



Essais en bactériologie animale

LAB GTA 36 - 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	4
4. MODALITES D'APPLICATION	5
5. MODIFICATIONS APORTEES A L'EDITION PRECEDENTE	5
6. EXPRESSION DE LA PORTEE D'ACCREDITATION	6
7. GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES D'ACCREDITATION ET RECOMMANDATIONS	6
7.1. Personnel.....	6
7.2. Installations et conditions ambiantes.....	7
7.3. Equipements – Traçabilité métrologique.....	8
7.3.1. Enceintes thermostatées	8
7.3.2. Micropipettes et automates de pipetage et de distribution.....	8
7.3.3. Autoclaves	9
7.3.4. Balances	9
7.3.5. Pieds à coulisse, systèmes de caméra utilisés pour la lecture des diamètres des zones d'inhibition et densitomètres	9
7.4. Produits et services fournis par des prestataires externes	10
7.4.1. Exigences spécifiques concernant les milieux de culture	10
7.4.2. Sérum	10
7.5. Revue des demandes, appels d'offres et contrats.....	10
7.6. Sélection, vérification et validation des méthodes	11
7.6.1. Méthodes reconnues.....	12
7.6.2. Méthodes non reconnues	12
7.7. Manutention des objets d'essai.....	15
7.8. Assurer la validité des résultats.....	15
7.8.1. Contrôles qualité interne.....	15
7.8.2. Contrôles qualité externe.....	16
7.9. Rapport sur les résultats	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 les 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 les essais (ou analyses) en bactériologie animale.

Il 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 non exhaustive de données. Il appartient au laboratoire d'assurer la veille documentaire (normative et réglementaire).

2.1. Références

Le présent texte fait référence aux documents en vigueur suivants :

- Norme 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 » ;
- LAB REF 16 « Politique relative à la participation des Laboratoires de Référence au système d'accréditation dans le champ d'application du Règlement (UE) 2017/625 » ;
- 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 36 « Nomenclature et expression des lignes de portées d'accréditation pour les essais en bactériologie animale ».
- LAB GTA 90 : « Guide technique d'accréditation – étalonnage des instruments volumétriques à piston » ;
- LAB GTA 95 : « Guide technique d'accréditation – étalonnage d'instruments de pesage à fonctionnement non automatique ».
- Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OMSA.



2.2. Abréviations et définitions

Les abréviations suivantes sont utilisées :

- AFNOR : Association Française de NORmalisation, www.afnor.org
- COFRAC : Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr
- EA : European co-operation for Accreditation ; www.european-accreditation.org
- EIL : Essais interlaboratoires
- EMT : Erreur Maximale Tolérée
- ISO : International Standard Organisation, www.iso.org
- IVAP : Instrument Volumétrique à Piston
- LNR : Laboratoire National de Référence
- OCIL : Organisateur de Comparaisons Inter-Laboratoires
- OMSA : Organisation Mondiale de la Santé Animale, www.woah.org
- PSM : Poste de Sécurité Microbiologique
- SI : Système International d'unités

Définitions :

Développeur : organisme en charge de la validation de la méthode (Cf. paragraphes 7.6.2.1 et 7.6.2.2)

Laboratoire utilisateur : laboratoire qui adopte une méthode validée (Cf. paragraphes 7.6.1, 7.6.2.1 et 7.6.2.2)

Définition de l'encart « Pistes de réflexion » :

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 le domaine cité en objet ;
- 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.

Le champ du présent guide couvre notamment les techniques basées sur la culture, l'isolement et l'identification ou la mise en évidence (par exemple par immuno-fluorescence) des espèces



bactériennes, ainsi que les techniques de détermination de la sensibilité d'une espèce bactérienne aux anti-infectieux.

Les essais nécessitant d'autres principes de mesure (exemple spectrométrie de masse (MALDI-TOF) ne sont pas traités dans ce guide. Toutefois, les laboratoires peuvent se rapprocher du Cofrac qui étudiera la recevabilité de tels types de demandes.

Le champ du présent guide ne couvre pas la partie échantillonnage / prélèvement au sens de la norme NF EN ISO/IEC 17025. En effet, en Santé Animale, l'acte de prélèvement relève de la médecine vétérinaire et est donc de la responsabilité des services vétérinaires officiels. Cependant, dans le cadre de certains essais (cas de la norme NF U47-101 par exemple), l'action qui consiste à prélever un organe de l'échantillon reçu (c'est-à-dire l'animal) est nécessaire pour constituer l'objet soumis à essais.

Les aspects d'hygiène et sécurité sont couverts en France par la législation et ne relèvent pas de la mission du Cofrac. Le laboratoire est néanmoins tenu de respecter la réglementation en vigueur.

Ce guide s'applique de manière équivalente aux laboratoires œuvrant dans le cadre des contrôles officiels (au sens du règlement UE 2017/625) ou aux laboratoires intervenant hors contrôle officiel.

4. MODALITES D'APPLICATION

Ce document est applicable à compter du **16 janvier 2023**.

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.

Dès lors que le texte reprend des exigences, elles sont identifiées en grisées dans le corps du texte.

Le terme « **devrait** » exprime une recommandation de bonne pratique. L'organisme est libre de ne pas suivre la recommandation s'il peut démontrer que les dispositions alternatives qu'il met en œuvre satisfont les exigences d'accréditation.

Le terme « **peut** » exprime une permission ou une possibilité. La possibilité est généralement employée pour indiquer des moyens de satisfaire une exigence donnée, que l'organisme est libre d'appliquer ou non.

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 :

- la suppression de toute référence à la version 2005 de la norme NF EN ISO/IEC 17025 et l'alignement du contenu de ce guide aux exigences de la nouvelle version 2017 de la norme ;
- La reformulation des recommandations en pistes de réflexion ;
- le retrait des exemples d'expressions de portées d'accréditation qui sont transférés dans le document Cofrac LAB INF 36 ;
- la mise à jour des références du document et des définitions ;
- des précisions concernant la traçabilité métrologique des équipements, la sélection, la vérification et la validation des méthodes et l'assurance de la validité des résultats ainsi que l'ajout du chapitre concernant la revue des demandes, appels d'offres et contrats.



6. EXPRESSION DE LA PORTEE D'ACCREDITATION

La portée d'accréditation est définie par le laboratoire, conformément aux principes décrits dans le document LAB REF 08 (Expression et évaluation des portées d'accréditation).

Le laboratoire définit le niveau de flexibilité qu'il revendique. Pour établir sa portée, le laboratoire se reporte aux tableaux qui listent les différents types d'essais les plus couramment rencontrés et pratiqués dans le domaine de la bactériologie animale présentés dans le document LAB INF 36.

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

7.1. Personnel

NF EN ISO/IEC 17025 § 6.2
LAB REF 02

Le laboratoire doit disposer de personnels ayant des connaissances générales en bactériologie, sur les maladies animales et sur la réglementation en vigueur, en fonction des activités de laboratoire exécutées.

Afin d'assurer que son personnel possède les compétences nécessaires pour accomplir les activités de laboratoire qui lui sont attribuées, le laboratoire doit autoriser son personnel selon des dispositions prédéfinies.

Il n'est pas imposé d'autoriser une personne pour l'ensemble d'une méthode. Cette autorisation peut être délivrée pour une ou certaines étapes d'une méthode.

Pistes de réflexion :

- Quelles sont les tâches définies par le laboratoire nécessitant une autorisation ? Par exemple :
 - la préparation des échantillons ;
 - la mise en œuvre de l'essai ;
 - l'approbation des résultats ;
 - l'émission d'avis et d'interprétation ;
 - la sélection, vérification et validation des méthodes.
- Quels sont les éléments pris en compte par le laboratoire pour autoriser son personnel à exécuter les tâches prédéfinies ? Ces éléments peuvent par exemple inclure :
 - les différentes méthodes de culture, d'isolement et d'identification mises en œuvre ;
 - la connaissance des principes des milieux de culture ;
 - la connaissance des principes et points critiques des méthodes ;
 - les caractéristiques des espèces bactériennes recherchées et/ou utilisées ;
 - la connaissance des pathologies (dont la connaissance de l'anatomie des organes et des lésions lorsque c'est nécessaire) et de l'environnement réglementaire.
- Quels sont les éléments pris en compte par le laboratoire pour s'assurer que les compétences de son personnel sont maintenues ? Par exemple :
 - la fréquence de réalisation de la tâche (incluant l'approbation des rapports) ;
 - la représentativité des essais (positifs, négatifs, variation des types de prélèvements et de phénotypes bactériens, ...) ;
 - l'exploitation des données de surveillance de la validité des résultats ;
 - la formation.



7.2. Installations et conditions ambiantes

NF EN ISO/IEC 17025 § 6.3

Les conditions environnementales doivent permettre la bonne application des normes d'essais, ne pas modifier l'intégrité de l'échantillon soumis à l'essai et ne pas avoir d'influence sur la validité des résultats.

Les locaux dans lesquels sont réalisés les autopsies et les prélèvements sur animaux vivants possèdent les caractéristiques d'un local d'essai et sont nettoyés et désinfectés par des moyens appropriés selon la réglementation en vigueur. Ils permettent la réception, la réalisation et le conditionnement des prélèvements dans des conditions qui n'altèrent pas la qualité de ceux-ci. L'agencement de la salle d'autopsie permet la réception et l'élimination des cadavres sans risque de contamination entre cette salle et les autres locaux.

Pistes de réflexion :

Pour maîtriser les risques de contaminations croisées liés à l'organisation des flux, le laboratoire s'interroge sur les éléments suivants :

- Quelles tâches réalisées au laboratoire sont à prendre en compte pour maîtriser les risques de contaminations croisées ? Par exemple :
 - la réception, le tri et le stockage des échantillons ;
 - la préparation et la stérilisation des milieux de culture et du matériel ;
 - les prélèvements sur animaux vivants ;
 - les autopsies ;
 - la préparation des échantillons et la réalisation des essais ;
 - la décontamination et la laverie.
- Quelles autres activités réalisées au laboratoire sont à prendre en compte ?
- Quelles sont les modalités mises en œuvre pour limiter ce risque ? Par exemple :
 - la séparation spatiale des tâches ;
 - la séparation temporelle des tâches ;
 - l'utilisation de système de transport étanche ou convenablement protégé ;
 - les plans de nettoyage/désinfection ;
 - le programme de contrôle des surfaces et de l'environnement dans la zone de travail (fréquence, modalités) ;
 - les dispositions de décontamination à suivre en cas d'incidents ;
 - le principe de traitement de l'air des locaux d'essais, ainsi que sa maintenance et son niveau de performance ;
 - l'utilisation des PSM.

Concernant l'utilisation des PSM :

- Comment le laboratoire s'assure-t-il que les utilisateurs connaissent les limites d'utilisation (y compris les risques de perturbation des flux) du PSM ?
- Comment et à quelle fréquence sont assurés le nettoyage et la décontamination ?
- Ces fréquences de nettoyage et de décontamination sont-elles adaptées aux différentes parties de l'appareil (dessus et dessous du plan de travail, surfaces intérieures et extérieures, vitre, etc.) en fonction du risque de contamination ?
- Comment le laboratoire s'assure-t-il de la performance de ses PSM ?



7.3. Equipements – Traçabilité métrologique

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

Le laboratoire doit identifier les équipements ayant une influence sur la validité des résultats et s'assurer de leur maintien en bon état de fonctionnement (propreté, maintenance, contrôle).

Ces équipements doivent faire l'objet d'un raccordement métrologique conformément aux dispositions décrites dans la norme NF EN ISO/IEC 17025 et le document Cofrac GEN REF 10.

7.3.1. Enceintes thermostatées

Pour toute enceinte thermostatée ayant une influence sur la validité des résultats (exemples : enceinte destinée à maintenir une température d'incubation, réfrigérateurs assurant le stockage des réactifs, ...), une cartographie doit être réalisée préalablement à la mise en service et en cas d'intervention importante (par exemple : déplacement, réparation).

Le laboratoire peut, par exemple, suivre le fascicule FD V08-601 ou la norme FD X15-140 pour effectuer les cartographies des enceintes.

Il n'est pas exigé de réaliser une cartographie des congélateurs dont la température est inférieure ou égale à -40°C . Le suivi par une sonde raccordée au SI est suffisant pour garantir le fonctionnement de l'équipement.

Le contrôle effectif de la température est réalisé, par exemple, par enregistrement en continu (avec un intervalle d'acquisition des données adapté aux durées d'incubation) ou par l'utilisation d'un thermomètre mini-maxi.

Lorsque l'enrichissement de l'atmosphère en CO_2 est nécessaire dans une enceinte thermostatée, la validation des témoins réalisés à chaque série d'épreuve suffit à garantir la concentration en CO_2 .

Pistes de réflexion :

Pour la caractérisation des enceintes thermostatées ayant une influence sur la validité des résultats, le laboratoire tient-il compte des éléments suivants ?

- les modalités de la cartographie (en conditions réelles d'utilisation, à mi-charge ou charge pleine) ;
- la nécessité de matérialiser les zones acceptables ;
- la fréquence des cartographies et les éléments à prendre en compte pour définir cette fréquence, par exemple : l'influence sur les résultats (température sélective, durée d'incubation), le type d'équipements (stabilité, historique, convection d'air forcé ou autre) ; les réparations et/ou les déplacements,...
- les différentes températures de cartographie selon l'utilisation de l'enceinte (cas par exemple des incubateurs programmables) ;
- le(s) moyen(s) mis en œuvre pour le contrôle effectif de la température ;
- la fréquence d'étalonnage des sondes de suivi.

7.3.2. Micropipettes et automates de pipetage et de distribution

Les exigences des normes de la série 8655 ne sont pas systématiquement opposables, en particulier pour ce qui concerne les critères de conformité des EMT. Ces derniers y sont décrits dans un but d'émission d'un certificat de conformité par un fabricant et non pour être systématiquement pris en compte par un laboratoire réalisant des essais de bactériologie.



Le guide technique d'accréditation LAB GTA 90 « Etalonnage des instruments volumétriques à piston » précise des recommandations de bonnes pratiques relatives à l'étalonnage des instruments volumétriques à piston. Ce document peut servir de guide aux laboratoires pour mettre en place une procédure adaptée à leur utilisation.

Les points suivants doivent être pris en compte pour les équipements ayant une influence sur la validité des résultats :

- le raccordement au Système International d'unités est exigé ;
- la fréquence de raccordement doit être définie et argumentée ;
- la justesse (ou erreur systématique selon les normes 8655) et la fidélité (ou erreur aléatoire selon les normes 8655) doivent être vérifiées. Le nombre de répétitions pour vérifier ces caractéristiques doit être défini et argumenté ;
- pour les IVAP multicanaux, la justesse et la fidélité doivent être vérifiées pour chaque canal indépendamment des autres ;
- les critères de performance (EMT) attendus doivent être définis et argumentés par le laboratoire en fonction des besoins des méthodes ;
- pour les IVAP à volume variable, l'étendue et le mode d'utilisation (par exemple : mode répétitif) doivent être pris en compte. Ainsi, pour une utilisation sur une gamme de volumes, le laboratoire vérifie au moins les volumes minimum et maximum utilisés ; pour une utilisation à un seul volume, la vérification de ce seul point est acceptable.

7.3.3. Autoclaves

Si des contrôles qualité des milieux de culture (aspect, couleur, fertilité, stérilité, essais de performance) sont effectués après la stérilisation, l'étalonnage des sondes de température des autoclaves n'est pas indispensable. Cela n'exclut pas la vérification systématique des cycles d'autoclavage (temps, température, pression, etc).

7.3.4. Balances

Les balances ayant une influence sur la validité des résultats doivent être raccordées au Système International d'unités.

Les diluteurs gravimétriques ou autre système équivalent peuvent ne pas être raccordés au Système International d'unités selon leur mode d'utilisation : par exemple, lors de la préparation de l'échantillon pour la recherche de salmonelles avec un rapport de dilution compris entre 10 et 20%.

Le guide technique d'accréditation LAB GTA 95 « Etalonnage d'instruments de pesage à fonctionnement non-automatique » précise des recommandations de bonnes pratiques relatives à l'étalonnage des instruments de pesage à fonctionnement non automatique. Ce document peut servir de guide aux laboratoires pour mettre en place une procédure adaptée à leur utilisation.

7.3.5. Pieds à coulisse, systèmes de caméra utilisés pour la lecture des diamètres des zones d'inhibition et densitomètres

L'étalonnage de ces équipements n'est pas exigé dans la mesure où l'incertitude de mesure affecte peu la validité du résultat (catégorisation clinique). En effet, d'autres facteurs impactent beaucoup plus significativement le résultat, en particulier des facteurs biologiques.

Le laboratoire doit néanmoins s'assurer du bon état de fonctionnement de ses équipements.



7.4. Produits et services fournis par des prestataires externes

NF EN ISO/IEC 17025 §. 6.6
LAB REF 02

Ce paragraphe n'a pas vocation à présenter une liste exhaustive des réactifs ayant une influence sur la validité des résultats.

7.4.1. Exigences spécifiques concernant les milieux de culture

La préparation des milieux de culture dans un local réservé à cet usage est privilégiée ; toutefois la préparation de milieu à préparation extemporanée peut être réalisée dans les locaux destinés à l'ensemencement dans la mesure où le laboratoire garantit l'absence de contamination.

Pistes de réflexion :

Pour les milieux prêts à l'emploi (y compris les milieux prêts à couler) :

- Le certificat de contrôle du fournisseur répond-il aux besoins du laboratoire ?
- Dans le cas contraire, quels sont les moyens de contrôles mis en œuvre par le laboratoire ? (contrôles de performance, ...)

Pour les milieux à préparation extemporanée (milieux finis prêts à l'emploi auxquels des suppléments sont ajoutés) :

- Le certificat de contrôle du fournisseur répond-il aux besoins du laboratoire ?
- Dans le cas contraire, quels sont les moyens de contrôles mis en œuvre par le laboratoire ? (contrôles de performance, ...)
- Le laboratoire a-t-il prévu un contrôle qualitatif ?

Pour les milieux préparés par le laboratoire :

- Quels sont les critères vérifiés par le laboratoire en fonction des spécifications des milieux préparés (exemples : fertilité, stérilité, sélectivité et productivité des milieux) ?
- A quelle fréquence sont réalisés ces contrôles ? (changement de lot de milieu déshydraté, ...)
- Comment le laboratoire s'assure-t-il de respecter les exigences du fournisseur en matière de qualité de l'eau ?
- Comment le laboratoire garantit-il une conservation adéquate des boîtes de Pétri ?

7.4.2. Sérum

Le laboratoire vérifie la performance des sérums, sauf si la vérification est réalisée par le fournisseur et que le laboratoire respecte les préconisations du fournisseur.

7.5. Revue des demandes, appels d'offres et contrats

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.1

La revue de contrat peut être effectuée, selon les cas, directement avec les clients ou les représentants des clients : des organismes à vocation sanitaire (par exemple, groupement de défense sanitaire) et des organisations vétérinaires à vocation technique (par exemple, groupement de vétérinaires).

Elle peut être réalisée sur des documents tels que l'ordonnance du vétérinaire, un formulaire de demande interne au laboratoire ou tout autre document accompagnant les prélèvements.



Ce processus de revue permet notamment d'identifier le (ou les) destinataire(s) des rapports d'essais ainsi que les informations associées qui leur seront transmises (résultat, déclaration de conformité).

Pistes de réflexion :

- Quelles sont les informations que le laboratoire transmet à son client lors de la revue de contrat ?
 - les critères d'acceptation des échantillons à réception tels que quantité/volume, température, délai entre le prélèvement et la réception, intégrité, etc ?
 - les délais d'analyse, en accord avec les exigences normatives ou réglementaires le cas échéant ?
 - les prestations éventuellement confiées à un prestataire externe ?
 - la méthode retenue, notamment lorsque le laboratoire utilise plusieurs références pour un même principe de mesure ?
 - les délais et les modalités de conservation des échantillons ?
 - la nécessité d'émettre ou non une déclaration de conformité et le cas échéant, la règle de décision convenue avec lui ?
 - la nécessité d'émettre ou non des avis et interprétations ?
 - les modalités de transmission des résultats ?

7.6. Sélection, vérification et validation des méthodes

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.2
LAB REF 08

De manière générale, les principes relatifs à la validation des méthodes, tels que décrits dans les chapitres correspondants du manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres et du manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques de l'OMSA, doivent être respectés.

Le document LAB REF 08 précise la définition d'une méthode reconnue :

- Les méthodes décrites dans les normes AFNOR sont considérées comme reconnues lorsqu'elles décrivent une analyse spécifique et si elles ne se limitent pas à donner des lignes directrices pour la mise en œuvre des méthodes.
- Les méthodes du manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres et aquatiques de l'OMSA peuvent être considérées comme reconnues lorsqu'elles sont suffisamment décrites pour être mises en œuvre et qu'elles sont utilisées pour l'usage prévu dans le manuel.
- Les méthodes rendues d'application obligatoire, si elles sont décrites, ou référencées dans un texte réglementaire, dès lors que ces méthodes sont utilisées dans le contexte d'application obligatoire.

En dehors des cas cités ci-dessus, les méthodes sont considérées comme non reconnues et sont exprimées en méthodes internes dans les portées d'accréditation (portée de type fixe ou flexibilité de type FLEX 3). Une détermination des caractéristiques et une validation préalable conformément au document LAB REF 08 sont alors nécessaires.



7.6.1. Méthodes reconnues

Dans le cadre de la mise en œuvre de méthodes reconnues, le laboratoire doit appliquer strictement les méthodes décrites dans les documents publiés ou les normes techniques.

Il n'est pas demandé au laboratoire utilisateur de déterminer les caractéristiques de la méthode.

Le laboratoire doit toutefois s'assurer de sa capacité à appliquer la méthode retenue avant de la mettre en œuvre, conformément au document LAB REF 08.

Le laboratoire établit un dossier de **confirmation** qui comporte, pour une méthode donnée, les éléments suivants :

- adéquation des performances de la méthode par rapport au besoin de ses clients ;
- données de répétabilité et de reproductibilité intra laboratoire (fidélité intermédiaire) ;
- vérification de la concordance des résultats qu'il obtient sur un panel d'échantillons de statut connu (positif et négatif).

Pistes de réflexion :

- Le laboratoire a-t-il documenté dans son système de management des dispositions relatives à la vérification de la mise en œuvre de la méthode ?
- Les dispositions de gestion documentaire mises en œuvre permettent-elles d'assurer la traçabilité des modifications apportées au dossier de confirmation ?
- Le laboratoire a-t-il identifié les critères de performances de la méthode requis ?
- Quels sont les moyens mis en œuvre pour atteindre les critères de performance définis ? Par exemple :
 - le choix du panel d'échantillons (EIL, matériaux de référence externes, échantillons analysés avec une autre méthode reconnue, etc) ;
 - l'identification et la maîtrise des facteurs ayant une influence sur les résultats,
 - l'évaluation de l'incertitude de mesure.
- Le laboratoire a-t-il conclu sur l'adéquation de la méthode par rapport à l'emploi prévu et sur son autorisation d'emploi ?

7.6.2. Méthodes non reconnues

Quel que soit le principe de la méthode, un dossier de validation doit être constitué, conformément aux exigences de la norme NF EN ISO/IEC 17025 et du document LAB REF 08.

7.6.2.1. Détermination des caractéristiques

Les caractéristiques suivantes sont prises en compte dans le dossier de validation. Si certaines d'entre elles ne sont pas prises en compte, le laboratoire justifie son choix dans son dossier.

- **sensibilité analytique** : plus petite quantité de substance caractérisable ou la plus faible réaction décelable avec un niveau de confiance défini ;
- **sensibilité diagnostique** : proportion d'animaux de référence connus comme infectés et présentant un résultat positif à l'analyse. Les animaux infectés pour lesquels le résultat est négatif sont considérés comme des « faux négatifs » ;
- **spécificité analytique** : faculté du test à distinguer entre les analytes cibles et les autres substances de la matrice ;



- **spécificité diagnostique** : proportion d'animaux de référence connus comme non infectés et présentant un résultat négatif lors d'une épreuve. Les animaux de référence non infectés pour lesquels le résultat est positif sont considérés comme des « faux positifs ». Les modalités d'établissement des seuils d'interprétation sont documentées ;
- **valeur de fidélité** (répétabilité, reproductibilité inter laboratoire ou à défaut intra laboratoire : fidélité intermédiaire) ;
- **données de robustesse** si possible. (Degré de concordance entre les analyses réitérées d'un même échantillon avec un même réactif au sein du même laboratoire, dans les conditions opératoires limites prévues par le protocole).

Le dossier de validation établi par le développeur présente les résultats obtenus pour ces paramètres ainsi que la description des conditions de leur obtention (nature, origine, nombre d'échantillons utilisés) et est accessible au laboratoire utilisateur.

Le laboratoire utilisateur doit s'assurer de la pertinence des conditions d'obtention des résultats vis-à-vis de ses propres objectifs et compléter le dossier de validation si ces conditions ne répondent pas à son besoin (cf. tableau paragraphe 7.6.2.2).

7.6.2.2. Validation et autorisation d'emploi

a. Généralités

La validation est la confirmation que les caractéristiques de la méthode conviennent pour l'emploi prévu.

Le laboratoire doit apporter les éléments de vérification suivants, pour chaque matrice revendiquée et pour chaque variante opératoire :

Paramètres à vérifier et/ou à connaître	Données bibliographiques / Données du développeur *	Données acquises pour l'évaluation de la performance d'une méthode par le laboratoire utilisateur **
Spécificité Diagnostique	Oui	Non
Sensibilité Diagnostique	Oui	Non
Fidélité (répétabilité et reproductibilité)	Oui	Oui
Robustesse	Oui	Oui (si possible)
Concordance avec une méthode de référence ou avec une méthode déjà utilisée	Oui	Oui (si possible)
Déteçtabilité (sensibilité et spécificité analytiques)	Oui	Oui
Evaluation de l'incertitude de mesure	Oui	Oui

* Les items mentionnés dans cette colonne sont applicables lors de la détermination des caractéristiques par le développeur

** Les items mentionnés dans cette colonne sont applicables lors de l'autorisation d'emploi par le laboratoire utilisateur



b. Recommandations permettant la validation d'une méthode

Spécificité/Sensibilité Diagnostique :

En fonction des données communiquées par le développeur et des exigences, pour la validation des méthodes, décrites dans le manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres et dans le manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques de l'OMSA, le laboratoire évalue la nécessité de compléter les données et dans ce cas, il justifie les modalités mises en œuvre et les résultats obtenus. Pour ce faire, le laboratoire se réfère aux tables statistiques des manuels OMSA évaluant le degré de confiance de ces paramètres en fonction du nombre d'échantillons testés.

Fidélité (répétabilité et reproductibilité) :

- Répétabilité

L'évaluation de la répétabilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon positif dans des conditions standardisées : même opérateur, même(s) lot(s) de réactif(s), même(s) instrument(s), mêmes conditions d'analyse. Le laboratoire devrait obtenir au moins 10 valeurs pour un même échantillon. En pratique, ces essais sont réalisés au cours d'une même série.

- Reproductibilité intra-laboratoire (fidélité intermédiaire)

L'évaluation de la reproductibilité (interne au laboratoire) consiste à effectuer l'analyse d'un (ou plusieurs) échantillon(s) dans des conditions différentes (à titre d'exemples : variation d'opérateur, de jour de réalisation, des lots de réactifs, des instruments...).

Lorsque c'est possible, le laboratoire obtient au moins 15 valeurs indépendantes en faisant varier le maximum de paramètres représentatifs de l'activité de routine prévue.

Comparaison avec une méthode déjà utilisée au laboratoire

Cette comparaison ne peut intervenir qu'après la vérification de la répétabilité et de la reproductibilité.

Pour comparer deux méthodes entre elles, le laboratoire utilise au moins 15 échantillons positifs et autant de négatifs de statut connu et judicieusement choisis.

Ces échantillons sont analysés en parallèle par les deux techniques dans des conditions opératoires aussi proches que possibles afin de limiter l'introduction de sources de variabilité.

DéTECTABILITÉ

Le laboratoire s'assure qu'il atteint le niveau de détectabilité requis au moyen de matériaux de statut connu.

c. Constitution du dossier de validation

Les informations et les résultats collectés au cours du processus de validation font l'objet d'un document cohérent et clair, qui mentionne une acceptation formelle par le laboratoire de la validité de la méthode, c'est-à-dire une décision ou une déclaration :

- quant à la détermination des caractéristiques de la méthode,
- quant à l'autorisation d'emploi de la méthode.

Ce dossier de validation est géré dans le système de management du laboratoire.



7.7. Manutention des objets d'essai

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.4

En fonction du contexte et de la réglementation en vigueur, la réception, le transfert, le déballage, la manipulation et le stockage des échantillons reçus peuvent nécessiter la mise en œuvre de dispositions de confinement adaptées au niveau de risque correspondant.

Lorsque la réglementation et/ou les méthodes ne définissent pas les conditions d'acceptation des échantillons (type, nombre, conditions d'acheminement et de conservation, informations nécessaires au traitement de l'échantillon...), le laboratoire doit établir ses propres critères et les tenir à disposition des clients.

Le laboratoire doit documenter les dispositions prises pour éviter toute contamination lors des dépôts des échantillons par les clients et au moment de la circulation dans le laboratoire des prélèvements et des documents potentiellement souillés les accompagnant.

Le laboratoire assure la traçabilité des échantillons tout au long du processus de traitement et d'analyse.

En fonction des besoins du laboratoire et de ses clients, du contexte et de la réglementation, les produits soumis à analyse sont conservés au moins jusqu'à la validation finale des résultats puis éliminés selon des modalités qui évitent toute contamination. Dans tous les cas, le laboratoire définit et justifie ses choix.

Sauf mention particulière dans les référentiels externes applicables, le laboratoire définit ses conditions de stockage.

7.8. 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 fréquence de ces contrôles doit être définie et justifiée, par exemple, par une analyse des risques et des opportunités liées aux activités concernées.

7.8.1. Contrôles qualité interne

Les témoins positifs décrits dans la méthode d'essai doivent être mis en œuvre et conduire aux résultats attendus.

Le laboratoire dispose de souches de référence ou de souches correctement identifiées pour assurer la qualité des résultats. Le laboratoire met en œuvre les moyens nécessaires pour la conservation de ses souches, en particulier des souches mères, et s'assure du maintien de leur caractéristique.

En fonction de son activité et de leur pertinence, le laboratoire réalise des « essais à blanc » (exemple : analyse d'un milieu de dilution pour mimer une suspension mère) et des contrôles positifs, à des fréquences définies.



7.8.2. Contrôles qualité externe

Le laboratoire doit participer aux essais d'aptitude appropriés pour démontrer sa performance.

Ces essais peuvent être organisés par un LNR (dans le cadre de l'obtention/maintien des agréments ministériels) ou par un autre organisateur de comparaisons inter-laboratoires.

Lorsqu'aucun essai d'aptitude n'existe, le laboratoire doit ses résultats avec ceux d'autres laboratoires pour assurer la cohérence de ses résultats.

Pistes de réflexion :

- La surveillance de la performance est-elle planifiée et la périodicité est-elle justifiée (exemple : analyse de risque) ?
- Le plan de participation couvre-t-il l'ensemble des compétences et matrices de la portée d'accréditation ?
- En cas de résultats non conformes, la procédure relative aux travaux non conformes (§ 7.10) est-elle mise en œuvre ?
- 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) ?

7.9. Rapport sur les résultats

NF EN ISO/IEC 17025 § 7.8
LAB REF 02

La date d'exécution de l'essai exigée sur le rapport d'essai peut être la date de début ou de fin de l'essai en fonction du contexte et des analyses à condition que la traçabilité tenue par le laboratoire permette dans tous les cas de démontrer que les exigences techniques ou réglementaires ont été strictement respectées.

Les « conclusions » émises par le laboratoire et imposées par le donneur d'ordre (interprétations SIGAL) ne relèvent ni de la déclaration de conformité ni des avis et interprétations au sens du LAB REF 02.

Elles sont considérées comme étant hors champs d'accréditation.



8. BIBLIOGRAPHIE

- FD X15-140 « Mesure de l'humidité de l'air - Enceintes climatiques et thermostatiques - Caractérisation et vérification ».
- FD V08-601 « Microbiologie des aliments – enceintes thermostatiques, caractérisation, vérification et suivi quotidien ».
- NF EN ISO 8655-2 « Appareils volumétriques à piston - Partie 2 : pipettes à piston ».
- Arrêté du 16/07/2007 fixant les mesures techniques de prévention notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologique, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.
- Antibiogramme Vétérinaire du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI