodes non reconnues

Pour toute méthode reconnue ayant fait l'objet d'une adaptation et pour toute méthode développée en interne, le laboratoire constituera un dossier de validation conformément aux exigences de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et du LAB REF 02.

Une expertise documentaire peut être requise afin que le Cofrac puisse se prononcer sur la recevabilité de la demande d'accréditation au regard des exigences de l'accréditation.

Un dossier de validation peut être construit de la façon suivante :

- finalité, domaine d'application et performances attendues de la méthode,
- mode opératoire de validation, incluant les caractéristiques de la méthode à évaluer, le plan d'expérience, les règles statistiques utilisées en vue de déterminer les caractéristiques de la méthode et conclure sur sa validité,
- l'ensemble des résultats produits, dont la traçabilité doit être assurée,
- une conclusion sur l'aptitude à l'emploi de la méthode dans un domaine d'application et suivant des performances définies.

Le dossier de validation dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments s'appliquera aux matrices analysées par le laboratoire, et comportera les éléments suivants :

Méthode visant à détecter les	Substances autorisées		Substances interdites	
	Dépistage	Confirmation	Dépistage	Confirmation
CCβ	Oui	Oui	Oui	Oui
CCα	Non	Oui	Oui	Oui
Justesse/ Récupération	Non sauf si le résultat est chiffré	Oui	Non	Oui
Fidélité	Non sauf si le résultat est chiffré	Oui	Oui	Oui
Sélectivité	Oui	Oui	Oui	Oui
Spécificité	Oui	Oui	Oui	Oui
Robustesse	Oui	Oui	Oui	Oui

Par ailleurs, à chaque fois que possible, le laboratoire disposera de données sur la stabilité des analytes.

Pour l'évaluation du CC β , de la sélectivité et de la spécificité des méthodes de dépistage (notamment pour les méthodes de type CCM, inhibition de la croissance bactérienne ou ELISA), une approche par la détermination des taux de faux-conformes et de faux non-conformes est à envisager.

Pour le principe ELISA Multiplex, outre les caractéristiques évaluées pour une méthode ELISA simple, une étude des réactions croisées doit être menée et la liste des molécules détectées doit être clairement établie avec une détermination des CC β associés.

Pour le cas particulier de la technique GC/C/IRMS utilisée pour les confirmations d'hormones naturelles dans l'urine, les approches CC α et CC β s'appliquent plus difficilement. Il est recommandé d'établir une limite de décision, basée sur la différence des déviations isotopiques ($\Delta\delta\text{‰}$) entre le(s) métabolite(s) du stéroïde ciblé et celui du (des) composé(s) endogène(s) de référence (ERC) retenu(s) dans la méthode, calculée sur un large set d'échantillons témoins.

Dans les domaines autres que la sécurité sanitaire des aliments (par exemple, la recherche de SNAP), le dossier de validation devra s'appliquer aux matrices analysées par le laboratoire, et comporter les éléments suivants :

Méthode visant à détecter les	Substances autorisées ou tolérées		Substances interdites	
	Dépistage	Confirmation	Dépistage	Confirmation
LD	Non	Non	Oui	Oui
LQ	Oui	Oui	Oui	Oui
Incertitude	Oui	Oui	Non	Non
Justesse	Oui	Oui	Oui	Oui
Fidélité	Oui	Oui	Oui	Oui
Sélectivité	Oui	Oui	Oui	Oui
Spécificité	Oui	Oui	Oui	Oui
Robustesse	Oui	Oui	Oui	Oui

7.4 Installation et conditions ambiantes

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.3

Le laboratoire doit prendre des mesures pour éviter tout risque de contaminations croisées. A titre d'illustration, il est vivement recommandé de séparer la préparation et la conservation des solutions standards des activités d'essai et d'utiliser un lavage spécifique des vaisselles contaminées. Enfin, l'usage de matériel à usage unique est recommandé à chaque fois que possible. La séparation du stockage des échantillons et des solutions standards est également préconisée.

L'utilisation de blanc (réactif, échantillon) permet de s'assurer de l'efficacité des mesures prises.

Pour les analyses basées sur le principe d'inhibition de la croissance bactérienne, le laboratoire peut appliquer les modalités liées aux installations et conditions ambiantes telles que définies dans le document LAB GTA 59.

7.5 Equipements – Traçabilité du mesurage

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.5

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.6

Politique LAB REF 02

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.

La vérification des appareils de mesure associant par exemple la chromatographie et la spectrométrie peut se faire par l'utilisation de matériaux de référence (MRC, MRE ou MRI).

Pour les **méthodes de type ELISA**, reposant sur des mesures absolues d'absorbance, le raccordement au SI du spectrophotomètre (en longueur d'onde et en absorbance) est requis. La fidélité, la linéarité, l'effet intercanal et la justesse devront être vérifiés.

Le laboratoire peut utiliser une plaque prêtée sous réserve qu'elle soit raccordée et qu'il réalise lui-même la vérification du spectrophotomètre. Dans tous les cas, la compétence du laboratoire à réaliser la vérification des spectrophotomètres est examinée lors des évaluations.

Les instruments volumétriques à piston (notamment micropipettes) : un certificat d'étalonnage avec la marque Cofrac (ou de tout autre organisme signataire de l'accord multilatéral de reconnaissance d'équivalence étalonnage d'EA ou d'ILAC) ou un certificat d'étalonnage réalisé par un laboratoire national de métrologie du domaine et signataire de l'arrangement de reconnaissance mutuelle du CIPM permet d'assurer un raccordement au SI. Toutefois, un raccordement interne au SI par pesée suivant une procédure détaillée est recevable. Dans les deux cas, une vérification intermédiaire régulière de ce matériel est nécessaire.

Les chambres froides et réfrigérateurs : le contrôle de la température des enceintes de stockage des échantillons, des étalons et des consommables est nécessaire. Même si l'enregistrement en continu des températures reste une solution optimale, la stratégie consistant en un suivi mini/maxi peut toutefois être considérée comme acceptable. 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. Dans tous les cas, le dispositif de mesure de température utilisé pour le suivi est à raccorder au SI.

Pour les **étuves utilisées pour les analyses basées sur le principe d'inhibition de la croissance bactérienne**, la traçabilité du mesurage décrite dans le LAB GTA 59 s'applique.

Pour les **kits d'immuno-dosage**, si les **enceintes thermostatiques** (bain sec, bain marie...) sont utilisées pour des étapes critiques, elles devront être vérifiées et raccordées au SI.

7.6 Réactifs et consommables

NF EN ISO/CEI 17025 § 4.6

Pour toutes modifications apportées par le laboratoire à la méthode sans modification de principe (par exemple, changement de colonne de purification ou de séparation), une étude d'impact sur les performances de la méthode est à réaliser et à tracer.

Les solutions de standards analytiques doivent être contrôlées selon une procédure définie.

En particulier, les nouvelles solutions seront comparées aux anciennes. En cas de différence significative entre les deux solutions, à définir par le laboratoire, son origine sera évaluée et le laboratoire prendra les dispositions nécessaires. Pour les analyses quantitatives ou avec production d'un résultat chiffré, la qualité (identité, impureté et concentration) des solutions standards devra être justifiée.

Si la concentration de l'ancienne solution est remise en cause, une étude d'impact est requise.

Pour les analyses basées sur le principe d'inhibition de la croissance bactérienne, le laboratoire peut appliquer les modalités liées à la préparation des milieux de culture telles que définies dans le document LAB GTA 59.

7.7 Qualité des résultats

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.9
Politique LAB REF 02

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

Il conviendra également que le laboratoire puisse être capable de démontrer que les limites de performance définies dans la méthode d'analyse mise en œuvre sont bien atteintes à chaque série analytique. Il peut s'agir d'échantillons supplémentés aux valeurs cibles (par exemple LMPR ou LMR).

Conformément à la politique *ad hoc* présentée dans le document LAB REF 02, sauf exigences réglementaires particulières, les laboratoires accrédités doivent, lorsqu'elles existent et sont

appropriées, participer aux CIL et les exploiter pour démontrer leur compétence et assurer la qualité de leurs résultats. Ceci s'applique systématiquement aux laboratoires en démarche d'accréditation et pour les demandes d'extension. Lorsque le paramètre est réalisé dans le cadre d'un agrément, le laboratoire doit se conformer aux fréquences imposées par l'agrément.

Conformément au document LAB REF 02, le laboratoire devra justifier qu'il couvre l'ensemble de ses méthodes employées dans un programme pluri-annuel.

Lorsqu'aucun programme de comparaison n'existe ou que la périodicité de ce programme est inappropriée, il appartient au laboratoire, pour assurer la cohérence de ses résultats, de recourir à l'utilisation régulière de matériaux de référence ou assimilés.

Le laboratoire reverra régulièrement les performances de ses méthodes (par exemple, $CC\alpha$, $CC\beta$) à une fréquence qu'il aura définie.

7.8 Rapport d'analyse

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.10
Politique LAB REF 02

Toute information utile pour la compréhension des résultats et la déclaration de conformité doit être indiquée sur le rapport.

Dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments, lorsqu'un échantillon est déclaré non conforme, qu'il s'agisse d'une substance autorisée ou non, le $CC\alpha$, qui intègre l'incertitude de mesure, doit être mentionné sur le rapport d'essai. Dans les autres domaines, lorsque l'échantillon est déclaré non conforme pour une substance autorisée, la déclaration de conformité doit prendre en compte l'incertitude de mesure.

Les déclarations de conformité portant sur des analyses/essais, tous réalisés sous couvert de l'accréditation, font partie intégrante du rapport et sont couvertes par l'accréditation.

LA VERSION ELECTRONIQUE EST PROTEGEE

8 BIBLIOGRAPHIE (NON EXHAUSTIVE)

- **Directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996** relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits (Journal officiel des communautés européennes du 23/05/1996)
- **Décision de la commission 2002/657/CE du 12 août 2002** portant sur les modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats (Journal officiel des communautés européennes du 17/08/2002)
- **Règlement (CE) N°470/2009 du parlement européen et du conseil du 6 mai 2009** établissant des procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale, abrogeant le règlement (CEE) n°2377/90 du Conseil et modifiant la directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) n°726/2004 du Parlement européen et du Conseil
- **Guide CRL/2007** : CRLs view on state of the art analytical methods for national reissue control plans
- **CRL 20/1/2010** : Guidelines for the validation of screening methods for résidues of veterinary medicines (initial validation and transfer)
- **NF V03-110** : Analyse des produits agricoles et alimentaires – Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude
- **XP V03-111** : Analyse des produits agricoles et alimentaires – Protocole d'évaluation intra-laboratoire d'une méthode alternative d'analyse qualitative par rapport à une méthode de référence
- **LAB GTA 59** : Guide Technique d'Accréditation - Analyses microbiologiques des produits et environnement agro-alimentaires
- **NF EN ISO 8655-2** : Appareils volumétriques à piston – Partie 2 : pipettes à piston