

GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION
Analyses microbiologiques des produits et
environnement agro-alimentaires

Document **LAB GTA 59**
Révision 00 – Novembre 2010



SOMMAIRE

1-	OBJET DU DOCUMENT	3
2-	DEFINITIONS et REFERENCES	3
	2.1 Définitions et abréviations	3
	2.2 Références	4
3-	DOMAINE D'APPLICATION	4
4-	MODALITES D'APPLICATION	5
5-	SYNTHESE DES MODIFICATIONS	5
6-	NOMENCLATURE DES ANALYSES ET EXPRESSION DES PORTEES	5
7-	GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES NORMATIVES ET RECOMMANDATIONS	12
	7.1 Introduction	12
	7.2 Revue des demandes et de contrat, et services au client	12
	7.3 Sous-traitance	13
	7.4. Personnel	13
	7.5 Installations et Conditions ambiantes	14
	7.6 Méthode d'essai	15
	7.6.1 Sélection de méthodes	15
	7.6.2. Validation des méthodes	15
	7.6.3 Incertitudes de mesure	16
	7.6.4 Note concernant la pratique de certaines méthodes d'essai	16
	7.7 Equipement	17
	7.7.1 Bains d'eau	17
	7.7.2 Autoclave	17
	7.8 Traçabilité du mesurage (métrologie)	17
	7.8.1 Enceintes thermostatées (étuves, réfrigérateurs, bains d'eau, etc.)	18
	7.8.2 Utilisation d'une centrale de mesure	18
	7.8.3 pH mètre	18
	7.8.4 Autoclave	18
	7.8.5 Spectrophotomètre	18
	7.8.6 Thermocycleur	19
	7.9 Prélèvement et échantillonnage et transport	19
	7.10 Manutention des objets d'essai	19
	7.10.1 Réception de l'échantillon	19
	7.10.2 Préparation des suspensions mères et des dilutions	20
	7.11 Assurer la qualité des résultats d'essai	20
	7.11.1 Consommables	20
	7.11.2 Contrôles qualité interne	21
	7.11.3 Campagne d'entraînement	21
	7.11.4 Comparaisons inter laboratoires	22
	7.12 Rapport sur les résultats	22
	7.12.1 Rapport d'essais	22
	7.12.2 Expression des résultats	22
	7.12.3 Déclarations de conformité, Avis et interprétations	23
8-	REGLES PARTICULIERES D'ACCREDITATION ET D'EVALUATION	23
	8.1. Règles d'accréditation	23
	8.1.1 Cas particulier méthode spirale	23
	8.1.2 Cas des méthodes « alternatives » (validées par tierce partie)	23
	8.1.3. Cas particulier : méthodes normalisées « dénombrement d'un microorganisme par NPP et recherche » (ex : NF EN ISO 6888-3, NF ISO 21528-1):	24
	8.2. Règles d'évaluation	24
	BIBLIOGRAPHIE	25

1- OBJET DU DOCUMENT

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

En ligne avec l'annexe B de la norme NF EN ISO/CEI 17025, le présent Guide Technique d'Accréditation (GTA) constitue un guide de lecture des exigences de ladite norme pour le domaine de la Microbiologie appliquée aux analyses des produits alimentaires destinées à la consommation humaine ou animale ainsi qu'à l'environnement agro-alimentaire. En complément, il établit des recommandations issues des bonnes pratiques admises dans le domaine et de la normalisation en vigueur.

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

Ce guide peut aussi être un outil pour les laboratoires mettant en œuvre les normes du domaine agro-alimentaire dans un autre domaine d'application (matières fertilisantes et supports de culture notamment).

Ce guide ne se substitue pas aux exigences 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/CEI 17025 et du document LAB REF 02. Dans tous les cas, il appartient au laboratoire de démontrer que les dispositions qu'il prend permettent de satisfaire pleinement les exigences de la norme citée supra.

2- DEFINITIONS ET REFERENCES

Les termes utilisés dans ce document font appel à des définitions précisées dans les textes réglementaires et/ou les normes techniques des domaines concernés.

2.1 Définitions et abréviations

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

Echantillon pour laboratoire : masse/Volume de produit alimentaire prélevé ou prélèvement de surface qui arrive au laboratoire pour être soumis à l'analyse/essai.

Echantillon pour analyse/essai : échantillon dans lequel la prise d'essai va être prélevée. Il peut être l'échantillon pour laboratoire, une partie de l'échantillon pour laboratoire ou résulter d'une préparation de l'échantillon pour laboratoire (ex : broyage, râpage, décongélation etc.).

Prise d'essai : portion du produit qui est réellement analysée (ex : 25g pour analyse salmonelles).

Prélèvement : Dans ce guide, le prélèvement est l'acte qui consiste à prélever un échantillon dans des conditions telles que les caractéristiques de l'échantillon pour laboratoire ne soient pas altérées.

La collecte ne doit pas être confondue avec le prélèvement d'échantillon. La collecte est l'acte de prendre des prélèvements préparés par le client sans effectuer un acte de prélèvement et de les transporter sans perte d'intégrité au laboratoire pour les soumettre aux essais.

Il appartient au laboratoire de se tenir à jour des textes régissant les domaines concernés tant sur le plan réglementaire que technique.

Sigles et abréviations

- (O)CIL : (Organisateurs de) Comparaison Inter-Laboratoires
- AFNOR : Association française de normalisation
- FIL : Fédération Internationale de Laiterie (www.fil-idf.org)
- ISO : International Organization for Standardization (www.iso.org)
- CTA: Commission Technique d'Accréditation
- EA: European co-operation for Accreditation (www.european-accreditation.org)

2.2 Références

Le présent document s'appuie et se réfère notamment aux documents suivants, dans leur version en vigueur (d'autres documents utiles sont cités au paragraphe Bibliographie):

- **NF EN ISO/CEI 17025** : Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.
- **LAB REF 02** : Exigences pour l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025.
- **LAB REF 05** : Règlement d'accréditation.
- **LAB REF 08** : Expression et évaluation des portées d'accréditation.
- **NF EN ISO 7218** : Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations.
- **NF EN ISO 6887-1** : Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.
- **NF EN ISO 22174** : Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments - Exigences générales et définitions.
- **XP CEN ISO/TS 11133-1** : Microbiologie des aliments - Lignes directrices pour la préparation et la production des milieux de culture - Partie 1 : lignes directrices générales d'assurance qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire.

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/CEI 17025 pour le domaine cité en objet ;
- évaluateurs du Cofrac, pour lesquels il constitue une base d'harmonisation pour l'évaluation ;
- membres des instances du Cofrac (Comité de Section Laboratoires, Commission Technique d'Accréditation Biologie- Agro-Alimentaire, Commission Interne d'Examen des Rapports pour l'Accréditation), pour lesquels il constitue un outil d'aide à la décision ;
- clients des laboratoires d'essais accrédités sur ce domaine ;
- instances officielles concernées par ce domaine.

Le champ du présent guide couvre les phases allant de la prise en charge des échantillons à la transmission des rapports d'analyses. Ce guide prend donc en compte la partie prélèvement d'objet à l'extérieur du laboratoire en accord avec la politique « échantillonnage et prélèvement » du document COFRAC LAB REF 02.

L'accréditation peut être délivrée notamment pour :

- des analyses / essais (dénombrement ou recherche) de micro-organismes dans les produits destinés à l'alimentation humaine ou animale, ainsi que dans leur environnement si cela est explicitement mentionné dans le domaine d'application de la méthode référencée,
- pour les essais de stabilité et de mesures de pH des produits appertisés et assimilés
- pour la réalisation du prélèvement de denrées alimentaires (technique d'échantillonnage) ou prélèvement sur surface dans les industries agro-alimentaires,

NOTE : Attention la collecte ne peut être accréditée. De plus, un laboratoire ne peut être accrédité sur les prélèvements sans être accrédité sur les analyses de microbiologie des aliments.

Les principes généraux énoncés dans ce guide peuvent être appliqués pour la caractérisation, et l'identification de souches, pour les laboratoires de contrôles de milieux de culture, etc.

Les échantillons de production primaire sont gérés au sein du Cofrac dans le cadre du domaine « bactériologie animale » (116).

Pour la norme NF EN ISO 6579 Annexe D, les laboratoires accrédités pour la recherche de *Salmonella* selon la norme NF EN ISO 6579 et souhaitant rendre des résultats sous couvert de l'accréditation en suivant la méthode de l'amendement A1 de la norme (annexe D) devront au préalable être évalués sur cet amendement. En effet, la nature des échantillons analysés nécessite la mise en place de dispositions particulières à appliquer lors de leur prise en charge par le laboratoire, et d'un mode opératoire spécifique, ce qui doit faire l'objet d'une évaluation préalable.

Cette ligne d'accréditation sera « rattachée » au domaine « bactériologie animale » (116). Toutefois, un évaluateur du domaine « microbiologie alimentaire » (59) pourra réaliser l'évaluation de ce paramètre (afin d'éviter de doubler les compétences systématiquement).

Pour les analyses réalisées dans le cadre réglementaire du paiement du lait, le laboratoire se référera au document Cofrac LAB REF 15.

Ce guide ne s'applique pas aux études de vieillissement et tests de croissance ou études de validation de méthodes alternatives mais peut s'appliquer aux analyses réalisées dans le cadre de ces études (ex : *s'applique au dénombrement des Listeria spp. mais ne s'applique pas pour la détermination du taux de croissance de Listeria dans le produit*).

4- MODALITES D'APPLICATION

Le présent document est applicable à compter du **15 novembre 2010**.

5- SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS

Il s'agit de la première version du document. Il porte donc l'indice de révision 00 et aucune marque de modification n'est indiquée.

Le présent GTA annule et remplace le programme d'accréditation n°59 - révision 05 de Septembre 1999.

6- NOMENCLATURE DES ANALYSES ET EXPRESSION DES PORTÉES

La portée d'accréditation demandée est définie par le laboratoire suivant les principes du document LAB REF 08, à partir des quatre éléments suivants :

1. Objet (ex : *famille, matrice*),
2. Grandeur ou caractéristique mesurée (ex : *microorganisme ou groupe de microorganismes recherché*),
3. Principe de mesure (ex : *dénombrement à t°C, recherche sur milieu Y*),
4. Référence de la méthode (ex : *norme, méthode certifiée, méthode interne+ n°version, etc....*).

Pour établir sa portée, le laboratoire se reporte aux tableaux qui listent les différents types d'analyses /d'essais les plus couramment rencontrés et pratiqués dans le domaine de la microbiologie alimentaire présentés dans le document Cofrac LAB INF 59.

Portée de type standard (A)

Pour ce type de portée, le laboratoire définit le niveau de flexibilité qu'il revendique (3 options) :

- **Type A1** La compétence du laboratoire n'est reconnue que pour des essais correspondant à un protocole de mesure figé. En cas de modification de ce protocole, le laboratoire n'est pas autorisé à rendre les résultats sous accréditation sans évaluation et accord préalable du Cofrac.
- **Type A2** Le laboratoire a la possibilité d'utiliser son accréditation sur les révisions successives des méthodes normalisées ou consensuellement reconnues, sans évaluation préalable du

Cofrac, dès lors que les révisions n'impliquent pas la mise en œuvre de compétences nouvelles.

- **Type A3** Le laboratoire a la possibilité d'utiliser, sans évaluation préalable du Cofrac, son accréditation pour toute méthode normalisée ou consensuellement reconnue reposant sur les compétences techniques décrites dans la portée et démontrées initialement (cf. exemples).

Demande de type A1

La portée d'accréditation est exprimée sous la forme d'une liste de méthodes normalisées ou internes (protocole de mesure ou d'essai figés), associées à leurs indices de révision précisant leur domaine d'application.

Exemple de demande de type A1 :

AGROALIMENTAIRE / DIVERS ALIMENTS/ Echantillonnage- Prélèvements
AGROALIMENTAIRE / DIVERS ALIMENTS/ Analyses microbiologiques

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCÉ DE LA METHODE
Produits Agro-Alimentaires hors carcasses et produits congelés en pain	Prélèvements en vue d'analyses microbiologiques	Prélèvement instantané	Mode opératoire labo v03
Carcasses de boucherie	Prélèvements en vue d'analyses microbiologiques	Prélèvement instantané sur une surface de carcasse	NF ISO 17604 (2004) Mode opératoire labo v02
Produits Agro-alimentaires	Salmonella	Recherche sur milieu Y	Méthode interne XX v01

Commentaire : Le laboratoire est accrédité pour pratiquer les analyses/prélèvements décrits 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 (sans changement de principe) est intervenu entre deux évaluations sur site.

Demande de type A2

La portée d'accréditation est exprimée sous la forme d'une liste de méthodes normalisées ou consensuellement reconnues (méthodes alternatives validées/certifiées, etc.), sans indication de leur indice de révision.

Cette expression de portée, de type A2, implique que le laboratoire doit être en mesure de maîtriser la prise en compte des révisions des documents référencés dans sa portée, et d'en assurer une application correcte. (ex : document récapitulatif de la prise en compte des changements significatifs dans la méthode).

Lors du changement des textes normatifs cités en référence dans la portée d'accréditation, à la suite de nouvelles éditions, révisions, le laboratoire met en application la nouvelle version selon les modalités qu'il aura définies dans son système qualité. Il est cependant recommandé que cette mise à jour se fasse dans les 6 mois après publication par l'AFNOR.

Si la révision de la norme d'analyse porte sur des modifications majeures (ex : ajout d'une étape de confirmation), le laboratoire doit informer le Cofrac qui examinera la nécessité ou non de réaliser une évaluation sur site avant de pouvoir revendiquer l'application de la norme révisée sous accréditation. En conséquence, à chaque révision de norme, le laboratoire doit étudier et tracer la répercussion possible sur sa portée d'accréditation.

Dans le cas des méthodes certifiées, le laboratoire doit agir de même et également tenir à jour les notices fournisseurs et les attestations des méthodes certifiées. De plus, il doit s'assurer que la validation (certification) des méthodes mises en œuvre est toujours en vigueur.

Exemple de demande de type A2 :

AGROALIMENTAIRE / DIVERS ALIMENTS/ analyses microbiologiques

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale, aux échantillons d'environnement du secteur agroalimentaire	<i>Salmonella</i> spp dont <i>Salmonella</i> Typhi et <i>Salmonella</i> Paratyphi	Recherche Isolement/identification et confirmation	NF EN ISO 6579
Produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale	<i>Listeria monocytogenes</i>	Recherche Isolement/identification et confirmation	NF EN ISO 11290-1/A1

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 portée d'accréditation est exprimée sous la forme d'une liste de compétences (champs de possibilités), sans restriction quant aux textes de références à utiliser. Elle peut être illustrée, à titre indicatif, par une liste détaillée des méthodes utilisées dans ce domaine par le laboratoire à une date donnée.

La demande pour une portée flexible de type A3 doit faire l'objet d'une demande d'extension préalable.

Le laboratoire doit documenter et tenir à disposition permanente du Cofrac la liste détaillée des analyses et, en particulier, 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.

Dans le domaine microbiologie alimentaire :

La flexibilité ne peut être demandée que pour des méthodes certifiées de même principe. Le laboratoire veillera aussi au domaine d'application des méthodes sélectionnées.

De plus, les méthodes de confirmation spécifiques d'une méthode certifiée ne peuvent être appliquées à une autre sauf si le fournisseur l'autorise.

A noter : les cas de confirmation des colonies suspectes spécifiques à une méthode certifiée sont exclus du champ de flexibilité A3, c'est à dire que le laboratoire ne peut pas être accrédité que pour les méthodes de confirmation.

Exemples de demandes de type A3 :

Exemple 1 : cas des techniques NPP associé à la lecture automatisée, la flexibilité est envisageable sur le microorganisme dénombré (sous réserve d'être accrédité sur la/les méthode(s) de référence correspondante(s)) car le principe de lecture est fixé par l'appareillage (lecture automatisée)

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganismes</i>	Dénombrement par technique NPP associé à une lecture automatisée « nom commercial de la méthode »

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i>	Dénombrement par technique NPP associé à une lecture automatisée « nom commercial de la méthode »	Méthode certifiée XXX AA/BB- CC/DD

*Commentaire : Le laboratoire est accrédité pour pratiquer les analyses dans le domaine décrit dans la portée en utilisant toute méthode normalisée/certifiée 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.

Exemple 2 : cas des réactions ELFA (*Enzyme Linked Fluorescence Assay*) lecture par système automatisé. La flexibilité est envisageable sur le microorganisme recherché car le principe de lecture est fixé par l'appareillage (sous réserve d'être accrédité sur la/les méthode(s) de référence correspondante(s)). De plus, les méthodes de confirmation doivent être identiques à la méthode de référence ou s'appuyer sur une méthode certifiée pour laquelle le laboratoire est déjà accrédité et autorisée par le fournisseur.

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganismes (ex : Listeria, Salmonella)</i>	Recherche par réaction immuno-enzymatique (ELFA) Système automatisé « nom commercial de la méthode »

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	Double ELFA	Méthode certifiée XXX AA/BB-CC/DD
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Listeria spp.</i>	ELFA	Méthode certifiée XXX AA/-CC/DD1
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Enrichissement simple voie - ELFA	Méthode certifiée XXX AA/BB -C/DD
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Immuno-concentration- ELFA	Méthode certifiée XXX AA/BB-F/GG

Autre exemple

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganismes</i> (ex : <i>Listeria</i> , <i>Salmonella</i>)	Recherche par réaction immuno-enzymatique (ELFA) Système automatisé « nom commercial de la méthode »
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Recherche par réaction d'immuno-concentration (Système automatisé « nom commercial ») et milieux de culture sélectifs « nom commercial de la méthode » Immuno-concentration/boîte

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Enrichissement simple voie - ELFA	Méthode certifiée XXX AA/BB -C/DD
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Enrichissement double voie- ELFA	Méthode certifiée XXX BB/AA-D/CC
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Immuno-concentration- ELFA	Méthode certifiée XXX AA/BB-F/GG
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Listeria</i>	ELFA	Méthode certifiée XXX AA-CC/DD1
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Salmonella</i>	Immuno-concentration/boîte	Méthode certifiée XXX AA/BB-F/GG

Exemple 3 : cas des milieux chromogènes. La flexibilité est éventuellement envisageable pour un microorganisme donné si le principe des milieux est le même (même chromogène) et si le mode d'ensemencement est similaire (ex : étalement et isolement ne sont pas considérés comme similaires). De plus, les méthodes de confirmation doivent être identiques à la méthode de référence ou s'appuyer sur une méthode certifiée pour laquelle le laboratoire est déjà accrédité et autorisée par le fournisseur.

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Recherche par milieu chromogénique (chromogène Z) (étalement)</i>

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique XX (étalement) exemple Agar Listeria selon Ottaviani et Agosti</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-CC/D

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Recherche par milieu chromogénique (chromogène Z) (isolement)</i>

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (isolement)</i> <i>Milieu commercial 1</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-CC/D
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (isolement)</i> <i>Milieu commercial 2</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-C/D
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (isolement)</i> <i>Milieu commercial 3</i>	Méthode certifiée XXX AB/B-CC/D

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Recherche par milieu chromogénique (chromogène Z) (étalement)</i>
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Recherche par milieu chromogénique (chromogène Z) (isolement)</i>

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (étalement)</i> <i>Milieu commercial 1</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-CC/D
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (isolement)</i> <i>Milieu commercial 2</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-C/D
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (isolement)</i> <i>Milieu commercial 3</i>	Méthode certifiée XXX AB/B-CC/D

Un laboratoire dont la compétence a été reconnu en flexibilité A3 pour le cas précité (exemple 3/recherche) peut demander à intégrer le dénombrement dans sa portée.

Portée générale

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Recherche par milieu chromogénique (chromogène Z) (étalement)</i>
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Recherche par milieu chromogénique (chromogène Z) (isolement)</i>
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>Microorganisme X</i> (ex : <i>L. monocytogenes</i>)	<i>Dénombrement par milieu chromogénique (chromogène Z)</i>

Portée détaillée*

OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (étalement)</i> <i>Milieu commercial 1</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-CC/D
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Recherche par milieu chromogénique (isolement)</i> <i>Milieu commercial 2</i>	Méthode certifiée XXX AA/BB-C/D
Produits AA (selon domaine d'application)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Dénombrement par milieu chromogénique</i> <i>Milieu commercial 3</i>	Méthode certifiée XXX AB/B-CC/D

LA VERSION ELECTRONIQUE EST FAUTEUR

7- GUIDE DE LECTURE DES EXIGENCES NORMATIVES ET RECOMMANDATIONS

7.1 Introduction

Les exigences et recommandations qui suivent sont d'ordre général.

La norme NF EN ISO 7218 concernant les « Exigences générales et recommandations » en Microbiologie des aliments est considérée comme le document devant servir à définir les exigences spécifiques au domaine.

Pour rappel, deux typographies ont été reprises dans la norme NF ISO 7218 afin de différencier ce qui relève du guide (« optionnel » en écriture Time New Roman) et ce qui relève de la norme (« obligatoire » en écriture Arial).

En outre, si le terme « il est recommandé » ne doit pas être considéré comme une obligation, le laboratoire doit toutefois répondre à toutes les exigences de la norme NF EN ISO 7218 i.e, si le laboratoire ne suit pas les recommandations de la norme NF EN ISO 7218, il doit démontrer qu'il atteint le même résultat par la méthode qu'il applique.

Note : dans les normes AFNOR, FIL, CEN, ISO, le terme « il convient de » ne signifie pas une obligation mais une recommandation.

7.2 Revue des demandes et de contrat, et services au client

NF EN ISO CEI 17025 chap. 4.4 et 4.7

La norme NF EN ISO/CEI 17025 stipule notamment que le laboratoire doit établir et maintenir des procédures pour la revue de demande et de contrat. Ces dernières doivent, a minima, 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.

En particulier, le laboratoire doit informer son client des restrictions concernant le domaine d'application (ex : type de produits analysés..) et le type de flore dénombré ou détecté (ex : seulement *Salmonella* mobiles).

En cas de recours à des méthodes validées par une tierce partie, le laboratoire informera le client du nom de l'organisme qui a procédé à la validation afin que l'information sur la méthode prise en référence lors de la validation soit disponible.

La revue de contrat prend notamment en compte les conditions de conservation des échantillons et les quantités de produits à fournir. En effet, les échantillons doivent parvenir au laboratoire dans des conditions préservant leurs propriétés intrinsèques et dans les quantités nécessaires aux essais. Les critères d'acceptation des échantillons tels que quantité/masse/volume, température, durée de transport (échantillons de l'environnement) et intégrité (etc.) doivent ainsi être définis et communiqués au client. Les délais de mise en analyse sont à définir avec le client. Ce dernier doit être informé de tout écart.

L'évaluateur s'assurera de l'existence et de l'application d'une procédure décrivant l'attitude à tenir vis-à-vis des échantillons dont les caractéristiques à réception sont différentes des spécifications ou des critères d'acceptation.

Pour les analyses à DLC notamment, le client devrait définir la température (ou les températures) de conservation souhaitée ainsi que la durée (ou les durées) de conservation pour chaque température définie.

Si le laboratoire procède lui-même à la congélation d'échantillons avant analyse, le client doit en être informé et donner son accord, des réserves sur le résultat doivent être émises. (cf. chapitre 7.10.1 de ce guide/manutention).

Cas du pooling/de la recombinaison d'échantillons

Le laboratoire est invité à prendre connaissance de l'article de B. Jarvis (cf. bibliographie) présentant les deux possibilités de regroupement d'échantillons (avantages et inconvénients respectifs). Deux méthodes de recombinaison sont en effet décrites et discutées. Le regroupement de portion de produits

alimentaires (dry compositing) ou prises d'essais est déconseillé car un risque de diminution de limite de détection du micro-organisme est possible par suite d'un effet de dilution ou d'un effet de compétition par la flore annexe. En revanche, le regroupement de volumes déterminés de milieu d'enrichissement après enrichissement (wet compositing) peut être envisagé (sous réserve de validation). Dans tous les cas, le recours à ces pratiques doit être décrit et approuvé par le client.

La pratique de remplacer un plan d'échantillonnage à 2 classes « absence de *L. monocytogenes* dans 5 prises d'essai de 25 g » par « absence dans 25 g correspondant au regroupement de 5 prises d'essai de 5 g » est complètement proscrite sauf tolérance réglementaire en vigueur.

Au jour de la parution de ce guide, pour augmenter la représentativité de l'analyse d'un échantillon constitué d'une unité, la note DGAL/SDSSA/N2010-8245 du 23 août 2010 (*note originelle : N2008-8009 du 14 janvier 2008*) autorise de constituer une prise d'essai de 25g à partir de plusieurs unités d'un même lot. Le résultat doit être rendu pour une seule prise d'essai de 25g.

Exemple : un échantillon de 5 fromages arrive au laboratoire. Sur chaque fromage, l'analyse doit être réalisée sur 25g pour répondre au plan d'échantillonnage réglementaire ($n=5$, $c=0$). 5 résultats d'analyses sont obtenus (un pour chaque fromage).

Si le client demande une seule analyse (plan d'échantillonnage $n=1$, $c=0$), pour en augmenter la représentativité, il est possible de prélever au total 25g dans plusieurs fromages (2 à 5). Un seul résultat d'analyse est obtenu sur cet échantillon composé.

Cas des prélèvements

Les critères tels que : le type de produits à prélever, la quantité, les outils pour prélever (stériles ou non), le moment de prélèvement sur la chaîne de fabrication ou de remise au consommateur, le mode de transport, les critères d'acceptation concernant le délai de réception, la température à réception sont à définir avec le client.

Note : dans le cadre de la coopération avec son client, le laboratoire pourra donc lui donner des recommandations sur la façon de prélever s'il ne prélève pas lui-même.

7.3 Sous-traitance

NF EN ISO CEI 17025 chap. 4.5
Politique LAB REF 02

Cas particulier de la norme NF EN ISO 6579

Dans la norme NF EN ISO 6579, l'orientation sérologique telle que décrite (i.e au moins les sérums mélange) est obligatoire ; Par conséquent, un laboratoire accrédité sur cette norme doit réaliser cette orientation.

Si le laboratoire fait appel à un autre laboratoire pour le sérotypage complet, ceci n'est pas considéré comme de la sous-traitance au titre du chapitre 4. 5 de la norme NF EN ISO/CEI 17025 mais comme une analyse supplémentaire. Dans ce cas précis, le résultat de l'analyse selon la norme NF EN ISO 6579 peut être rendu au client avant retour du sérotypage. En cas de résultats discordants au retour du sérotypage, le laboratoire doit prendre les mesures nécessaires pour en informer son client et amender son rapport d'essai.

Note : Le sérotypage complet et l'envoi des souches pour confirmation à un laboratoire/Centre de référence reconnu par l'Etat ne sont pas considérés comme obligatoires car cela relève de la réglementation.

Le cas particulier du recours à un transporteur dans le cadre des prélèvements est traité au chapitre 7.9 de ce guide.

7.4. Personnel

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.2
Politique LAB REF 02

Le laboratoire doit disposer de personnel ayant des connaissances générales de microbiologie, et des produits analysés notamment de l'influence des processus de fabrication sur les microorganismes.

Il revient au laboratoire de définir sa procédure de recrutement, habilitation et formation du personnel (incluant la vérification du maintien des compétences). Le laboratoire définit des critères objectifs

d'habilitation selon les méthodes de sa portée et argumente ses choix pour apporter la preuve de leur pertinence.

Il n'est pas imposé d'habiliter une personne pour l'ensemble d'une méthode ; l'habilitation peut être délivrée pour une ou certaines étapes d'une méthode.

L'habilitation peut être réalisée par exemple par le biais d'essais en double, de tutorat, par l'utilisation des matériaux de référence, sur des échantillons naturels dilués ou dopés, éventuellement sur la base de formations externes (en fonction de leur contenu).

La pertinence est appréciée en terme de nombre (par exemple, un minimum de 8 à 10 essais) et de représentativité des essais choisis (positifs et négatifs, variations des types de matrice), adaptés 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.

Ce principe est applicable à l'habilitation des préleveurs.

La question de la vérification du maintien des compétences de chaque personnel habilité doit systématiquement se poser et être tracée à une fréquence et selon des critères définis (ex : le maintien d'habilitation ne concerne pas seulement le cas d'une absence prolongée).

7.5 Installations et Conditions ambiantes

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.3

Les conditions d'environnement (température, ensoleillement, variations thermiques, etc.) ne doivent pas être susceptibles de perturber la bonne application des normes d'analyses/d'essais et de modifier l'intégrité intrinsèques de l'échantillon soumis à l'essai.

Note : la norme NF EN ISO 7218 définit 18-27°C comme « température ambiante ».

Les circuits au sein du laboratoire doivent être organisés de façon à minimiser les risques de contamination croisée, et à satisfaire aux exigences des référentiels appropriés. Les fenêtres et les portes doivent être fermées pendant les manipulations.

La norme indique que « des secteurs voisins qui sont le siège d'activités incompatibles doivent être effectivement séparés. Des mesures doivent être prises pour prévenir la contamination ».

Il est fortement recommandé de disposer des salles indépendantes suivantes :

- Salle de réception et de stockage des échantillons,
- Salle de préparation des échantillons et de réalisation des analyses/essais,
- Salle de préparation et de stérilisation des milieux de culture et du matériel,
- Salle de décontamination et de nettoyage des matériels (autoclave -four) et laverie,

Les activités contaminantes, telle que laverie, doivent être séparées des activités propres pour limiter les risques de contamination. Il convient de réaliser de préférence une séparation spatiale et au minimum une séparation temporelle de l'ensemencement et de la préparation des milieux, afin de maîtriser le risque d'inter contamination.

Dans le cas où des analyses autres que la microbiologie alimentaire (santé animale, eaux, etc.) sont réalisées dans le même local, le laboratoire prendra les dispositions nécessaires (telles que la séparation spatio-temporelle, des plans de nettoyage/désinfection, des contrôles d'environnement renforcés etc.) pour éviter toute inter contamination. Les échantillons d'environnement de production primaire, ne doivent pas être traités (manipulés) dans la même zone, au même moment que les autres échantillons.

Outre les exigences pouvant être mentionnées dans les référentiels spécifiques (norme NF EN ISO 7218), il est nécessaire, selon la nature des essais, de réaliser dans la zone de travail, des contrôles appropriés de l'environnement (surface, aérobiocontamination...) à des fréquences prédéfinies. La fréquence et la pertinence de ces contrôles sont à établir en fonction de l'activité et de l'environnement de travail.

L'exploitation des résultats peut justifier une réduction ou une augmentation de la fréquence des contrôles et peut contribuer à établir les critères d'acceptation de réalisation des analyses/essais.

Le laboratoire doit pouvoir fournir la preuve de la maîtrise des risques microbiologiques induits et de l'efficacité des mesures préventives adoptées : par exemple mise en place d'un programme de nettoyage et de contrôle des surfaces, procédure de désinfection à suivre en cas de contamination accidentelle, ...

Note : Certaines exigences ainsi que les niveaux de confinement requis en fonction de la classe des microorganismes manipulés sont décrits dans des textes réglementaires (cf. bibliographie). L'utilisation d'équipements de protection (ex : PSM) lors de la manipulation de cultures contenant potentiellement des micro-organismes pathogènes est fortement recommandée.

Le laboratoire décrira l'ensemble des dispositions de maîtrise des circuits dans son système de management de la qualité et apportera la preuve de l'application de ces dispositions.

7.6 Méthode d'essai

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.4
Politique LAB REF 02
LAB Ref 08

Le laboratoire devrait disposer d'un document décrivant toutes les étapes des méthodes qu'il utilise. Notamment, lorsque la méthode sélectionnée laisse le choix entre plusieurs options (ex : tube ou boîte pour un dénombrement, essais de confirmation pour une méthode de recherche, etc.), le laboratoire doit décrire la pratique ou les pratiques retenues. Les évaluateurs y porteront une attention particulière.

7.6.1 Sélection de méthodes

La norme indique « *Le laboratoire doit utiliser des méthodes d'essai et/ou d'étalonnage, y compris des méthodes d'échantillonnage, qui répondent aux besoins du client et qui conviennent aux essais et/ou étalonnages qu'il effectue, de préférence les méthodes publiées comme normes internationales, régionales ou nationales.* »

Par exemple, l'accréditation selon des normes NMKL, USDA est possible (organismes de normalisation étrangers) au même titre que celle pour des normes AFNOR.

S'il existe une norme générale (ex : NF EN ISO 7218), les dispositions de cette norme s'appliquent lorsqu'elles sont plus récentes que celles des normes spécifiques. (ex : la température des bains d'eau pour la surfusion des milieux est maintenant de 44 à 47 C ; le seuil des petits nombres est maintenant de 10 colonies: révision de la norme NF EN ISO 7218).

Cependant pour des points particuliers et spécifiques, en cas de divergence entre la norme NF EN ISO 7218 et une norme spécifique (ex : NF EN ISO 6888-2), ce sont les indications de la norme spécifique qui doivent être suivies (ex : les seuils à utiliser lors de la lecture des colonies sont ceux de la norme spécifique).

La norme indique « *Le laboratoire doit confirmer qu'il peut correctement appliquer des méthodes normalisées avant de les mettre en œuvre pour des essais ou des étalonnages. En cas de changement de la méthode normalisée, la confirmation doit être répétée.* »

Ceci s'applique à toute mise en place de méthode dans le laboratoire (méthode normalisée ou certifiée/validée) et à chaque révision/évolution de méthode (principe, milieux, étapes de confirmation etc.). Les confirmations et « autorisations » d'emploi doivent faire l'objet d'enregistrement (conformément au document Cofrac LAB REF 08).

Note : une partie spéciale de la norme ISO 16140, actuellement en révision, sera dévolue exclusivement aux exigences pour la « vérification » d'une méthode (vérification de la mise en œuvre.)

Pour les règles particulières d'accréditation, se reporter au chapitre 8 de ce guide.

7.6.2. Validation des méthodes

Pour chaque analyse, il convient de se reporter au domaine d'application défini par la norme.

Il est fortement recommandé de respecter les méthodes normalisées (AFNOR, CEN, ISO...). Cependant, conformément au document Cofrac LAB REF 08 et à la norme NF EN ISO/CEI 17025, les

laboratoires ont la possibilité d'appliquer des méthodes internes. Le recours à des méthodes internes doit être fait en accord avec le client ou avec la réglementation lorsqu'elle est applicable.

Pour toute méthode développée au laboratoire ou pour tout écart à une norme existante (ex : utilisation hors du domaine défini dans celle-ci), la méthode est considérée comme « interne » et doit être validée. Une expertise documentaire 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 en question.

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

Lorsqu'il existe une méthode sur le même micro-organisme, la norme NF EN ISO 16140 permet de constituer ce dossier.

Dans les autres cas, le dossier devrait *a minima* contenir les données :

- de fidélité : reproductibilité intralaboratoire, répétabilité, et incertitudes de mesure pour les méthodes de dénombrement,
- de spécificité, détection de souches cibles et non détection de souches non cibles pour les méthodes de recherche.

Dans le cas des méthodes de biologie moléculaire, notamment des méthodes PCR, les normes NF EN ISO 20837, NF EN ISO 20838, NF EN ISO 22174, XP CEN ISO/TS 20836, et PR NF EN ISO 22119 sont applicables. De plus, il est recommandé au laboratoire de s'appuyer sur la norme PR NF EN ISO 22118 qui décrit les critères de performance à évaluer lors de la validation d'une méthode nouvelle développée au laboratoire.

Dans le cas où il existe une méthode de microbiologie traditionnelle (pasteurienne) pour la mise en évidence d'un ou de micro-organismes cibles, la validation doit être réalisée selon la norme NF EN ISO 16140 en comparaison à cette méthode traditionnelle.

Note : d'autres normes de validation de méthode sont toutefois disponibles (ex : NF V03-110 et NF V03-111).

7.6.3 Incertitudes de mesure

En terme d'incertitude sur les résultats d'analyse, la norme NF EN ISO 7218 fait uniquement référence à la norme ISO/TS 19036 (concerne seulement les méthodes de dénombrement). Toutefois, d'autres démarches sont envisageables et peuvent être acceptées si elles sont bien développées et cohérentes.

Conformément au document Cofrac LAB REF 02, l'identification des facteurs critiques est demandée, que ce soit pour les méthodes qualitatives ou quantitatives. L'ISO/TS 19036 décrit trois méthodes d'évaluation des incertitudes sur les résultats des analyses de dénombrement. Les laboratoires sont fortement incités à utiliser l'approche expérimentale (reproductibilité intralaboratoire) pour chaque type de produit qu'il analyse et *a minima* pour les 4 groupes de matrices définis dans la norme ISO/TS 19036 (liquides et poudres, mélange de solides (produits mixés), petits solides et autres solides) pour un laboratoire multi-produits.

Il est également précisé que la norme ISO/TS 19036 peut être appliquée pour les méthodes de dénombrement en NPP.

7.6.4 Note concernant la pratique de certaines méthodes d'essai

7.6.4.1. Cas des dilutions successives

Le laboratoire doit appliquer les normes et le paragraphe 10.2.2 de la norme NF EN ISO 7218 qui précise qu'il faut ensemencer au moins 2 dilutions successives ou alors 2 boîtes dans le cas où il n'ensemence qu'une dilution, sauf si la réglementation a d'autres exigences. Toutefois, dans certains cas particuliers, la situation décrite (une seule boîte à une seule dilution) peut éventuellement être acceptée si, et seulement si, le laboratoire a réalisé et peut présenter une étude complète pour les matrices concernées et prouver l'absence d'impact sur les analyses. De plus, ceci doit être clair au niveau de la revue de contrat et du rapport d'essais (résultat indicatif au vu de l'incertitude liée à ce résultat).

D'autre part, le laboratoire définira ses critères d'acceptation sur les résultats de dénombrement de deux dilutions successives.

7.6.4.2. Cas des jours chômés (en l'absence de permanence au laboratoire)

A titre d'exemple, pour des boîtes dont l'incubation se termine lors de jours chômés et le dimanche, il est possible pour le laboratoire d'envisager les situations suivantes :

- soit passer les boîtes au réfrigérateur à l'issue de l'incubation habituelle (mais pour une durée maximale de 48h). Toutefois il est pertinent de s'assurer que cela n'a pas d'incidence sur les résultats lors de la lecture (exemple : croissance ou activités enzymatiques des psychrotrophes),
- soit utiliser des étuves programmables, dont la température descend automatiquement aux températures de réfrigération à l'issue de l'incubation habituelle, et reporter la lecture (même remarque que ci-dessus).

7.6.4.3. Cas des produits acides et acidifiants (recherche des salmonelles)

Dans l'application en particulier de la norme NF EN ISO 6579, les divers essais réalisés (dans le cadre des travaux de la commission AFNOR V08B) n'ont pas permis de déterminer une méthode susceptible de contrer l'acidification sans danger pour la survie des salmonelles.

Il est, par conséquent, actuellement toléré de ne pas appliquer de dispositions spécifiques pour les produits acides et acidifiants.

7.6.4.4. Cas des produits gras (ajout de tween 80) recherche des salmonelles

Dans le cas des produits gras, la quantité de Tween 80 à ajouter lors du pré-enrichissement peut être, systématiquement, la quantité maximale citée dans la norme (mais sans jamais la dépasser).

7.7 Equipement

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.5

Tout matériel et équipement détenu en vue d'effectuer les analyses /essais doit être entretenu selon les exigences définies dans la norme NF EN ISO 7218.

Lorsque du matériel informatique est utilisé à l'intérieur des locaux d'essais, le laboratoire doit apporter la preuve qu'il maîtrise les risques de contamination induits (protection des claviers, des courants d'air dus aux ventilateurs etc.). Les logiciels ou LIMS doivent être validés avant emploi et en cas de modifications affectant la fiabilité des résultats.

7.7.1 Bains d'eau

Deux principaux types d'utilisation requièrent un bain d'eau : maintien des milieux en surfusion (44-47°C), et préparation des milieux de culture (47-50 °C). Le laboratoire peut éventuellement posséder un seul bain d'eau pour ces deux types d'utilisation à condition qu'elles soient bien séparées dans le temps et que la localisation du bain d'eau le permette.

7.7.2 Autoclave

Un autoclave utilisé pour la stérilisation du matériel, des réactifs et des milieux ne devrait pas être utilisé pour la destruction de cultures et de microorganismes contaminant le matériel. Des dispositions appropriées de circulation, de transport et de stockage du matériel et autres produits à stériliser doivent être définies afin d'assurer la validité globale du processus de stérilisation.

7.8 Traçabilité du mesurage (métrologie)

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.6

Politique LAB REF 02

Les laboratoires se conformeront à la politique du Cofrac édictée dans le document LAB REF 02. Le laboratoire établit une liste des équipements dits « critiques » nécessaires à l'exécution des analyses de la portée d'accréditation (annexe technique).

Tout matériel et équipement détenu en vue d'effectuer les analyses doit être vérifié selon les exigences définies dans la norme NF ISO 7218 en conditions usuelles d'utilisation.

Il est à noter qu'un diluteur qui inclut une pesée est à considérer comme une balance et donc vérifiée comme telle.

7.8.1 Enceintes thermostatées (étuves, réfrigérateurs, bains d'eau, etc.)

Pour toute enceinte thermostatée ayant un impact critique sur les essais (ex : bain d'eau servant à l'incubation), le contrôle effectif de la température est nécessaire, soit par enregistrement en continu (fortement recommandé) soit par thermomètre mini-maxi.

Dans tous les cas le laboratoire doit gérer les dépassements de température, et prendre les dispositions nécessaires pour garantir la validité des résultats fournis au client. Faute de preuve de la maîtrise de la température et de la durée de dépassement, les résultats doivent être invalidés.

Une cartographie doit être réalisée préalablement à la mise en service et en cas d'intervention importante (par exemple : déplacement, réparation). Il est recommandé d'effectuer cette cartographie en condition réelle (à mi-charge ou charge pleine). Le laboratoire devra par ailleurs se fixer une fréquence pertinente de cartographie pour assurer son suivi dans le temps. Ces dispositions s'appliquent également pour les bains d'eau utilisés comme incubateur.

Le laboratoire pourra, par exemple, suivre le FD V 08-601 ou la norme NF X 15-140 pour effectuer leur cartographie. Il est obligatoire de matérialiser les zones acceptables.

Pour les incubateurs programmables, il est important qu'une cartographie soit réalisée aux différentes températures utilisées (ex : 37°C et 4°C). Le laboratoire pourra suivre le FD V 08-601.

Il est recommandé de réaliser (a minima), lors de la première mise en service, une cartographie pour les congélateurs et réfrigérateurs (stockage de réactifs, kits) et en particulier pour les réfrigérateurs utilisés pour la conservation d'échantillons pour analyses à DLC et dans le cadre d'une étude de vieillissement.

7.8.2 Utilisation d'une centrale de mesure

Le laboratoire doit procéder à l'étalonnage des sondes filles/de contrôle à une fréquence qu'il doit définir ; Il doit prendre en compte au minimum, l'incertitude de mesure de température dans la définition de ses EMT et fixer des temporisations cohérentes au regard des conditions opératoires et d'utilisation de l'équipement.

De plus, le laboratoire doit définir la gestion des alarmes (ex : conduite à tenir en fonction de l'étendue et de la durée du dépassement, étude d'impact, etc.) comme décrit en paragraphe 7.8.1.

7.8.3 pH mètre

Le recours à des solutions étalons raccordées au SI dépend de l'utilisation du pHmètre :

- il n'est pas obligatoire lorsque la mesure du pH n'intervient pas directement dans le résultat d'analyse /d'essai (ex : fabrication des milieux de culture)
- il est obligatoire lorsqu'il intervient directement dans le résultat d'analyse/d'essai (ex : stabilité des conserves).

7.8.4 Autoclave

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

7.8.5 Spectrophotomètre

Le raccordement du spectrophotomètre est obligatoire (cf. politique LAB REF 02) lorsqu'il est utilisé pour produire un résultat dont la qualité est directement liée à celle de la lecture spectrophotométrique. L'utilisation de matériel raccordé tel que les barrettes DRY-DYE (raccordées NIST), par exemple, est tolérée, sous réserve que le laboratoire étudie la linéarité (échantillon autour du seuil) et l'effet canal (répétabilité à apprécier).

7.8.6 Thermocycleur

Le raccordement au S.I. de la température des thermocycleurs est nécessaire. Toutefois les systèmes de raccordement actuellement disponibles ne sont pas adaptés à tous les types de thermocycleurs. Dans ces cas, l'absence de raccordement au SI (à justifier) est tolérée (dans le cas d'emploi d'automate complet fermé, un certificat fournisseur (usine) peut être apporté, si disponible).

Il appartient au laboratoire d'établir et d'appliquer régulièrement une procédure de contrôle de ce type d'appareils (homogénéité de la plaque, en particulier en présence d'échantillons témoins, etc.). Afin de vérifier l'homogénéité des résultats, il est fortement recommandé d'effectuer des tests sur la totalité des positions utilisées, à une fréquence appropriée et *a minima* après une intervention sur l'appareillage.

Le laboratoire pourra se référer aux normes XP CEN ISO/TS 20836, XP V 03-043 et NF T90-471.

7.9 Prélèvement et échantillonnage et transport

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.7

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.8

Politique LAB Ref 02

Lorsque le laboratoire réalise lui-même les prélèvements, il peut demander à être évalué et accrédité pour cette activité. Le domaine d'application doit être convenablement défini.

Lorsque le laboratoire n'est pas accrédité pour cette activité ou lorsque le prélèvement n'a pas été effectué par le laboratoire, ce dernier doit définir des conditions de prélèvement afin de garantir l'intégrité de l'échantillon : les règles de prélèvement et de transport doivent être communiquées au client. Le laboratoire doit décrire l'ensemble des dispositions relatives au prélèvement et créer les documents d'enregistrement adéquats dans son système de management de la qualité (domaine d'application, technique d'échantillonnage, transport, habilitation du personnel, matériel et consommables etc.).

Lorsque le rapport sur les résultats ne couvre pas les prestations de prélèvements, il ne doit subsister aucune ambiguïté pour le client sur ce qui est effectivement couvert par l'accréditation. En outre, les rapports sur les résultats doivent comporter toute réserve, quant aux conditions de l'échantillon à réception au laboratoire, susceptible d'influencer l'interprétation des résultats.

Des plannings de prélèvement sont à créer en accord avec les délais de réalisation des analyses/essais et dans la mesure du possible en concertation avec le personnel de laboratoire, de telle sorte que l'ensemencement des échantillons puisse être effectué le plus rapidement possible.

Le transport des échantillons vers le laboratoire doit être réalisé dans des conditions évitant toute modification du nombre de microorganismes. D'une façon générale, le laboratoire doit éviter la remontée en température entre le prélèvement et l'analyse. Les produits congelés ou surgelés doivent être transportés, de préférence à une température négative, de façon à ce que le produit arrive congelé au laboratoire.

Si un échantillon congelé arrive décongelé au laboratoire, la recongélation n'est pas possible et l'analyse est réalisée immédiatement.

Cas particulier du recours à un transporteur

Le laboratoire doit, dans ce cas, pouvoir démontrer qu'il vérifie que les exigences (suivi de la température avec son propre équipement, durée, emballage etc.) liées au transport sont bien respectées et conformes aux textes réglementaires, normatifs ou spécifications client.

Pour les règles d'évaluation, se reporter au chapitre 8 de ce guide.

7.10 Manutention des objets d'essai

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.8

7.10.1 Réception de l'échantillon

La température de l'échantillon pour laboratoire (produit périssable ou réfrigéré) ou de l'enceinte de transport doit être mesurée et enregistrée à réception au laboratoire. Elle est une indication nécessaire

pour l'exploitation des résultats de l'analyse. Des réserves doivent, si nécessaire, être formulées sur le rapport d'essai.

Les critères d'acceptation ou refus d'échantillon à réception doivent être décrits dans le système documentaire de management de la qualité.

Dans le cas où le laboratoire réalise la congélation des échantillons pour laboratoire avant analyse, il est recommandé de congeler à - 24°C. L'information client est réalisée par mention de la phase de congélation sur le rapport d'essai et l'impact éventuel est noté par exemple, par une phrase type telle que « la congélation peut entraîner une modification de la flore ».

Si la congélation est réalisée à une température de -24°C, la validation n'est pas nécessaire (NF ISO 7218 : 1996). Si la congélation est réalisée à une température supérieure à -24°C, il est nécessaire de vérifier qu'il n'y a pas d'impact sur les résultats d'analyse. La validation doit être réalisée sur l'ensemble des matrices susceptibles d'être analysées par le laboratoire et au moins sur une catégorie de produits acides et une catégorie de produits non acides (environ pH >6).

7.10.2 Préparation des suspensions mères et des dilutions

Les masses des prises d'essais doivent être tracées.

Pour le respect des 45 min, l'organisation générale du laboratoire est à prendre en compte et peut suffire si elle est correctement décrite.

Prise d'essai :

La norme NF EN ISO 7218 recommande une Erreur Maximale Tolérée (EMT) de 1% pour la balance lors de la pesée des échantillons.

La série de normes ISO 6887 décrit actuellement la pesée de la prise d'essai avec une incertitude de mesure de 5%.

Attention : pour pouvoir rendre un résultat d'analyse « absence ou présence du micro-organisme X dans 25g », il est nécessaire de peser au moins 25g (une prise d'essai de 23,75g ne répond pas à l'exigence « absence dans 25g »). Pour un dénombrement, il est nécessaire de respecter le facteur de dilution ; ce n'est pas le cas, par exemple, pour une dilution au dixième avec une prise d'essai de 23,75g (25g-5%) et une masse finale de la suspension mère de 262,5g (250g +5%).

7.11 Assurer la qualité des résultats d'essai

NF EN ISO CEI 17025 chap. 4.6

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.9

Politique LAB REF 02

7.11.1 Consommables

7.11.1.1 Verrerie et consommables stériles

Les verreries et consommables stériles devraient être facilement identifiables et des tests périodiques de stérilité entrepris.

7.11.1.2 Milieux de culture

Préparation des milieux

La partie de la norme ISO 11133 est applicable (à ce jour cf. norme XP CEN ISO/TS 11133-1) pour la préparation de milieux de culture au laboratoire.

Il est possible d'utiliser des appareils automatiques pour la préparation et la répartition des milieux de culture, ainsi que des procédures de stérilisation par filtration.

Il est rappelé qu'à chaque autoclavage, le couple temps/température à réaliser est de 121°C-15 min (ou autre, si précisé dans une norme spécifique). Si le laboratoire ne respecte pas ce barème, des contrôles de performance doivent être réalisés et le laboratoire doit être en mesure de fournir une preuve des résultats. Pour la stérilisation de volume de milieux de culture supérieur ou égal à 1l, le barème de stérilisation doit être adapté et vérifié.

Il est aussi rappelé que des volumes inférieurs et supérieurs à 1l ne doivent pas être stérilisés dans la même charge.

Contrôle de performance des milieux de culture

La traçabilité de la date d'ouverture, de préparation voire de péremption des milieux et réactifs doit être assurée. Il est exceptionnellement possible de dépasser la date de péremption d'un milieu. Le laboratoire doit alors apporter la preuve que le milieu a gardé toutes ses propriétés.

Contrôle de fertilité des milieux de culture.

Il y a lieu de distinguer 3 catégories de milieux de culture :

- les milieux achetés prêts à l'emploi
- les milieux achetés sous forme déshydratée et reconstitués au laboratoire (cette reconstitution incluant par exemple les étapes de pesée, solubilisation, ajustement du pH, autoclavage, ajout éventuel d'agents sélectifs)
- les milieux fabriqués au laboratoire à partir des ingrédients de base.

Le laboratoire doit avoir décrit une procédure de contrôle de performance des milieux de culture (selon le milieu : fertilité, stérilité, sélectivité) et doit avoir un registre des contrôles effectués.

Les flacons de milieux gélosés ne peuvent être refondus ni être maintenus en surfusion trop longtemps (sauf spécifications contraires du fabricant).

Cas des milieux de culture préparés par le laboratoire

Les milieux de culture seront contrôlés à chaque nouveau lot de poudre avec une fréquence *minimum d'une fois par trimestre* recommandée. En cas de résultats non satisfaisants, le laboratoire mettra en œuvre les actions correctives nécessaires. Lors de la fabrication à partir des différents ingrédients (formule), les contrôles sont réalisés à chaque lot fabriqué.

Cas des milieux de culture achetés prêts à l'emploi

Pour les milieux prêts à l'emploi, ces derniers seront contrôlés en fonction de l'activité, *au moins une fois par an* et à chaque changement de fournisseur (selon l'ISO 11133-2). De plus, le laboratoire détient le certificat de contrôle de lot établi par le fabricant et vérifie les points contrôlés par le fournisseur afin d'assurer l'adéquation à ses besoins (ex : pH, type de souches, etc.). A défaut, le lot doit être contrôlé par ses soins de la même façon qu'un milieu préparé au laboratoire.

7.11.2 Contrôles qualité interne

7.11.2.1. Essais à blanc

Il est recommandé que le laboratoire réalise régulièrement des « analyses à blanc » (exemple : analyse d'un milieu de dilution pour mimer une suspension mère).

7.11.2.2. Contrôles qualitatifs et quantitatifs

La réalisation des contrôles positifs et négatifs est recommandée (cf. norme NF EN ISO 7218 :2007 §15). Ces contrôles devraient être formalisés et réalisés à une fréquence définie, et les résultats obtenus à exploiter.

Les procédures de confirmation de colonies ou cultures suspectes peuvent être périodiquement contrôlées avec des souches caractéristiques et faux positifs.

Ces contrôles ne se substituent pas au contrôle de milieu de culture et sont distincts des CILS.

7.11.3 Campagne d'entraînement

Pour les méthodes peu pratiquées, le laboratoire doit apporter la preuve du maintien de sa compétence, des campagnes d'entraînement peuvent être mises en œuvre. Ces dernières doivent avoir une périodicité minimale annuelle pour chaque personne impliquée dans la réalisation de

l'analyse/d'essai. Les comparaisons inter laboratoires (CIL) ne peuvent se substituer à ces campagnes d'entraînement si les échantillons analysés dans le cadre de ces CIL sont négatifs ou si le résultat est non satisfaisant.

7.11.4 Comparaisons inter laboratoires

Conformément à la politique ad hoc présentée dans le document LAB REF 02, sauf exigences réglementaires particulières, les laboratoires accrédités doivent, lorsqu'elles existent et sont appropriées, participer aux comparaisons interlaboratoires pour démontrer leur compétence et assurer la qualité de leurs résultats. Ceci s'applique aussi aux laboratoires en démarche d'accréditation et pour les demandes d'extensions.

En microbiologie des aliments, la participation au moins deux fois par an pour chaque méthode est retenue.

Dans le cas où l'OCIL ne réalise pas l'exploitation de résultats obtenus par plusieurs méthodes pour le même microorganisme, il appartient au laboratoire d'exploiter les résultats en interne en s'appuyant sur le rapport fourni par l'OCIL.

S'il arrive que l'OCIL fournisse des échantillons non contaminés, le laboratoire doit s'assurer qu'au moins une des deux participations annuelles est bien réalisée sur des échantillons positifs. Dans le cas contraire, un essai sur des échantillons dopés ou une autre CIL doit être réalisé.

Lorsque aucun programme de comparaison n'existe, il appartient au laboratoire, pour assurer la cohérence de ses résultats, de recourir à l'utilisation régulière de matériaux de référence ou de corrélés ses résultats avec ceux d'autres laboratoires ou d'utiliser des échantillons contaminés artificiellement.

7.12 Rapport sur les résultats

NF EN ISO CEI 17025 chap. 5.10
Politique LAB REF 02

7.12.1 Rapport d'essais

La norme NF EN ISO/CEI 17025 (5.10.2 g) indique « la date de réception de chaque objet soumis à l'essai lorsque cela est essentiel pour la validité et l'application des résultats et la date d'exécution de chaque essai ».

Le laboratoire devra, *a minima*, préciser la date de réception et la date de mise en analyse de l'échantillon. La température à réception ne doit pas obligatoirement figurer sur les rapports d'essai.

Si une détermination est différée ou refaite, le client doit en être informé, le rapport doit le préciser si cela peut affecter l'interprétation du résultat par l'utilisateur du rapport. La traçabilité complète de ces opérations doit être disponible au laboratoire.

Dans le cas des prélèvements, il est impossible d'émettre sous accréditation:

- un rapport ne mentionnant que le prélèvement,
- un rapport dans lequel seul le prélèvement serait accrédité (le prélèvement doit être suivi d'une analyse rendue sous accréditation pour faire référence à l'accréditation).

Le rapport fait référence au mode opératoire du laboratoire cité dans la portée d'accréditation et aux modalités de prélèvements (qui, quand, où, etc.).

7.12.2 Expression des résultats

7.12.2.1. Limite de quantification des méthodes de dénombrement

La version de 2007 de la norme NF EN ISO 7218 introduit une limite de quantification pour les méthodes de dénombrement (§10.3.2.4.1). En effet, lorsque le nombre de colonies est inférieur à 4, le résultat doit être exprimé comme suit : « microorganismes présents mais inférieur à $4 \times 1/d$ ufc/g ou ufc/ml ». En fonction du critère à vérifier, la conformité ou non conformité pourrait ne pas pouvoir être déclarée. Dans ce cas, le laboratoire pourrait introduire en commentaire, par exemple, le nombre de colonies comptées (entre 1 et 3) pour permettre malgré tout de déclarer la conformité, toutefois des réserves devront y être associées.

7.12.2.2. Cas des unités de surface

Le résultat doit être rendu par unité de surface, ou par surface prélevée dans le cas où la taille de la surface n'est pas disponible (ex : prélèvement réalisé par le client) ou pertinente (ex : prélèvement réalisé sur un matériel spécifié) pour le prélèvement réalisé.

Pour le calcul, les valeurs doivent être exprimées en fonction de la surface échantillonnée.

Exemple : pour un prélèvement sur une surface de 25 cm² réalisé à l'aide d'une chiffonnette et introduit dans 250 ml de diluant. L'expression du résultat peut être : X germes par cm² ou Y germes dans 25 cm².

7.12.3 Déclarations de conformité, Avis et interprétations

Les déclarations de conformité portant sur des analyses/essais tous réalisés sous couvert de l'accréditation font partie intégrante du rapport et sont couvertes par l'accréditation. Ceci s'applique pour les avis et interprétations (LAB REF 02).

L'origine des critères (textes réglementaires, cahier des charges etc.) sur lesquels s'appuie le laboratoire doit être clairement mentionné dans le rapport et conforme à la revue de contrat ou de demande.

Le laboratoire précisera en outre s'il a tenu compte ou non de ses incertitudes de mesure pour établir sa déclaration de conformité, conformément à la politique *ad hoc* présentée dans le document LAB REF 02.

Rappel : une déclaration de conformité ne peut pas être étendue au lot si le laboratoire n'est pas accrédité pour l'échantillonnage et le prélèvement.

8- REGLES PARTICULIERES D'ACCREDITATION ET D'EVALUATION

8.1. REGLES D'ACCREDITATION

Les laboratoires candidats à l'accréditation présentent leur demande en renseignant un tableau descriptif de la portée souhaitée à partir de la nomenclature des essais présentée dans le document Cofrac LAB Inf 59 (nomenclature non exhaustive) et au paragraphe 6 et conformément au document Cofrac LAB REF 08.

Le laboratoire désirant une accréditation sur tout autre essai et relevant de ces domaines prendra contact avec le Cofrac. En effet, des méthodes non présentées dans cette nomenclature, mais pour lesquelles le type de produit, les principes techniques et les compétences mises en œuvre peuvent être considérés comme de même nature, pourront faire l'objet d'une accréditation.

8.1.1 Cas particulier méthode spirale

Pour rappel, la méthode spirale peut être utilisée avec les normes qui prévoient son utilisation. De plus, en application de la norme NF EN ISO 7218, la méthode spirale peut être appliquée pour des méthodes avec ensemencement en surface.

Si un laboratoire souhaite toutefois appliquer cette méthode pour un milieu de culture normalement ensemencé dans la masse, un dossier de validation selon la norme NF EN ISO 16140 doit être fourni et examiné (cf. paragraphe 7.6.2 validation de méthode de ce guide).

8.1.2 Cas des méthodes « alternatives » (validées par tierce partie)

Lorsqu'un laboratoire souhaite être accrédité sur des méthodes certifiées sous marque AFNOR validation ou tout autre organisme équivalent (par ex : NordVal, Microval, validation AOAC...), le laboratoire doit demander conjointement l'accréditation pour une méthode normalisée correspondant au même type de recherche ou de dénombrement. De plus, si le protocole fournisseur prévoit la confirmation par une autre méthode certifiée, le laboratoire doit être accrédité pour cette dernière (s'il l'utilise cette option). En cas de résultats discordants entre la méthode validée et sa confirmation, le laboratoire doit avoir des dispositions lui permettant d'émettre le résultat.

Pour des demandes spécifiques sur des méthodes validées par un organisme autre qu'AFNOR certification (méthode alternative) un passage en CTA ainsi qu'une expertise préalable peuvent être nécessaires (ex : demande d'information sur la méthode de référence utilisée lors de la validation...). Dans ce cas, l'annexe technique d'accréditation précisera par quel organisme de certification/validation la validation a été prononcée.

Lorsqu'une méthode alternative complète a été validée avec des produits consommables bien identifiés (ex nom du fabricant du milieu), le laboratoire ne peut utiliser un milieu d'un autre fabricant. En revanche, le laboratoire peut choisir son milieu si, et seulement si, la notice cite un fournisseur à titre d'exemple et permet donc un changement.

8.1.3. Cas particulier : méthodes normalisées « dénombrement d'un microorganisme par NPP et recherche » (ex : NF EN ISO 6888-3, NF ISO 21528-1):

Lorsqu'un laboratoire souhaite être accrédité sur ces normes alors qu'il ne réalise que la partie recherche, il doit en informer le Cofrac afin que cette précision soit apportée dans la portée d'accréditation. L'ajout ultérieur du dénombrement NPP dans la portée fera l'objet d'une évaluation préalable sur site.

8.2. Règles d'évaluation

L'évaluation sur site de la partie prélèvements est fixée *a minima* à une demi-journée supplémentaire (la durée est adaptée en fonction de l'organisation du laboratoire et des sites concernés). Lors de l'évaluation, l'évaluateur observe un prélèvement sur le terrain ou éventuellement, dans le cas d'une visite de surveillance, peut demander une simulation au laboratoire ou dans un lieu proche.

L'évaluation du prélèvement s'attachera en particulier sur les points suivants:

Revue de contrat (cf. paragraphe 7.2 de ce guide)	Conditions de transport des échantillons en termes de température, délais etc. Critères d'acceptation des échantillons par le laboratoire
Personnel (cf. paragraphe 7.4 de ce guide)	Les préleveurs doivent : <ul style="list-style-type: none"> - faire partie du laboratoire (ils doivent être sous contrat/NF EN ISO/CEI 17025), - connaître leur sphère de responsabilités, - connaître le système qualité et les procédures qui les concernent, - être habilités par le « responsable technique » (réalisation de prélèvements sous la surveillance d'un préleveur habilité, réalisation de prélèvements seul par exemple), - connaître les règles d'asepsie, l'influence de la température sur la conservation des produits, les risques de contamination, etc.
Transport (cf. paragraphe 7.9 de ce guide)	Conditions de transport Cas particulier du recours à un transporteur
Réception (cf. paragraphes 7.9 et 7.10 de ce guide)	Conditions de stockage avant analyse Délais de mise en analyse
Matériel/consommables	Tout le matériel spécifique à la matrice ou échantillons prélevés. Par exemple : conditionnements stériles, pinces, scalpels, cuillères, ciseaux (stériles si nécessaire), plaques réfrigérantes, thermomètres étalonnés et vérifiés, glacières ou camion réfrigérant, désinfectant, gants.
Rapport (cf. paragraphe 7.12.1)	Modalité d'expression de la référence à l'accréditation du prélèvement.

BIBLIOGRAPHIE

NF EN ISO 9000 : Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire.

Article : "On the compositing of samples for qualitative microbiological testing"- B. Jarvis- Letters in Applied Microbiology – volume 45 issue 6 (2007) + erratum 2008,46(1).

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 X15-140 : Mesure de l'humidité de l'air - Enceintes climatiques et thermostatiques - Caractérisation et vérification.

Normes techniques liées au domaine microbiologie :

NF EN ISO 6887-2 : Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2 : règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande.

NF EN ISO 6887-3 : Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 3 : règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche.

NF EN ISO 6887-4 : Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 4 : règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.

NF EN ISO 6887-5 : Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 5 : règles spécifiques pour la préparation des produits laitiers.

XP CEN ISO/TS 11133-2 : Microbiologie des aliments - Guide pour la préparation et la production des milieux de culture - Partie 2 : guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 6579 : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6579 Annexe D : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. - Amendement 1 : annexe D : recherche de *Salmonella* spp. dans les matières fécales des animaux et dans des échantillons environnementaux au stade de la production primaire.

ISO/TS 19036 : Microbiologie des aliments - Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives.

ISO/TS 19036/A1 : Microbiologie des aliments - Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives - Incertitude de mesure sur les faibles taux.

FDV 08-601 : Microbiologie des aliments - Enceintes thermostatiques - Caractérisation, vérification et suivi quotidien.

NF EN ISO 20837 : Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments - Exigences relatives à la préparation des échantillons pour la détection qualitative.

NF EN ISO 20838 : Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments - Exigences relatives à l'amplification et à la détection pour les méthodes qualitatives.

XP CEN ISO/TS 20836 : Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments - Essais de performance pour des thermocycleurs.

PR NF EN ISO 22119 : Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments - Exigences générales et définitions.

PR NF EN ISO 22118 : Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments - Caractéristiques de performance des méthodes de détection moléculaires.

Normes de validation :

NF EN ISO 16140 : Microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives.

NF V03-110 : Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude.

XP V03-111 : Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole d'évaluation intra-laboratoire d'une méthode alternative d'analyse qualitative par rapport à une méthode de référence.

XP V 03-043 : Exigences générales pour la réalisation d'analyses utilisant la biologie moléculaire pour la détection et l'identification d'organismes pathogènes, d'altération et ravageurs des végétaux et produits dérivés.

NF T 90-471 : Qualité de l'eau - Détection et quantification des *Legionella* et/ou *Legionella pneumophila* par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (RT - PCR).

Normes prélèvements :

NF ISO 18593 : Microbiologie des aliments - Méthodes horizontales pour les techniques de prélèvement sur des surfaces, au moyen de boîtes de contact et d'écouvillons.

NF ISO 17604 : Microbiologie des aliments - Prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique.

NF ISO 17604/A1 : Microbiologie des aliments - Prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique - Amendement 1 : échantillonnage des carcasses de volaille.

NF EN ISO 707 : Lait et produits laitiers. — Lignes directrices pour l'échantillonnage.

Textes réglementaires

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.

Règlement (CE) n2073/2005 du 15 novembre 2005 de la Commission concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

Règlement (CE) no 1441/2007 du 5 décembre 2007 modifiant le règlement (CE) no 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.