

GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION

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

Document LAB GTA 21

Révision 01



Section LABORATOIRES

SOMMAIRE

OBJET DU DOCUMENT	3
1. REFERENCES ET DEFINITIONS	3
1.1 REFERENCES NORMATIVES.....	3
1.2 DEFINITIONS	3
1.3 SIGLES ET ABREVIATIONS	4
2. DOMAINE D'APPLICATION	4
3. MODALITES D'APPLICATION	5
4. SYNTHESE DES MODIFICATIONS	5
5. PORTEES D'ACCREDITATION	5
6. GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES D'ACCREDITATION ET RECOMMANDATIONS	10
6.1 GENERALITES	10
6.2 METHODES.....	10
6.2.1 Méthodes normalisées	10
6.2.2 Méthodes non normalisées	10
6.3 PRESCRIPTIONS TECHNIQUES RELATIVES AU DOSAGE DES MYCOTOXINES ET DES PHYCOTOXINES	11
6.3.1 Echantillon pour laboratoire.....	11
6.3.1.1 Réception des échantillons.....	11
6.3.1.2 Préparation des échantillons.....	11
6.3.2 Installation et conditions ambiantes.....	12
6.3.3 Equipements – Traçabilité du mesurage	12
6.3.4 Réactifs et consommables.....	12
6.3.5 Qualité des résultats	13
6.3.6 Rapport d'analyse	13
6.3.7 Sécurité.....	14
7. MODALITES D'EVALUATION	14
DOCUMENTS ANNEXES	15
Annexe I : Liste des méthodes d'analyse du LNR (<i>phycotoxines</i>).....	16
Annexe II : Masses minimales des échantillons pour l'analyse des	17
mycotoxines et des phycotoxines	17
Annexe III : Matrices et sous-matrices*	20
Annexe IV : Paramètres analytiques* (<i>grandeurs</i>)	23
Annexe V : Méthode de mesure (<i>dosage</i>)	24

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'explicitier 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.

1. 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).

1.1 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 ».

1.2 Définitions

Accréditation : Attestation délivrée par une tierce partie constituant une reconnaissance formelle de la compétence d'un laboratoire à réaliser des activités d'essais / d'étalonnages. La « tierce partie » représente l'organisme accréditeur qui est, en France, le Cofrac.

Portée d'accréditation : Enoncé formel et précis des activités pour lesquelles le laboratoire est accrédité. Elle se compose de lignes de portée d'accréditation.

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.

1.3 Sigles et abréviations

- Afnor, Association Française de Normalisation, www.afnor.org
- Cofrac, Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr
- ANSES, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, www.anses.fr
- LNR, Laboratoire National de Référence
- ISO, Organisation Internationale de normalisation, 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

2. **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 Technique d'Accréditation Agro – Alimentaire, Commission Interne d'Evaluation des Rapports pour l'Accréditation.
- 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 (*Expression et évaluation des portées d'accréditation*).

3. MODALITES D'APPLICATION

Ce document est applicable à compter du 1^{er} Janvier 2014

4. SYNTHESE DES MODIFICATIONS

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

Les modifications sont identifiées par un trait dans la marge, elles portent sur :

- Suppression du § 2.2 « Référence dans le cadre des analyses en lien avec la réglementation » du fait qu'il s'agisse d'un guide et non d'un document de référence ;
- Fusion des paragraphes 7.3 et 7.4 se rapportant respectivement aux mycotoxines et phycotoxines en un seul paragraphe (§6.3). Lorsque des précisions doivent être apportées pour les phycotoxines, elles sont reprises dans les paragraphes adéquats ;
- § 6.2.1 : Dans le cadre des méthodes reconnues, il a été apporté des précisions concernant les éléments que doivent comporter les dossiers de caractérisation;
- § 6.2.2 : Dans le cadre des méthodes internes, les critères de validation d'une matrice principale ont été précisés ;
- § 6.3.1.1 : Mise en concordance du LAB GTA 21 avec les exigences du § 10.2.4 du LAB REF 02 concernant les situations d'écart aux méthodes spécifiées ;
- §6.3.1.2 : Précisions quant à la préparation des échantillons notamment concernant les étapes de broyage et d'homogénéisation ;
- §6.3.2 : Reformulation du paragraphe concernant les installations et conditions ambiantes ;
- §6.3.3 : Ajout d'un paragraphe en lien avec le raccordement au SI du lecteur de plaque ELISA et modification du paragraphe concernant le suivi des températures des enceintes climatiques ;
- §6.3.4 : Précisions sur les modalités de contrôle des colonnes d'immunoaffinité avant utilisation ;
- §6.3.5 : Modifications concernant les critères de vérification du taux de récupération ainsi que la fréquence de participation aux EILS ;
- Annexe I : Ajout de la méthode ANSES MA CAT-NAT 07 pour la détermination des toxines lipophiles
- Annexe II : Modification des masses minimales pour certaines matrices ;
- Annexe IV : reformulation des paramètres phycotoxines.

5. 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+n°version*).

Le laboratoire a le choix entre deux types de portées : standard (type A) ou étendu (type B).

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.

Lors de la révision d'une méthode reconnue (A2/A3), le laboratoire devrait mettre en œuvre la méthode révisée dans un délai de 6 mois à compter de la date de parution.

Sont indiquées ci-après à titre d'exemples diverses présentations de la portée d'accréditation correspondant aux demandes de type fixe (A1), flexible standard (A2 & A3) et flexible étendue (B).

Demande de type A1

La portée d'accréditation est exprimée sous la forme d'une liste finie de méthodes (référence de la norme associée à sa date d'application, référence aux modes opératoires d'essais associés à leurs indices de révision) précisant leur domaine d'application.

Exemple de demande de type A1

Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Vin et bière	Dosage de l'ochratoxine A	Purification : Immunoaffinité Analyse : CL/FLUO	NF EN 14133 Janvier 2004
Maïs	Dosage des fumonisines B1 et B2	Extraction Par solvant (Eau/Méthanol) Purification : Immunoaffinité Analyse : CL/SM	Méthode interne MXFLUMO Version 02

Commentaire : Le laboratoire est accrédité pour pratiquer les analyses décrites en respectant strictement la méthode mentionnée en référence dans la portée. En cas d'écart par rapport à cette référence, le résultat d'analyse ne peut être couvert par l'accréditation.

Les résultats d'analyses peuvent être couverts par l'accréditation si un changement d'équipement de mesure est intervenu entre deux évaluations sur site mais que la méthode est conservée sans variante importante (par exemple longueur d'onde et réactif inchangés).

Il appartient au laboratoire d'établir sa capacité à maîtriser et mettre en œuvre un nouvel équipement qu'il aura dûment qualifié. La mise en œuvre du nouvel équipement ne doit pas mobiliser des compétences qui n'auraient pas préalablement été démontrées dans le cadre de l'accréditation.

Demande de type A2

La portée d'accréditation est exprimée sous la forme d'une liste finie de méthodes. Toutefois, les indices de révision de ces méthodes reconnues ne sont pas précisés.

Exemple de demande de type A2

Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Vin et bière	Dosage de l'ochratoxine A	<p>Purification : Immunoaffinité</p> <p>Analyse : CL/FLUO</p>	NF EN 14133
<p>Coquillages :</p> <p>Chair totale des coquillages et petits poissons herbivores</p>	<p>Dosage de l'acide domoïque :</p> <p><i>Phycotoxines amnésiantes (ASP)</i></p>	<p>Extraction : Par solvant</p> <p>Purification : liquide/solide SPE (optionnelle)</p> <p>Analyse : CL/UV</p>	LNRBM-ASP 01

Commentaire : Le laboratoire est accrédité pour pratiquer les analyses en suivant la méthode normalisée citée, dans sa version en vigueur au moment de l'évaluation initiale et dans ses versions ultérieures.

Il lui appartient d'établir sa capacité à maîtriser et mettre en œuvre la méthode révisée.

La mise en œuvre de la méthode normalisée révisée ne doit pas mobiliser des compétences qui n'auraient pas préalablement été démontrées dans le cadre de l'accréditation.

Demande de type A3

La demande pour une portée flexible de type A3 doit faire l'objet d'une demande d'extension préalable. Ce type de flexibilité est particulièrement adapté pour les laboratoires qui souhaitent intégrer dans leur portée de nouvelles méthodes reconnues.

Exemple de demande de type A3

Portée générale*

Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode
Mais	Mycotoxines	Extraction : Par solvant Purification : Immunoaffinité Analyse : CL/FLUO
Coquillages	Phycotoxines	Extraction : Par solvant Purification : Néant Analyse : Bioessais sur souris CL/UV

*Le laboratoire a la possibilité de mettre en œuvre toute méthode reconnue dans ce domaine de compétence.

Portée détaillée au 01/01/2014**

Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Mais	Dosage des fumonisines B1 et B2	Extraction : Par solvant (<i>méthanol/Eau</i>) Purification : Colonne phase solide (EPS) Analyse : CL/FLUO	NF EN 13585
Coquillages : Glande digestive des coquillages	Dosage de phycotoxines lipophiles	Extraction : Par solvant Purification : Partition liquide/liquide Analyse : Bioessais sur souris	LNRBM-LIP 01

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

Commentaire : Le laboratoire est accrédité pour pratiquer les analyses dans le domaine décrit dans la portée en utilisant toute méthode normalisée disponible que les compétences reconnues au moment de l'accréditation lui permettent de mettre en œuvre.

Il lui appartient d'établir sa capacité à maîtriser et mettre en pratique la méthode retenue.

Le laboratoire doit documenter et tenir à disposition permanente du Cofrac la liste détaillée des analyses et, en particulier, celle des méthodes qu'il propose dans le cadre de son accréditation.

Lors des visites d'évaluation, les évaluateurs du Cofrac vérifient que les méthodes référencées dans cette liste, et utilisées sous accréditation, correspondent effectivement au champ de compétences initialement démontré.

Demande de type B

La portée d'accréditation est exprimée sous la forme d'une liste de compétences (*champs de possibilités*), comme dans le cas précédent. Toutefois, suivant ce profil, le laboratoire n'est pas limité à l'utilisation de méthodes reconnues : il peut modifier ou adapter ces méthodes, voire en mettre au point de nouvelles dans le champ de compétences reconnu.

Exemple de demande de type B

Portée générale*

Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode
Céréales	Mycotoxines	Extraction : Par solvant Purification : Immunoaffinité Analyse : CL/FLUO CL/SM-SM

*Le laboratoire est reconnu compétent pour mettre en œuvre ou adapter toute méthode normalisée et pour développer toute autre méthode dont il aura assuré la validation, dans ce champ de possibilités.

Portée détaillée au 01/01/2014**

Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
Maïs	Dosage de la Zéaralénone	Extraction : Par solvant (<i>méthanol/Eau</i>) Purification : Immunoaffinité Analyse : CL/SM-SM	Méthode interne ZEARA

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

Commentaire : Le laboratoire est accrédité pour pratiquer les analyses dans le domaine décrit dans la portée générale. Il peut, dans ce domaine, adapter et mettre en œuvre toute méthode normalisée, et développer toute autre méthode que les compétences reconnues au moment de l'accréditation lui permettent de mettre en œuvre.

Il lui appartient d'assurer la validation des méthodes qu'il propose. Il doit établir et maintenir la compétence du personnel nécessaire à leur mise en œuvre.

Le laboratoire doit documenter et tenir à disposition permanente du Cofrac la liste détaillée des analyses et, en particulier, des méthodes qui entrent dans le cadre de son accréditation.

L'adéquation entre les méthodes pratiquées et les compétences du laboratoire fait l'objet d'un examen lors des évaluations par le Cofrac. Cet examen porte notamment sur le développement, l'adaptation et la validation des méthodes.

6. GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES D'ACCREDITATION ET RECOMMANDATIONS

6.1 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.

6.2 Méthodes

6.2.1 Méthodes normalisées

Les méthodes normalisées et les méthodes considérées comme reconnues (portées de type A1, A2 et A3) 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.

6.2.2 Méthodes non normalisées

Pour toute méthode normalisée reconnue ayant fait l'objet d'une adaptation et toute méthode développée en interne ainsi que les protocoles fournisseurs de Kits ELISA (portées de type A1 et B), 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 %*).

6.3 Prescriptions techniques relatives au dosage des mycotoxines et des phycotoxines

6.3.1 Echantillon pour laboratoire

NF EN ISO/CEI 17025 § 5.7

6.3.1.1 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.

6.3.1.2 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.

6.3.2 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*).

6.3.3 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.

6.3.4 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.

6.3.5 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.

6.3.6 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.

6.3.7 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.

7. 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 qualitatif et d'un ou plusieurs évaluateurs techniques, ou d'un évaluateur technique responsable d'évaluation.

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

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

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

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	Coquillages : Chair totale des coquillages et petits poissons herbivores	Dosage de l'acide domoïque : <i>Phycotoxines amnésiantes (ASP)</i>	Extraction : Par solvant Purification : liquide/solide SPE (optionnelle) Analyse : CLHP/UV	LNRBM-ASP 01
2	Coquillages : Glande digestive des coquillages	Dosage de phycotoxines lipophiles	Extraction : Par solvant Purification : Partition liquide/liquide Analyse : Bioessai sur souris	LNRBM-LIP 01
3	Coquillages : Chair totale	Dosage de phycotoxines lipophiles	Extraction: Par solvant Purification : Partition liquide/liquide Analyse : Bioessai sur souris	LNRBM-LIP 02
4	Coquillages : Chair totale ou partie comestible des coquillages	Dosage des phycotoxines paralysantes (<i>PSP</i>) (saxitoxine et dérivés)	Extraction Par solvant en milieu acide Analyse : Bioessai sur souris	LNRBM-PSP 01
5	Coquillages : Chair totale ou partie comestible des coquillages	Dosage des toxines lipophiles	Extraction : Par méthanol Purification (option): liquide/solide SPE Analyse : 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
Céréales	Blé tendre, Blé dur, Maïs, Orge, Avoine, Seigle, Sorgho, Riz <i>(et autres céréales de même taille)</i>	1000 g
Oléagineux <i>(graines et fruits)</i>	Colza, sésame <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	500 g
	Soja, Tournesol, Arachide, Coton <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	2000 g
	Palmiste, Palme, Olive <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	3000 g
	Coprah <i>(et autres oléagineux de même taille)</i>	5000 g
Fruits à coques	Arachide, Pistache, Amande, Noisette <i>(et autres fruits à coques de même taille)</i>	2000 g
	Noix et Noix du Brésil <i>(et autres fruits à coques de même taille)</i>	3000 g
Fruits séchés	Raisin <i>(et autres fruits séchés de même taille)</i>	1000 g
	Figues <i>(et autres fruits séchés de même taille)</i>	3000 g
Fruits frais	Raisin <i>(et autres fruits frais de même taille)</i>	2000 g
	Pomme, Poire <i>(et autres fruits frais de même taille)</i>	3000 g
Épices	Safran)	100 g
	Poivre <i>(et autres épices de même taille)</i>	500 g
	Noix de muscade, Gingembre, Piments <i>(et autres épices de même taille)</i>	1000 g
Café / Cacao	Café vert et torréfié	1000 g
	Fève de cacao	3000 g
Légumineuses <i>(légumes secs)</i>	Haricot, Pois, Fève, Lentille <i>(et autres légumes secs de même taille)</i>	2000 g
Tubercules	Manioc, Taro, Igname <i>(et autres tubercules de même taille)</i>	5000 g

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
Epices	Epices 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)

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

* 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 VALABLE

Annexe III : Matrices et sous-matrices*

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

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

* 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*)

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

* *Liste non exhaustive*

LA VERSION ELECTRONIQUE N'EST PAS VALABLE

Annexe IV : Paramètres analytiques* (grandeurs)

Mycotoxines*
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

Phycotoxines*
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)

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

Détection et quantification*	
Technique	Abréviations
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