

Deuxième édition
2006-04-01

Version corrigée
2006-06-01

**Stérilisation des dispositifs médicaux —
Méthodes microbiologiques —**

**Partie 1:
Détermination d'une population de
micro-organismes sur des produits**

iTeh STANDARD PREVIEW

*Sterilization of medical devices — Microbiological methods —
Part 1: Determination of a population of microorganisms on products*

ISO 11737-1:2006

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-0ca139d337b0/iso-11737-1-2006>



Numéro de référence
ISO 11737-1:2006(F)

© ISO 2006

PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11737-1:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-0ca139d337b0/iso-11737-1-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-0ca139d337b0/iso-11737-1-2006>

© ISO 2006

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Éléments du système de management de la qualité	4
4.1 Documentation	4
4.2 Responsabilité de la direction	4
4.3 Réalisation du produit	5
4.4 Mesurages, analyse et amélioration — Maîtrise du produit non conforme	5
5 Sélection des unités de produit	5
5.1 Généralités	5
5.2 Portion d'article d'échantillon (SIP)	5
6 Méthodes de détermination et de caractérisation de la charge biologique	6
6.1 Détermination de la charge biologique	6
6.2 Caractérisation microbienne de la charge biologique	7
7 Validation de la méthode de détermination de la charge biologique	7
8 Détermination de routine de la charge biologique et interprétation des données	8
9 Entretien de la méthode de détermination de la charge biologique	8
9.1 Modifications du produit et/ou du procédé de fabrication	8
9.2 Modifications de la méthode de détermination de la charge biologique	8
9.3 Revalidation de la méthode de détermination de la charge biologique	8
Annexe A (informative) Directives concernant la détermination d'une population de micro-organismes sur un produit	9
Annexe B (informative) Directives concernant les méthodes de détermination de la charge biologique	23
Annexe C (informative) Validation des méthodes de détermination de la charge biologique	33
Bibliographie	37

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 11737-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 198, *Stérilisation des produits de santé*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 11737-1:1995), qui a fait l'objet d'une révision technique et l'ISO 11737-3:2004 dont le contenu a été incorporé.

L'ISO 11737 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Stérilisation des dispositifs médicaux — Méthodes microbiologiques*:

- *Partie 1: Détermination d'une population de micro-organismes sur des produits*
- *Partie 2: Essais de stérilité pratiqués en cours de validation d'un procédé de stérilisation*

La présente version corrigée de l'ISO 11737-1:2006 inclut la correction suivante:

- Dans l'Avant-propos, alinéa 6, l'ISO 11137-3:2004 a été remplacée par l'ISO 11737-3:2004.

Introduction

Un dispositif médical est stérile lorsqu'il est exempt de tout micro-organisme viable. Il est exigé dans les Normes internationales qui spécifient les exigences relatives à la validation et au contrôle de routine des procédés de stérilisation, lorsqu'il est nécessaire de fournir un dispositif médical stérile, que la contamination bactériologique adventive d'un dispositif médical avant stérilisation soit minimisée. Malgré tout, les produits médicaux fabriqués dans des conditions de fabrication normalisées conformément aux exigences des systèmes de management de la qualité (par exemple l'ISO 13485) peuvent, avant stérilisation, être porteurs de micro-organismes, même en nombre restreint. Ces produits ne sont pas stériles. Le but de la stérilisation consiste à inactiver les contaminants microbiologiques, et ce faisant, à transformer des produits non stériles en produits stériles.

L'une des meilleures manières de représenter la cinétique de l'inactivation d'une culture pure de micro-organismes par des agents physiques et/ou chimiques utilisés pour stériliser les dispositifs médicaux peut souvent être une relation exponentielle entre les nombres de micro-organismes survivants et l'ampleur du traitement par l'agent stérilisant; cela signifie inévitablement qu'il existe toujours une probabilité finie qu'un micro-organisme survive, quelle que soit l'étendue du traitement appliqué. Pour un traitement donné, la probabilité de survie est fonction du nombre et de la résistance des micro-organismes ainsi que de l'environnement dans lequel ceux-ci se trouvent au cours du traitement. Il s'ensuit que la stérilité d'un produit donné appartenant à une population de produits soumis à l'opération de stérilisation ne peut être garantie et que la stérilité de la population de produits traités doit être définie en termes de probabilité qu'un micro-organisme viable soit présent sur un produit.

Les exigences générales du système de management de la qualité pour la conception et le développement, la production, l'installation et le service après la vente sont spécifiées dans l'ISO 9001 et les exigences particulières relatives aux systèmes de management de la qualité pour la production de dispositifs médicaux sont données dans l'ISO 13485. Les normes pour les systèmes de management de la qualité reconnaissent que, pour certains procédés utilisés dans la fabrication, l'efficacité du procédé ne peut pas être entièrement vérifiée par une inspection et des essais ultérieurs du produit. La stérilisation constitue un exemple d'un tel procédé. Pour cette raison, il convient de veiller à la validation des procédés de stérilisation avant leur mise en application, à la surveillance de leur fonctionnement en routine ainsi qu'à l'entretien du matériel.

Des Normes internationales, spécifiant des modes opératoires de validation et de contrôle de routine des procédés utilisés pour la stérilisation des dispositifs médicaux, ont été élaborées (voir, par exemple, l'ISO 11135, la série de l'ISO 11137 et l'ISO 17665). Cependant, il est important de savoir que l'exposition à un procédé de stérilisation correctement validé et exactement contrôlé n'est pas le seul facteur permettant de garantir que le produit est stérile et, à cet égard, approprié à l'usage prévu. De plus, pour que la validation et le contrôle de routine d'un procédé de stérilisation soient efficaces, il est important de connaître l'épreuve microbiologique à laquelle le procédé est soumis, en termes de nombre, caractéristiques et propriétés des micro-organismes.

Le terme charge biologique est utilisé pour décrire la population de micro-organismes viables présents sur ou dans un produit et/ou un système de barrière stérile. La connaissance de la charge biologique peut être utilisée dans un certain nombre de situations:

- validation et revalidation des procédés de stérilisation;
- surveillance de routine pour le contrôle des procédés de fabrication;
- surveillance des matières premières, des composants ou des emballages;
- évaluation de l'efficacité des procédés de nettoyage;
- programme global de surveillance de l'environnement.

La charge biologique est la somme des contributions microbiennes provenant d'un certain nombre de sources, notamment les matières premières, la fabrication des composants, les procédés d'assemblage, l'environnement de fabrication, les aides à l'assemblage/à la fabrication (par exemple, air comprimé, eau, lubrifiants), les procédés de nettoyage et le conditionnement du produit fini. Pour contrôler la charge biologique, il faut prêter attention à l'état microbiologique de ces sources.

Il n'est pas possible d'énumérer exactement la charge biologique et, dans la pratique, une estimation de la charge biologique est faite à l'aide d'une méthode définie. La définition d'une méthode unique pour la détermination de la charge biologique dans toutes les situations n'est pas possible compte tenu de la grande diversité des conceptions et des matériaux de construction des dispositifs médicaux. Il n'est pas non plus possible de définir une technique unique à utiliser dans toutes les situations pour l'élimination des micro-organismes en vue de leur dénombrement. Par ailleurs, la sélection des conditions de dénombrement des micro-organismes sera influencée par les types de micro-organismes susceptibles de se trouver sur ou dans des dispositifs médicaux.

La présente partie de l'ISO 11737 spécifie les exigences à satisfaire dans la détermination de la charge biologique. Les exigences constituent les parties normatives de la présente partie de l'ISO 11737 avec laquelle la conformité est déclarée. Les directives données dans les annexes informatives ne sont pas normatives et ne sont pas destinées à servir de liste de contrôle pour des auditeurs. Elles fournissent des explications et des méthodes observées comme étant des moyens adaptés pour satisfaire aux exigences. D'autres méthodes que celles-ci, données dans les directives, peuvent être utilisées si elles sont efficaces pour parvenir à la conformité aux exigences de la présente partie de l'ISO 11737.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11737-1:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-0ca139d337b0/iso-11737-1-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-0ca139d337b0/iso-11737-1-2006>

Stérilisation des dispositifs médicaux — Méthodes microbiologiques —

Partie 1:

Détermination d'une population de micro-organismes sur des produits

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 11737 spécifie les exigences et fournit les directives pour le dénombrement et la caractérisation microbienne de la population de micro-organismes viables sur ou dans un dispositif médical, un composant, une matière première ou un emballage.

NOTE La nature et l'étendue de la caractérisation dépendent de l'usage prévu des données de charge biologique.

La présente partie de l'ISO 11737 ne spécifie pas d'exigences pour le dénombrement ou l'identification virale ou la contamination protozoaire.

NOTE Par ailleurs, les exigences spécifiées dans la présente partie de l'ISO 11737 ne s'appliquent pas à l'élimination et à la détection des agents responsables des encéphalopathies spongiformes telles que la tremblante du mouton, l'encéphalopathie spongiforme bovine ou la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

La présente partie de l'ISO 11737 ne spécifie pas les exigences pour la surveillance microbiologique de l'environnement dans lequel les dispositifs médicaux sont fabriqués.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 10012, *Systèmes de management de la mesure — Exigences pour les processus et les équipements de mesure*

ISO 13485:2003, *Dispositifs médicaux — Systèmes de management de la qualité — Exigences à des fins réglementaires*

ISO/CEI 17025:2005, *Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

charge biologique

population de micro-organismes viables sur ou dans un produit et/ou un système de barrière stérile

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.2]

3.2

correction

action d'éliminer une non-conformité détectée

NOTE Une correction peut être réalisée parallèlement à une **action corrective** (3.4).

[ISO 9000:2005, définition 3.6.6]

3.3

facteur de correction

valeur numérique appliquée pour compenser l'élimination incomplète de micro-organismes d'un produit et/ou d'une culture

3.4

action corrective

action visant à éliminer la cause d'une non-conformité ou autre situation indésirable détectée

NOTE 1 Il peut y avoir plusieurs causes à une non-conformité.

NOTE 2 Une action corrective est entreprise pour empêcher la réapparition alors qu'une **action préventive** (3.9) est entreprise pour empêcher les occurrences.

NOTE 3 Il existe une distinction entre une **correction** (3.2) et action corrective.

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.8]

3.5

conditions de culture

combinaison du milieu de croissance et du type d'incubation utilisé pour favoriser la germination, la croissance et/ou la multiplication des micro-organismes

NOTE Le type d'incubation peut inclure la température, la durée ou toute autre condition spécifiée concernant l'incubation.

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.10]

3.6

établir

déterminer par évaluation théorique et confirmer par expérimentation

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.17]

3.7**dispositif médical**

instrument, appareil, équipement, machine, dispositif, implant, réactif in vitro ou calibreur, logiciel, matériel ou tout autre article similaire ou associé, dont le fabricant prévoit qu'il sera utilisé, seul ou en association chez l'être humain pour la (les) fin(s) spécifique(s) suivantes:

- diagnostic, de prévention, de contrôle, de traitement ou d'atténuation d'une maladie;
- diagnostic, prévention, traitement, atténuation ou compensation d'une blessure;
- étude, remplacement ou modification de l'anatomie ou d'un processus physiologique;
- prise en charge ou support de la vie;
- maîtrise de la conception;
- désinfection des dispositifs médicaux;
- fourniture d'informations à des fins médicales au moyen d'examen in vitro d'échantillons issus du corps humain;

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

NOTE Cette définition tirée de l'ISO 13485:2003 a été élaborée par le groupe de travail sur l'harmonisation mondiale (GHTF 2002).

[ISO 13485:2003]

3.8**caractérisation microbienne**

processus dans lequel les micro-organismes sont regroupés en catégories générales

NOTE Les catégories peuvent reposer, dans une large mesure, par exemple sur l'utilisation de milieux sélectifs, la morphologie de la colonie ou des cellules, les propriétés de coloration ou autres caractéristiques.

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.25]

3.9**action préventive**

action d'éliminer la cause d'une non-conformité potentielle ou autre situation potentielle indésirable

NOTE 1 Il peut y avoir plus d'une cause de non-conformité potentielle.

NOTE 2 L'action prévention est prise pour éviter l'occurrence tandis que l'**action corrective** (3.4) est prise pour éviter la récurrence.

[ISO 9000:2005, définition 3.6.4]

3.10**produit**

résultat d'un processus

NOTE Pour les besoins des normes de stérilisation, le terme «produit» est un concept formel et peut être une ou des matière(s) première(s), des produits semi-ouvrés, des sous-ensembles et des produits de santé.

[ISO 9000:2005, définition 3.4.2]

3.11

collection de culture reconnue

autorité de dépôt internationale selon le Traité de Budapest sur la «Reconnaissance Internationale du Dépôt des Micro-organismes aux Fins de la Procédure en Matière de Brevets»

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.38]

3.12

efficacité de la récupération

mesure de la capacité d'une technique donnée à supprimer et/ou cultiver les micro-organismes d'un produit

3.13

portion d'article d'échantillon

SIP

part définie d'un dispositif médical soumis à essai

3.14

spécifier

stipuler en détails dans un document approuvé

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.42]

3.15

validation

mode opératoire écrit utilisé pour obtenir, enregistrer et interpréter les résultats nécessaires pour établir qu'un procédé fournit de façon constante un produit conforme aux spécifications prédéterminées

NOTE Dans le domaine de la détermination de la charge biologique, le «processus» représente la méthodologie de l'essai et le «produit» représente le résultat de l'essai. La validation d'une technique de détermination de la charge biologique consiste en une série d'études visant à estimer l'efficacité et la reproductibilité de la méthode d'essai.

[ISO/TS 11139:2006, définition 2.55] <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-0ca139d337b0/iso-11737-1-2006>

4 Éléments du système de management de la qualité

4.1 Documentation

4.1.1 Les modes opératoires pour la détermination de la charge biologique doivent être spécifiés.

4.1.2 Les documents et les enregistrements exigés par la présente partie de l'ISO 11737 doivent être revus et approuvés par un personnel désigné (voir 4.2.1). Les documents et enregistrements doivent être contrôlés conformément à l'ISO 13485 ou à l'ISO/CEI 17025.

4.1.3 Les enregistrements de toutes les observations d'origine, les calculs, les données dérivées et les rapports finaux doivent être conservés. Ces enregistrements doivent comporter l'identité du personnel qui s'est chargé de l'échantillonnage, de la préparation et des essais.

4.1.4 Les calculs et les transferts de données doivent faire l'objet de contrôles appropriés.

4.2 Responsabilité de la direction

4.2.1 La responsabilité et l'autorité destinées à mettre en place et effectuer les modes opératoires décrits dans la présente partie de l'ISO 11737 doivent être spécifiées. La responsabilité doit être attribuée à un personnel compétent conformément à l'ISO 13485 ou à l'ISO 17025.

4.2.2 Si les exigences de la présente partie de l'ISO 11737 sont menées par des organismes avec des systèmes de management de la qualité séparés, les responsabilités et l'autorité de chaque partie doivent être spécifiées.

4.2.3 Toutes les pièces d'équipement nécessaires pour la mise en œuvre correcte des essais et des mesurages spécifiés doivent être disponibles.

4.3 Réalisation du produit

4.3.1 Les modes opératoires d'achat doivent être spécifiés. Ces modes opératoires doivent être conformes à l'ISO 13485 ou à l'ISO/CEI 17025.

4.3.2 Un système documenté conforme à l'ISO 13485, à l'ISO/CEI 17025 ou à l'ISO 10012 doit être spécifié pour l'étalonnage de tous les équipements, y compris les instruments destinés aux essais, utilisés pour satisfaire aux exigences de la présente partie de l'ISO 11737.

4.3.3 Des méthodes doivent être spécifiées pour la préparation et la stérilisation des matériels utilisés dans la détermination de la charge biologique, y compris les essais de qualité appropriés.

4.4 Mesurages, analyse et amélioration — Maîtrise du produit non conforme

Des modes opératoires pour l'étude des résultats hors spécification et pour la correction, l'action corrective et l'action préventive doivent être spécifiés. Ces modes opératoires doivent être conformes à l'ISO 13485 ou à l'ISO/CEI 17025.

iTeh STANDARD PREVIEW

5 Sélection des unités de produit (standards.iteh.ai)

5.1 Généralités

ISO 11737-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff>

5.1.1 Les modes opératoires de sélection et de maniement d'unités de produit pour la détermination de la charge biologique doivent être établis afin de garantir que les unités de produit obtenues sont représentatives d'une production de routine y compris les matériaux et les procédés d'emballage.

5.1.2 Si des produits sont regroupés pour les besoins de la détermination de la charge biologique, la justification de l'inclusion d'une unité de produit dans un groupe doit être enregistrée (voir 4.1.2). La justification doit inclure des critères garantissant que la charge biologique déterminée pour une unité de produit choisie dans un groupe est représentative de l'ensemble du groupe.

5.1.3 Il faut tenir compte du laps de temps entre la fourniture des échantillons et la détermination de la charge biologique puisque la détermination de la charge biologique peut être sujette à des modifications dans le temps.

5.2 Portion d'article d'échantillon (SIP)

S'il est démontré que la charge biologique est répartie de manière égale sur et/ou dans le produit, la SIP peut être sélectionnée à partir de n'importe quelle portion de l'article. Autrement, la SIP consistera en portion(s) de produit, sélectionnées de manière aléatoire et qui représentent proportionnellement chacun des matériaux, à partir desquels le produit est élaboré. Si la répartition de la charge biologique est connue, la SIP peut être sélectionnée à partir de la portion du produit qui est considérée comme étant l'épreuve la plus sévère pour le processus de stérilisation. La SIP peut être sélectionnée en fonction de la longueur, de la masse, du volume ou de la surface (voir les exemples indiqués dans le Tableau 1).

Tableau 1 — Exemples de calculs de SIP

Critères pour la SIP	Produit
Aire massique (surface spécifique)	Implants (non absorbables)
Masse	Poudres Tenues Implants (absorbables)
Longueur	Tubes (diamètres correspondants)
Volume	Eau, liquides

NOTE Le cas échéant, la norme spécifiant les exigences pour la validation et le contrôle de routine du procédé de stérilisation peut stipuler les critères d'adéquation de la SIP.

6 Méthodes de détermination et de caractérisation de la charge biologique

6.1 Détermination de la charge biologique

6.1.1 Sélection d'une méthode appropriée

Une méthode appropriée doit être sélectionnée pour la détermination de la charge biologique. La méthode doit comprendre des techniques pour

- a) l'élimination des micro-organismes, si approprié,
- b) la culture des micro-organismes, [ISO 11737-1:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-1ca139d337b0/iso-11737-1-2006)
- c) le dénombrement des micro-organismes. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f4855b91-edf8-4ef8-b2ff-1ca139d337b0/iso-11737-1-2006>

La fidélité sera déterminée et sera appropriée pour l'objectif pour lequel les données doivent être utilisées.

6.1.2 Élimination des micro-organismes

6.1.2.1 Pour un produit identifié pour lequel l'élimination des micro-organismes viables fait partie de la méthode, l'efficacité de l'élimination doit être prise en compte et le résultat de cette évaluation doit être enregistré (voir 4.1.3). Les facteurs suivants doivent au moins être pris en compte:

- a) la capacité de la technique à éliminer les micro-organismes;
- b) le (les) type(s) possible(s) de micro-organismes et leur(s) emplacement (s) sur le produit;
- c) le (les) effet(s) de la technique d'élimination sur la viabilité des micro-organismes; et
- d) la nature physique ou chimique du produit à soumettre à essai.

6.1.2.2 Pour un produit identifié pour lequel l'élimination des micro-organismes viables ne fait pas partie de la méthode, l'efficacité du dénombrement des micro-organismes doit être prise en compte et le résultat de cette évaluation doit être enregistré (voir 4.1.3). Les facteurs suivants doivent au moins être pris en compte:

- a) le (les) type(s) possible(s) de micro-organismes et leur(s) emplacement (s) sur le produit;
- b) la nature physique ou chimique du produit à soumettre à essai;
- c) les agrégats de cellules formant des colonies uniques en raison d'une culture in situ.

6.1.2.3 S'il apparaît, d'après les propriétés physiques ou chimiques du produit, qu'il peut y avoir dégagement de substances risquant d'affecter défavorablement le nombre ou les types de micro-organismes trouvés, un système permettant de neutraliser ou d'éliminer, ou si cela n'est pas possible, de restreindre au minimum les effets de ces substances, doit être utilisé. L'efficacité d'un tel système doit être établie.

NOTE L'Annexe B décrit des techniques qui peuvent être utilisées pour évaluer la libération de substances microbicides ou microbiostatiques.

6.1.3 Culture des micro-organismes

Les conditions de culture doivent être sélectionnées après examen des types de micro-organismes que l'on peut s'attendre à trouver. Les résultats de cette étude et la justification des décisions adoptées doivent être documentés (voir 4.1.2).

6.1.4 Dénombrement des micro-organismes

La technique de dénombrement doit être sélectionnée après examen des types de micro-organismes que l'on peut s'attendre à trouver. Les résultats de cette étude et la justification des décisions adoptées doivent être documentés (voir 4.1.2).

6.2 Caractérisation microbienne de la charge biologique

6.2.1 Des techniques appropriées pour la caractérisation microbienne de la charge biologique doivent être sélectionnées.

NOTE La caractérisation microbienne est nécessaire pour détecter une modification de la microflore du produit susceptible d'affecter certains aspects de l'utilisation des données de charge biologique (par exemple l'établissement d'un procédé de stérilisation).

6.2.2 La caractérisation microbienne doit être effectuée sur la base de l'un ou plusieurs des éléments suivants:

- a) les propriétés de coloration;
- b) la morphologie des cellules;
- c) la morphologie de la colonie;
- d) l'utilisation de milieux de culture sélectifs;
- e) les propriétés biochimiques;
- f) les données de la séquence génétique, pour lesquelles il y a une base de données adéquate.

7 Validation de la méthode de détermination de la charge biologique

7.1 La méthode de détermination de la charge biologique doit être validée et documentée.

7.2 La validation doit comporter les éléments suivants:

- a) l'évaluation de l'adéquation de la technique d'élimination des micro-organismes du produit, si l'élimination fait partie de la méthode;
- b) la détermination de l'efficacité de la récupération afin de pouvoir calculer un facteur de correction;
- c) l'évaluation de l'adéquation du dénombrement des micro-organismes, y compris les conditions de culture et les techniques de dénombrement microbiologique;
- d) l'évaluation de l'adaptabilité de la (des) technique(s) de caractérisation microbienne.