



Essais microbiologiques appliqués aux produits biocides, produits pharmaceutiques, produits cosmétiques et dispositifs médicaux

LAB GTA 19 - Révision 02

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI





SOMMAIRE

1	OBJET	3
2	REFERENCES ET DEFINITIONS	3
2.1	Références.....	3
2.2	Abréviations et définitions.....	4
3	DOMAINE D'APPLICATION	5
4	MODALITES D'APPLICATION	6
5	MODIFICATIONS APORTEES A L'EDITION PRECEDENTE	6
6	EXPRESSION DES PORTEES	6
7	GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES NORMATIVES ET RECOMMANDATIONS	7
7.1	Personnel.....	7
7.2	Installations et conditions ambiantes	7
7.3	Equipements et traçabilité métrologique.....	8
7.3.1	Enceinte thermostatée (étuve, réfrigérateur, bain d'eau, etc.).....	8
7.3.2	Autoclave et procédé de stérilisation par chaleur sèche.....	9
7.3.3	Enceinte confinée	9
7.3.4	Verrerie graduée.....	9
7.4	Produits et services fournis par des prestataires externes.....	9
7.4.1	Consommables.....	9
7.4.2	Milieux de culture.....	10
7.4.3	Souches.....	10
7.5	Revue des demandes, appels d'offres et contrats	11
7.6	Sélection, vérification et validation des méthodes.....	12
7.6.1	Sélection des méthodes	12
7.6.2	Vérification des méthodes reconnues	12
7.6.3	Validation des méthodes non reconnues	13
7.7	Manutention des objets d'essais.....	14
7.8	Evaluation de l'incertitude de mesure	14
7.9	Assurer la validité des résultats	14
7.9.1	Contrôles qualité internes.....	15
7.9.2	Contrôles qualité externes.....	15
7.10	Rapport sur les résultats.....	15
7.10.1	Rapport d'essai.....	15
7.10.2	Déclaration de conformité, avis et interprétations	16
7.10.3	Expression des résultats.....	16
7.11	Précisions sur l'application du règlement d'accréditation	16
8	BIBLIOGRAPHIE	17



1 OBJET

La norme NF EN ISO/IEC 17025 définit les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.

Au regard de certains documents internationaux (par exemple, EA-4/02, ILAC P9 etc.) le Cofrac s'attache à développer dans des guides techniques d'accréditation (GTA) qu'il publie, des recommandations spécifiques au(x) domaine(s) technique(s) considéré(s), en vue de guider les organismes dans la mise en œuvre des exigences du référentiel d'accréditation et en vue d'harmoniser les approches.

Ce document vise à établir des recommandations issues des bonnes pratiques admises dans le domaine et de la normalisation en vigueur. Il constitue un guide de lecture des exigences de ladite norme pour le domaine de la Microbiologie appliquée aux produits biocides, produits pharmaceutiques, produits cosmétiques et dispositifs médicaux, qui distingue trois catégories d'essais :

- Essais destinés à qualifier ou caractériser un produit (ou une matière première)
 - Essais relatifs à la qualité microbiologique des produits
 - Dénombrement de la biocharge
 - Dosage des endotoxines bactériennes
 - Essais de stérilité
- Essais évaluant les propriétés antimicrobiennes des produits
 - Activité antimicrobienne des substances actives biocides
 - Epreuves de résistance à la contamination microbienne (« challenge-test »)
 - Titrage microbiologique des antibiotiques
- Essais destinés à valider un procédé
 - Essais microbiologiques destinés à valider un procédé de stérilisation ou décontamination
 - Essais entrant dans le cadre de la validation de divers procédés en lien avec la microbiologie

Ce guide ne se substitue pas aux exigences réglementaires et/ou aux 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/IEC 17025 et notamment 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 les exigences de la norme citée ci-dessus.

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

Ce document s'applique en complément des documents suivants :

- NF EN ISO/IEC 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/IEC 17025 :2017 ;
- LAB REF 05 : Règlement d'accréditation ;
- LAB REF 08 : Expression et évaluation des portées d'accréditation ;



- GEN REF 10 : Traçabilité des résultats de mesure – Politique du Cofrac et modalités d'évaluation
- GEN REF 11 : Règles générales pour la référence à l'accréditation et aux accords de reconnaissance internationaux
- LAB INF 55 : Nomenclature et expression des lignes de portée d'accréditation pour les analyses microbiologiques des produits biocides, produits pharmaceutiques, produits cosmétiques et dispositifs médicaux ;

2.2 Abréviations et définitions

Les abréviations suivantes sont utilisées :

- COFRAC : COmité FRançais d'ACcréditation, www.cofrac.fr ;
- EA : European co-operation for Accreditation www.european-accreditation.org ;
- ISO : International Organization for Standardization www.iso.org ;
- (O)CIL : (Organisateurs de) Comparaison Interlaboratoires.

Des définitions supplémentaires propres au domaine sont utilisées dans ce guide :

- **Produit biocide** (définition issue du règlement UE n° 528/2012) :
 - Toute substance ou tout mélange, sous la forme dans laquelle il est livré à l'utilisateur, constitué d'une ou plusieurs substances actives, en contenant ou en générant, qui est destinée à détruire, repousser ou rendre inoffensif les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique ;
 - Toute substance ou tout mélange généré par des substances ou des mélanges qui ne relèvent pas eux-mêmes du 1^{er} tiret, destinés à être utilisés pour détruire, repousser ou rendre inoffensif les organismes nuisibles, pour en prévenir l'action ou les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique.

- **Produit pharmaceutique** : principe actif, excipient ou produit fini à usage humain et utilisation vétérinaire (médicament).

- **Pharmacopée** : ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé, qui dans le présent document définit les méthodes d'analyses à utiliser pour assurer le contrôle des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments, voire leur contenant. L'ensemble des critères permettant d'assurer un contrôle de la qualité optimal est regroupé et publié sous forme de monographies.

Le terme « pharmacopée » mentionné dans ce document concerne une ou plusieurs des pharmacopées en vigueur (ex : Pharmacopée européenne (PE), Pharmacopée américaine (USP), Pharmacopée japonaise (JP)).

- **Dispositif médical** (définition issue du règlement UE n° 2017/745) :

Tout instrument, appareil, équipement, logiciel, implant, réactif, matière ou autre article, destiné par le fabricant à être utilisé, seul ou en association, chez l'homme pour l'une ou plusieurs des fins médicales précises suivantes :

- diagnostic, prévention, contrôle, prédiction, pronostic, traitement ou atténuation d'une maladie,
- diagnostic, contrôle, traitement ou atténuation d'une blessure ou d'un handicap par compensation de ceux-ci,
- investigation, remplacement ou modification d'une structure ou fonction anatomique ou d'un processus ou état physiologique ou pathologique,
- communication d'information au moyen d'un examen in vitro d'échantillons provenant du corps



humain, y compris les dons d'organes, de sang et de tissus,

et dont l'action principale voulue dans ou sur le corps humain n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques, ni par métabolisme, mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens.

Les produits ci-après sont également réputés être des dispositifs médicaux :

- les dispositifs destinés à la maîtrise de la conception ou à l'assistance de celle-ci, (dispositifs intra-utérins IUD, accessoires de PMA, ...)
 - les produits spécifiquement destinés au nettoyage, à la désinfection, ou à la stérilisation des dispositifs.
- **Produit cosmétique** (définition issue du règlement UE n° 1223/2009) :
Toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaires, les ongles, les lèvres, les organes génitaux externes, les dents ou les muqueuses buccales en vue exclusivement ou principalement de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles.
 - **Qualification** d'un équipement :
Test effectué lors de l'installation d'un nouvel équipement, destiné à démontrer l'aptitude de l'équipement à satisfaire les exigences spécifiées dans un cahier des charges.
 - **Définition de l'encart** :

Pistes de réflexion

Certains paragraphes du présent document sont accompagnés de questions pratiques ou pistes de réflexion pour aider le laboratoire dans sa démarche de mise en œuvre des exigences d'accréditation, en s'appuyant notamment sur une approche basée sur l'analyse de risques.

- Ces pistes ne sont pas exhaustives, elles sont données à titre informatif pour guider les laboratoires afin de se mettre en conformité vis-à-vis de l'ensemble des exigences du référentiel.

3 DOMAINE D'APPLICATION

Ce guide technique d'accréditation s'adresse aux :

- Laboratoires d'essais accrédités ou candidats à l'accréditation selon la norme NF EN ISO/IEC 17025 pour les essais portant sur :
 - des produits pharmaceutiques (ex : médicaments) et leurs principes actifs et excipients ;
 - des cosmétiques et leurs matières premières ;
 - des dispositifs médicaux ;
 - des biocides, leurs substances actives et leurs co-formulants.
- Évaluateurs du Cofrac, pour lesquels il constitue une base d'harmonisation pour l'évaluation ;
- Membres des instances décisionnelles du Cofrac : Comité de Section Laboratoires, Commission d'Accréditation Biologie Agro-Alimentaire, Structure permanente ;
- Clients des laboratoires d'essais accrédités sur ce domaine ;
- Instances officielles concernées par ce domaine.



4 MODALITES D'APPLICATION

Ce document est applicable à compter du 16 mars 2020.

Ce document contient à la fois des exigences et des recommandations.

Le terme « **doit** » est utilisé pour exprimer une exigence. Les exigences correspondent à la retranscription des exigences de la norme d'accréditation, du prescripteur ou de la réglementation, ou relèvent des règles d'évaluation et d'accréditation du Cofrac. Ainsi, dès lors que le texte reprend des exigences, elles sont surlignées en gris.

5 MODIFICATIONS APPORTEES A L'EDITION PRECEDENTE

Du fait de la refonte du document et par souci de lisibilité, les modifications n'y sont pas repérées.

Les principaux changements concernent :

- l'alignement du contenu de ce guide aux exigences de la nouvelle version 2017 de la norme NF EN ISO/IEC 17025,
- la reformulation des recommandations en pistes de réflexion,
- le retrait des matrices « Eaux »,
- la suppression des exemples d'expression de portées d'accréditation qui ont été transférés dans le document LAB INF 55.

6 EXPRESSION DES PORTEES

La portée d'accréditation demandée est définie par le laboratoire conformément aux principes décrits dans le document LAB REF 08.

Pour établir sa portée, le laboratoire peut se reporter au document LAB INF 55 qui liste les différents types d'essais les plus couramment rencontrés et pratiqués dans le domaine de la microbiologie des produits biocides, produits pharmaceutiques, produits cosmétiques et dispositifs médicaux.

LA VERSION ÉLECTRONIQUE FAIT FOI



7 GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES NORMATIVES ET RECOMMANDATIONS

7.1 Personnel

NF EN ISO/IEC 17025 § 6.2
LAB REF 02

Le laboratoire doit disposer de personnel compétent pour exécuter les essais dans le cadre de la microbiologie appliquée aux produits biocides, produits pharmaceutiques, produits cosmétiques et dispositifs médicaux.

Pistes de réflexion

Quels sont les moyens mis en œuvre par le laboratoire pour autoriser son personnel à exécuter des tâches spécifiques ? Par exemples :

- essais en double,
- supervision
- utilisation de matériaux de référence, d'échantillons dilués ou dopés,
- formations externes, etc.

Quels sont les éléments pris en compte par le laboratoire pour démontrer la pertinence de la formation du personnel ? Par exemples :

- nombre d'essais réalisés,
- représentativité des essais choisis,
- variation des types de matrice, adaptées en fonction de la difficulté de mise en œuvre de la méthode, de l'activité du laboratoire et de la formation ou expérience déjà acquise par la personne en formation,
- variabilité inter-individu, pour les essais sur les dispositifs médicaux.

7.2 Installations et conditions ambiantes

NF EN ISO/IEC 17025 § 6.3

La disposition des locaux et l'organisation des flux (échantillons, standards, etc.) doivent permettre d'éviter toute contamination croisée.

Pistes de réflexion

Pour maîtriser les risques de contaminations croisées liés à l'organisation des flux, le laboratoire tient-il compte des éléments suivants ?

L'organisation des zones affectant les activités de laboratoire:

- salle de réception et de stockage des échantillons,
- salle de préparation et de stérilisation des milieux de culture,
- salle de réalisation des essais de stérilité,
- salle de contrôle de propreté microbiologique des produits,
- salle de préparation des échantillons et de réalisation des essais,
- salle de manipulation de souches bactériennes, fongiques ou de souches virales (sauf bactériophages),
- salle de décontamination et laverie.



La séparation effective, spatiale ou temporelle, entre les zones où sont exercées des activités incompatibles ou pouvant interférer ou influencer les résultats (ex : la préparation/stérilisation des milieux de culture, la laverie, la manipulation de souches (bactériennes, fongiques virales), les essais de stérilité, les contrôles de propreté microbiologique.)

Les modalités de maîtrise de l'environnement des locaux :

- les plans de nettoyage/désinfection,
- le programme de contrôle des surfaces et aérobiocontamination (fréquence, modalités, critères d'acceptation de réalisation des analyses/essais),
- les dispositions de désinfection à suivre en cas de contamination accidentelle (sans affecter les microorganismes recherchés), les contrôles d'environnement renforcés.

Des dispositions appropriées de circulation, de transport et de stockage du matériel et autres produits à stériliser doivent être définies afin de s'assurer de la validité globale du processus de stérilisation (protection du personnel, de l'environnement et des matériels).

L'utilisation d'équipements de protection (ex : PSM) lors de la manipulation de culture contenant potentiellement des microorganismes pathogènes doit respecter la réglementation en vigueur.

Le laboratoire doit définir les niveaux de sécurité biologique de ses locaux conformément à la réglementation en vigueur.

Note : Les niveaux de confinement requis en fonction de la classe des microorganismes manipulés sont décrits dans l'Arrêté du 16 juillet 2007 (cf. bibliographie).

7.3 Equipements et traçabilité métrologique

NF EN ISO/IEC 17025 § 6.4 et 6.5
LAB REF 02 et GEN REF 10

Les équipements ayant un impact sur les résultats doivent faire l'objet d'un raccordement métrologique conformément aux dispositions décrites dans la norme NF EN ISO/IEC 17025.

Le laboratoire doit avoir accès aux équipements imposés par les référentiels techniques (Pharmacopée ; normes).

7.3.1 Enceinte thermostatée (étuve, réfrigérateur, bain d'eau, etc.)

Le laboratoire peut, notamment, suivre le fascicule FD V 08-601 ou la norme FD X 15-140 pour effectuer la cartographie de toute enceinte thermostatée. Il est recommandé pour toute enceinte ayant une influence sur le résultat des essais, de réaliser préalablement à la mise en service et en cas d'intervention importante (par exemple réparation) une cartographie.

Pistes de réflexion

Pour toute enceinte thermostatée ayant une influence sur le résultat (ex : bain d'eau servant à l'incubation, étuve, réfrigérateurs utilisés pour la conservation d'échantillons), le laboratoire s'interroge sur les éléments suivants :

- les modalités de la cartographie (en conditions réelle d'utilisation, à mi-charge ou charge pleine) ?
- la nécessité de matérialiser les zones acceptables ?
- la fréquence de cartographie et les éléments à prendre en compte pour la définir ? comme l'influence sur les résultats (température sélective, durée d'incubation), le type d'équipements (stabilité, historique, convection d'air forcé ou autre), sa réparation et/ou son déplacement
- les différentes températures de cartographie selon l'utilisation de l'enceinte ? (Cas par exemple



- des incubateurs programmables),
- la fréquence d'étalonnage des sondes de suivi ?

Afin de maîtriser les températures et délais d'incubation, un contrôle effectif de la température est nécessaire, soit par enregistrement en continu (fortement recommandé) soit par thermomètre mini-maxi. Le laboratoire prend en compte au moins l'incertitude de mesure de température dans la définition de ses erreurs maximales tolérées (EMT).

Si l'enceinte thermostatée est utilisée de façon intermittente, un enregistrement est effectué avant et au cours de toute utilisation.

Pistes de réflexion

Quels sont les éléments pris en compte par le laboratoire pour gérer les dépassements de température ? Par exemples :

- la définition des temporisations cohérentes au regard des conditions opératoires (durée d'incubation et sélectivité ou non de la température),
- les seuils d'actions et/ou d'alertes,
- les conduites à tenir en fonction de l'étendue et de la durée de dépassement selon l'impact.

En l'absence de preuves de la maîtrise de la température et de la durée de dépassement, il est nécessaire que le laboratoire se pose la question sur la validité des résultats.

7.3.2 Autoclave et procédé de stérilisation par chaleur sèche

Les autoclaves sont qualifiés par le fournisseur avant mise en service et vérifiés selon des fréquences définies par le laboratoire et la réglementation en vigueur. Il est nécessaire de pouvoir apporter des preuves de l'efficacité de chaque cycle de stérilisation par des moyens appropriés (ex : enregistrements, indicateurs...). L'utilisation d'un indicateur chimique seul n'est pas suffisante.

7.3.3 Enceinte confinée

Le choix des enceintes confinées (hottes, PSM, isolateur) est adapté à la nature des essais effectués et des exigences réglementaires de confinement.

Dans le cas où ces enceintes sont considérées comme ayant une influence sur la qualité des résultats et où l'étalonnage n'est pas applicable, la qualification par le fournisseur et la vérification par le laboratoire sont requises à une fréquence définie.

7.3.4 Verrerie graduée

Dans le cas des essais quantitatifs en microbiologie, il est toléré de stériliser la verrerie à l'autoclave sans contrôle métrologique, sous réserve d'utiliser de la verrerie de classe A.

7.4 Produits et services fournis par des prestataires externes

NF EN ISO/IEC 17025 § 6.6
LAB REF 02

7.4.1 Consommables

Les verreries et consommables stériles devraient être facilement identifiables. Des tests périodiques de stérilité sont entrepris (des tests ou des contrôles qualité internes comme les blancs de série par exemple).



7.4.2 Milieux de culture

L'utilisation d'automates de préparation et/ou de répartition de milieux est possible. Toutefois, la qualification et la vérification sont requises à une fréquence définie par le laboratoire.

La traçabilité de la date d'ouverture, de préparation voire de péremption des milieux et réactifs est assurée par le laboratoire.

- Cas des milieux de culture préparés par le laboratoire

Lorsque des milieux de culture sont préparés au laboratoire, les étapes suivantes sont à mettre en œuvre :

- définir les modalités de stockage (durée, température),
- apporter la preuve de la fertilité et de la stérilité de tous les lots de milieux de cultures préparés, par des moyens appropriés en fonction de la nature des essais réalisés. La fertilité peut être vérifiée au moment des essais ou par une souche représentative, ainsi que la spécificité ou la sélectivité des milieux, le cas échéant,
- vérifier le pH afin de se conformer aux exigences normatives spécifiques après stérilisation et refroidissement des milieux de culture.

- Cas des milieux de culture achetés prêts à l'emploi

Dans le cas de l'utilisation de milieux prêts à l'emploi, le laboratoire suit les prescriptions du fabricant.

Les milieux prêts à l'emploi sont contrôlés (au moins la stérilité et la fertilité) selon une périodicité définie par le laboratoire, et au moins à chaque changement de fournisseur.

De plus, le laboratoire vérifie que ce qui est mentionné sur le certificat de contrôle de lot fourni par le fabricant, est en adéquation avec ses besoins (ex : pH, type de souches, conditions de culture, etc), et s'assure via des contrôle appropriés (ex : fertilité et stérilité) que le transport et les conditions de stockage avant livraison n'ont pas altéré les milieux de culture.

Pistes de réflexion

Pour définir et argumenter la fréquence de contrôle de la performance des milieux prêts à l'emploi, le laboratoire peut s'appuyer sur une analyse de risque en s'interrogeant sur :

- l'historique des fournisseurs ?
- la conformité des certificats qualité?
- les dispositions relatives aux contrôles internes ?
- la garantie des conditions de transports par le fournisseur, etc. ?

Les modalités de fusion et de maintien en surfusion des milieux gélosés sont documentées par le laboratoire.

7.4.3 Souches

Les souches citées dans les référentiels ne peuvent être délivrées que par les centres de collection ou de référence.

Les cultures ou les suspensions issues de collections, préparées et commercialisées par différents fournisseurs (stick, balls, bandelette, ...) doivent être validées au niveau du laboratoire par un essai comparatif avec une souche de référence issue de collection, mettant en œuvre des inoculum préparés selon le référentiel considéré.

Si le laboratoire est amené à utiliser des souches d'origines diverses (ex : souches « terrains »), celles-ci sont à identifier, référencer et conserver, selon des dispositions définies. Le choix retenu pour la conservation des souches, en fonction de la nature des essais à réaliser, est justifié par le



laboratoire.

Ces dispositions précisent :

- les méthodes de conservation des souches microbiennes (ex selon NF EN 12353),
- les modalités de codage des souches et des cultures,
- le nombre, la fréquence et les modalités des repiquages.

Dans le cas où les souches sont utilisées pour évaluer une activité antimicrobienne, elles constituent le véritable matériel de mesure, et comme tel, il est nécessaire de contrôler leur sensibilité, à une fréquence à définir par le laboratoire.

Pour les antiseptiques et désinfectants, le contrôle de la qualité des souches bactériennes et fongiques, en complément de la norme NF EN 12353, est réalisé par rapport à une substance de référence selon un protocole normalisé. Il revient au laboratoire de définir la substance de référence, un intervalle de concentration discriminant et une périodicité adaptée des contrôles pour démontrer une éventuelle dérive.

Note : Pour les mycobactéries, les virus et les phages le certificat du centre de collection ou de référence est considéré suffisant, pour l'identification de la souche à réception et pour l'essai de référence.

7.5 Revue des demandes, appels d'offres et contrats

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.1

Le laboratoire doit disposer d'une procédure pour la revue des demandes. Cette dernière doit, au moins, assurer que les exigences implicites et explicites, y compris les méthodes, 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.

La revue de contrat doit notamment prendre en compte les conditions d'acceptation des échantillons au laboratoire dont la température et les quantités de produits à fournir.

Pistes de réflexion

Le laboratoire a-t-il défini avec son client :

- le nombre, la nature des produits à tester ?
- la méthode à utiliser, les souches à tester et le mode opératoire de préparation ?
- la nécessité de la validation préalable de la méthode retenue ?
- les critères d'acceptation des produits à réception tels que quantité, température, intégrité, etc ?
- les modalités de conservation du produit pendant les essais ?
- le devenir du produit après l'essai ?
- la nécessité ou non d'émettre des déclarations de conformité ou des avis et interprétations, et les bases sur lesquels ils reposent ?

Les demandes d'essais ne comprenant pas l'ensemble des souches préconisées (fongicide, mycobactéricide, ...) dans une norme, sont considérés comme des essais partiels qui sont clairement définis avec le client, lors de la revue de contrat.

Dans le cas où la validation préalable de paramètres expérimentaux (exemple : taux de recouvrement ou validation de la neutralisation) est nécessaire, cette dernière ainsi que la réalisation de l'essai doivent être réalisés par le même laboratoire. Si ce n'est pas le cas, la prestation ne peut être couverte par l'accréditation.



7.6 Sélection, vérification et validation des méthodes

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.2
LAB REF 02
LAB REF 08

7.6.1 Sélection des méthodes

Il n'est pas nécessaire de compléter ou de réécrire sous forme de procédures internes les méthodes reconnues. Cependant, lorsque la méthode sélectionnée laisse le choix entre plusieurs options (exemple : ISO 11737-1), le laboratoire décrit alors la pratique ou les pratiques retenues.

Dans le cadre de l'analyse des dispositifs médicaux, où une seule portion de l'échantillon (conditionnement, SIP, etc.) est soumise à l'essai, le laboratoire documente les critères mis en œuvre pour choisir la partie analysée et conserve les enregistrements.

7.6.2 Vérification des méthodes reconnues

La vérification de méthode consiste à s'assurer de la capacité du laboratoire à appliquer la méthode choisie avant de la mettre en œuvre.

Elle s'applique à toute mise en place de méthode reconnue dans le laboratoire et à chaque révision/évolution de méthode. La vérification de méthode doit faire l'objet d'un enregistrement conformément aux exigences décrites dans le document Cofrac 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 met en application la nouvelle version selon les modalités qu'il a définies dans son système qualité. Pour les méthodes normatives, à défaut d'exigences réglementaires ou normatives spécifiques, il est recommandé que cette mise à jour se fasse dans un délai de 6 mois à compter de la date de publication de la nouvelle révision du document.

Si la révision de la méthode reconnue implique une nouvelle compétence (notamment des changements de technologie), le laboratoire doit se soumettre à une évaluation du Cofrac avant de pouvoir revendiquer l'application de la méthode révisée sous accréditation et ce conformément au document LAB REF 08.

Pistes de réflexion

Le laboratoire possède-t-il une procédure de vérification de la mise en œuvre de la méthode ?

Le laboratoire a-t-il identifié les critères de performances requis ?

Quels sont les moyens mis en œuvre pour les atteindre ?

- des essais de répétabilité / reproductibilité (comparaison par rapport aux données de la méthode),
- concordance des résultats obtenus sur un panel d'échantillons de statut connu,
- la justesse, la spécificité de la méthode (exemple CIL),
- la limite de détection,
- la limite de quantification,
- l'identification des facteurs ayant une influence sur les résultats,
- l'évaluation de l'incertitude de mesure (méthodes quantitatives)
- les limites de la méthode et les points sensibles

Le laboratoire procède-t-il à l'autorisation d'emploi de la nouvelle méthode ?



Cas particuliers :

- L'application de méthodes de remplacement autorisées par certaines normes nécessite une validation de l'applicabilité par rapport à la méthode dite de premier choix (exemple : tamisage moléculaire avec le gel Sephadex en cas d'échec de la dilution à froid lors de l'application de la norme EN 14476)
- Lorsque des procédures opératoires complémentaires, précisant les détails de réalisation des essais, sont nécessaires (exemple : Pharmacopée), il peut être fait usage de procédure provenant d'autres référentiels (exemple : normes EN ou ISO) sous réserve qu'ils ne soient pas en contradiction avec la Pharmacopée (exemple : préparation d'un inoculum calibré, entretien et conservation des souches microbiennes) ou qu'ils ne minimisent pas les exigences de la Pharmacopée.

Exemple : préparation des souches pour la validation de l'essai de stérilité en concordance avec la norme EN 12353.

7.6.3 Validation des méthodes non reconnues

Le laboratoire doit valider les méthodes non normalisées, les méthodes qu'il développe et les méthodes normalisées employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ou autrement modifiées.

Pour tout écart à une norme existante (ex : utilisation hors du domaine d'application défini dans celle-ci, non-respect de la durée d'incubation, etc.), la méthode est considérée comme interne et doit être validée.

Une expertise technique est requise pour que le Cofrac puisse se prononcer sur la possibilité d'évaluer la demande d'accréditation du laboratoire pour l'emploi de la méthode interne en question.

Dans le cadre de cette expertise, un dossier de validation doit être fourni.

Dans tous les cas, le dossier destiné à l'expertise de recevabilité contient au moins les éléments suivants :

- la procédure de validation utilisée ;
- la détermination des caractéristiques de performance de la méthode ;
- la description des équipements et réactifs ;
- les facteurs contribuant à l'incertitude de mesure ;
- l'évaluation de l'incertitude de mesure, le cas échéant ;
- la conclusion quant à la confirmation de la maîtrise et de l'emploi de la méthode.

Pistes de réflexion

Le laboratoire possède-t-il une procédure relative à la conception et la validation de méthode ?

Le laboratoire a-t-il défini les critères de performances de la méthode revendiquée ?

Quels sont les moyens mis en œuvre pour les atteindre ?

- des essais de répétabilité / reproductibilité (comparaison par rapport aux données de la méthode),
- des essais de sensibilité, spécificité, ...
- la justesse de la méthode (exemple CIL),
- la limite de détection,
- l'identification des facteurs ayant une influence sur les résultats,
- l'évaluation de l'incertitude de mesure (méthodes quantitatives)



- les limites de la méthode et les points sensibles

Le laboratoire procède-t-il à l'autorisation d'emploi de la méthode interne ?

7.7 Manutention des objets d'essais

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.4

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

Certaines conditions de stockage des objets soumis à essais (temps, température, lumière) peuvent influencer sur le résultat d'essai. Par conséquent, en l'absence de toute précision dans les référentiels, la durée et les modalités de stockage à température ambiante, au réfrigérateur ou au congélateur sont définies par le laboratoire, et dans la revue de contrat, pour chaque type d'échantillon, aux différentes phases de l'essai.

7.8 Evaluation de l'incertitude de mesure

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.6
LAB REF 02

Conformément au document Cofrac LAB REF 02, le laboratoire doit identifier les facteurs d'influence pour les méthodes qualitatives et quantitatives.

L'évaluation des incertitudes est réactualisée régulièrement pour tenir compte de l'évolution de l'organisation du laboratoire et du type de matrices qu'il est amené à analyser.

Pistes de réflexion

Le laboratoire prend-t-il en compte l'ensemble des composantes de l'incertitude ? Comme :

- la variabilité inter-individu,
- la qualité des milieux,
- la qualité des équipements,
- l'environnement d'essai,
- la méthode utilisée,
- etc.

7.9 Assurer la validité des résultats

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.7
LAB REF 02

Tels que précisés dans les chapitres 7.7.1 et 7.7.2 de la norme NF EN ISO/IEC 17025, le laboratoire doit surveiller d'une part, la validité de ses résultats par l'intermédiaire des contrôles « internes » qu'il a mis en place et d'autre part sa performance via des contrôles « externes ».

La mise en œuvre de ces contrôles « internes et externes » doit être planifiée et revue par le laboratoire.

La détermination de la fréquence de ces contrôles peut être définie et justifiée, par exemple par une analyse des risques et des opportunités liées aux activités concernées.



7.9.1 Contrôles qualité internes

Essais à blanc :

Il est recommandé que le laboratoire réalise régulièrement des « analyses à blanc », ou analyses de témoins positifs et/ou négatifs (exemple : témoins « Eaux » ou témoins de conditions expérimentales et concentrations négatives dans les essais sur les désinfectants).

Substance de référence :

Dans le cas des dosages microbiologiques d'antibiotiques et d'endotoxines, la réglementation impose l'utilisation de substances de référence définies dans les Pharmacopées. Toutefois, le laboratoire doit s'assurer de leur validité auprès des fournisseurs agréés (sensibilité, lot, péremption, ...), via des résultats reproductibles et répétables dans le temps.

Contrôles qualitatifs et quantitatifs :

- Essais avec les substances de référence,
- Essais intralaboratoires,
- Suivi des valeurs des témoins positifs et négatifs, ainsi que des blancs.

7.9.2 Contrôles qualité externes

Lors de l'inscription aux essais d'aptitudes, le laboratoire veille, si possible, à ce que les matrices proposées par les organisateurs recouvrent les matrices analysées par le laboratoire.

Pistes de réflexion

Le plan de participation du laboratoire inclut-il des programmes d'essais d'aptitudes en cohérence avec sa portée d'accréditation ?

Le laboratoire a-t-il mis en place un dispositif permettant de statuer périodiquement sur la pertinence de son choix et de revoir la planification de la surveillance de la validité de ses résultats, si nécessaire ?

- Le laboratoire évalue-t-il la performance de l'OCIL en adéquation avec ses besoins (cf. § 6.6 de la norme NF EN ISO/IEC 17025).

En cas de résultats de comparaisons interlaboratoires non conformes, est ce que la procédure relative aux travaux non conformes (§ 7.10) est mise en œuvre ?

Dans le cas où le laboratoire ne participe pas à des essais d'aptitudes, quelle justification apporte-t-il ?

7.10 Rapport sur les résultats

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.8
LAB REF 02

7.10.1 Rapport d'essai

Dans le cas où les normes proposent plusieurs possibilités techniques, le principe de la méthode mis en œuvre doit être précisé dans le rapport d'essai.

Dans le cas d'essais réalisés selon les méthodes nécessitant l'établissement de procédures opératoires complémentaires (Pharmacopée, dispositifs médicaux), le laboratoire doit préciser les conditions expérimentales appliquées permettant l'interprétation des résultats et éventuellement la reproduction de l'essai (ex : préparation et dilution de l'échantillon technique utilisée, validation, nature du liquide de rinçage si méthode de filtration, ...).

Si des modes opératoires complémentaires doivent être mis en œuvre pour pouvoir réaliser l'essai,



la référence de ce mode opératoire est citée dans le rapport d'essai, en plus de la norme utilisée.

Dans le cas où la validation préalable de paramètres expérimentaux (exemple : taux de recouvrement ou validation de la neutralisation) est nécessaire, cette dernière ainsi que la réalisation de l'essai doivent être réalisés par le même laboratoire.

Si ce n'est pas le cas, la prestation ne peut être couverte par l'accréditation.

Dans le cas d'essais selon un référentiel précisant le nombre et la nature des souches microbiennes à tester (ex : NF EN 1276), le laboratoire peut être amené à ne pas réaliser l'essai sur l'ensemble des souches préconisée (essais partiels). Dans ce cas, il est possible d'émettre des rapports d'essais à condition :

- d'indiquer la mention « essai partiel » dans l'intitulé du rapport ;
- d'avoir un accord écrit du client, pour justifier ces essais partiels (établi lors de la revue de contrat).

Un rapport d'essai partiel ne peut pas conclure sur l'activité du produit (ex : activité bactéricide), mais seulement sur l'activité ciblée par la souche (ex : actif sur *Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats de ces essais partiels peuvent être repris dans un rapport d'essais complet indiquant les périodes durant lesquelles les essais partiels ont été effectués ainsi que les numéros des rapports de ces essais partiels. Dans ce cas, la conclusion sur l'activité du produit peut être émise.

Les essais partiels doivent être effectués par le même laboratoire et pour le même échantillon.

Lorsque des essais impliquent l'identification de certaines souches (essais cosmétiques et dispositifs médicaux), il convient d'indiquer clairement dans le rapport d'essai si celle-ci est couverte ou non par l'accréditation, en fonction du champ d'application de la norme et du périmètre d'accréditation du laboratoire.

7.10.2 Déclaration de conformité, avis et interprétations

La déclaration de conformité ou les avis et interprétations ne peuvent pas être étendus au lot, dans la mesure où l'accréditation pour l'échantillonnage n'est pas en vigueur dans ce domaine.

7.10.3 Expression des résultats

En règle générale, pour les biocides, les résultats en log s'expriment avec deux chiffres après la virgule.

Pour les essais concernant les dispositifs médicaux, le détail de la méthode utilisée pour le calcul du facteur de recouvrement/correction est décrit dans le rapport.

7.11 Précisions sur l'application du règlement d'accréditation

La norme NF EN ISO 14885, guide d'application des normes européennes sur les antiseptiques et désinfectants chimiques, définit les conditions d'utilisation des normes analytiques en dehors de leurs champs d'application.

Si un laboratoire souhaite revendiquer ce type de pratique, la méthode demandée est instruite en méthode interne et nécessite l'examen préalable d'un dossier de validation (expertise technique), conformément au document LAB REF 08 en vigueur.



8 BIBLIOGRAPHIE

- NF EN ISO 9000 : Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire.
- NF EN 12128 : Biotechnologie - Laboratoires de recherche, de développement et d'analyse - Niveaux de confinement des laboratoires de microbiologie, zones à risque, situations et exigences physiques de sécurité.
- NF EN 12353 : Antiseptiques et désinfectants chimiques - Conservation des microorganismes d'essais utilisés pour la détermination de l'activité bactéricide (*Legionella* incluses), mycobactéricide, sporicide, fongicide et virucide (bactériophage inclus)
- Règlement UE n° 528/2012, concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides.
- Règlement UE n° 2017/745 relatif aux dispositifs médicaux
- Règlement UE n° 1223/2009 relatif aux produits cosmétiques.

Texte réglementaire :

Arrêté du 16 juillet 2007, « Mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes », J.O n° 179 du 4 août 2007 page 13106 (N° 209, p. 133379), Réf. NOR: TAST9611280A.

LA VERSION ELECTRONIQUE N'EST PAS VALABLE