

Laboratoire de Fougères

Unité
Antibiotiques, Biocides,
Résidus et Résistance

Résistance antimicrobienne

Fougères, le 28 mars 2019

Dossier suivi par :
Sophie Granier
Agnès Perrin-Guyomard

Ligne directe :
02 99 17 27 47

Fax direct :

E- mail :
Sophie.granier@anses.fr
Agnès.perrin-
guyomard@anses.fr

Cahier des charges pour la validation des méthodes commerciales destinées à déterminer la sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes d'origine animale

Contexte et objectif

L'arrêté du 18 mars 2016 fixe la liste des substances antibiotiques d'importance critique et la liste des méthodes pour déterminer la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques (normes NF 47-107 et NF 47-106).

Dans son avis du 03 octobre 2017 (saisine 2016-SA-0184), l'Anses recommande de considérer que toute méthode produisant des valeurs de CMI ou de diamètres par les méthodes de dilution (y compris micro-dilution) en milieu liquide ou solide et de diffusion en milieu solide, peut valablement être utilisée en médecine vétérinaire. Ces méthodes, dites de référence, peuvent être mises en œuvre à partir de réactifs distincts, sans nécessairement constituer une solution globale liée à un seul fournisseur industriel. Ces méthodes permettent également de fournir des valeurs acceptées par les référentiels de catégorisation en vigueur et sont donc en cohérence avec les nécessaires évolutions de ces derniers. Il est également à noter que chaque référentiel décrit ses propres conditions expérimentales qui peuvent, elles seules, permettre l'interprétation en catégorisation clinique des valeurs mesurées durant l'analyse.

L'Anses propose d'étendre cette liste de méthodes à d'autres outils d'orientation pour la prescription vétérinaire (objectif clinique), avec validation préalable par le pétitionnaire, selon un cahier des charges édité par le LNR.

En conséquence, l'arrêté du 18 décembre 2017, modifiant l'arrêté du 18 mars 2016, précise qu'aux méthodes validées pour la détermination de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques, s'ajoute "toute méthode ou test revendiquant la détermination de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques ayant obtenu un résultat favorable à la validation réalisée par le laboratoire national de référence pour la résistance anti-microbienne. Cette validation est effectuée sur demande de l'établissement produisant ou commercialisant le test, accompagnée d'un dossier comprenant les performances du test en réponse à un cahier des charges édité par le laboratoire national de référence pour la résistance anti-microbienne".

L'objet de ce document est donc d'établir le cahier des charges décrivant les exigences relatives à l'évaluation des performances des méthodes et des tests commerciaux destinés à fournir aux prescripteurs vétérinaires, la sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes, pour les aider dans leur choix de traitement par antibiothérapie, d'un animal malade.

Exigences pour l'évaluation des performances des méthodes et tests commerciaux

Norme pour l'évaluation des performances :

La méthode NF EN ISO 20776-2 intitulée *"Systèmes d'essais en laboratoire et de diagnostic in vitro - Sensibilité in vitro des agents infectieux et évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes - Partie 2: Évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes"* est la méthode sur laquelle les fournisseurs de méthodes et tests commerciaux pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques à usage vétérinaire devront s'appuyer pour évaluer la performance de leurs dispositifs.

Méthode de référence :

Pour comparer les performances de leurs dispositifs, les fournisseurs s'appuieront sur la méthode de référence, la méthode décrite dans la NF EN ISO 20776-1, *"Systèmes d'essais en laboratoire et de diagnostic in vitro. Sensibilité in vitro des agents infectieux et évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes. Partie 1: Méthode de référence pour la détermination de la sensibilité in vitro aux agents antimicrobiens des bactéries aérobies à croissance rapide impliquées dans les maladies infectieuses"*.

Référentiel :

Le référentiel sur lequel les fournisseurs s'appuieront pour définir les couples bactéries/antibiotiques à évaluer pour la médecine vétérinaire et catégoriser le résultat de la méthode ou du test est le référentiel vétérinaire en vigueur du CA-SFM. En absence d'informations dans le référentiel du CA-SFM, le fournisseur pourra s'appuyer sur des référentiels internationaux en

médecine vétérinaire (CLSI). En absence de référentiel vétérinaire, il pourra s'appuyer sur le référentiel européen EU-CAST.

Exigences minimales

Fabricant :

Le fabricant devra attester d'une certification pour le management de la qualité de ses services et de la fabrication de ses produits (à minima ISO9001).

Méthode :

La méthode doit être employée pour des **souches bactériennes pures, isolées, calibrées et identifiées au niveau de l'espèce bactérienne.**

Le fabricant devra fournir un protocole détaillé et précis d'utilisation de la méthode comprenant :

- ✓ Le domaine d'application de la méthode (espèces bactériennes cibles, antibiotiques testés et concentrations) et son principe.
- ✓ Le matériel et les consommables nécessaires pour toutes les étapes de la méthode.
- ✓ Les précautions d'emploi.
- ✓ La procédure d'utilisation.
- ✓ Les modalités de lecture et les critères de catégorisations du résultat de lecture.
- ✓ Les limites de la méthode.
- ✓ Les contrôles qualité (CQ) à utiliser pour vérifier les performances globales de la méthode chez l'utilisateur et les résultats attendus pour ces CQ. Le protocole devra préciser si les CQ sont fournis avec le dispositif commercial. Si c'est le cas, le fabricant devra fournir le certificat d'analyse du CQ qui atteste de ses caractéristiques.
- ✓ Les performances de la méthode (capacité à la catégorisation de la souche testée).
- ✓ Le fabricant devra préciser son engagement par rapport à l'interprétation du résultat de catégorisation (dans le sens orientation sur le traitement antibiotique).
- ✓ Le cas échéant, les références bibliographiques sur lesquelles le fabricant se sera appuyé pour développer sa méthode de détermination de sensibilité aux antibiotiques.

Exigences générales

Le fabricant devra fournir le dossier de validation de la méthode, qui devra comprendre :

- ✓ Le référentiel de catégorisation, dont la version devra être précisée.

- ✓ Le descriptif de la méthode appliquée dans le cadre de la validation.
- ✓ Si effectué, un descriptif des essais de résolution des écarts et leurs résultats.
- ✓ Le rapport d'évaluation de la méthode constitué d'essais d'exactitude, de reproductibilité et de qualité comme décrit dans la norme NF EN ISO 20776-2. Le fabricant ou l'investigateur décrivent les différentes études et leurs modalités de réalisation menées sous leur responsabilité. Les coordonnées, les conditions d'encadrement des études et les systèmes de management de la qualité (référentiel) des laboratoires participant à la validation seront décrits.

Pour chaque critère d'acceptation défini dans la norme NF EN ISO 20776-2, les plans expérimentaux devront faire apparaître dans le rapport :

- Les espèces bactériennes et les antibiotiques testés par espèce bactérienne,
- Les concentrations des antibiotiques testés,
- L'origine et la diversité des isolats testés :
Les isolats testés devront être pertinents 1) d'un point de vue microbiologique 2) vis-à-vis de la médecine vétérinaire et 3) pour le domaine d'application de la méthode
Note : des isolats d'origine humaine pourront compléter cette liste de souches si les molécules utilisées dans le dispositif sont utilisées à la fois dans le domaine vétérinaire et le domaine clinique
- Les contrôles qualité utilisés
Note : la liste des contrôles qualité et des antibiotiques testés peut être complétée par ceux recommandés dans les documents du CLSI
- Des essais de résolution des écarts pourront être réalisés et décrits,
- Le nombre de souches dans les essais de reproductibilité devra être spécifié.

Dans le rapport, les résultats seront présentés par essai avec :

- Les résultats individuels par isolat testé,
- Les résultats des contrôles qualité utilisés pour évaluer les performances de la méthode,
- Les résultats d'exactitude (taux d'accords et d'écarts) entre la méthode de référence et la méthode évaluée, et les résultats des études de résolution des écarts,
- Les résultats de reproductibilité du dispositif,
- Une synthèse des résultats avec une conclusion sur la validité du dispositif au regard des plans d'expérience mis en œuvre et des méthodes statistiques appliquées.

Modalités d'évaluation des performances par le LNR

Le LNR étudiera la recevabilité du dossier aux regards des exigences de la norme NF EN ISO 20776-2.

Le LNR ne validera que les antibiotiques ayant une AMM en médecine vétérinaire, en tenant compte de la réglementation LMR pour les animaux producteurs de denrées alimentaires.

Le LNR évaluera la pertinence des isolats testés aux regards des principales pathologies rencontrées en médecine vétérinaire et des couples antibiotiques/espèces bactériennes décrits dans le CA-SFM vétérinaire. Les isolats d'origine médicale seront pris en compte lorsque l'espèce bactérienne est également impliquée dans des pathologies animales.

Le LNR évaluera les performances du dispositif **pour chaque couple espèce bactérienne/antibiotique** sur la base des données transmises dans le dossier du fabricant et selon les critères d'acceptation de la norme NF EN ISO 20776-2 (& 5.4).

Le LNR pourra demander des informations complémentaires aux industriels, et le cas échéant pourra mettre en œuvre ou faire mettre en œuvre des essais complémentaires.

Si le dossier n'est pas considéré comme recevable en l'état, le LNR recommandera les études à réaliser pour compléter le dossier de validation.

Pour chaque méthode, la liste des couples antibiotiques/bactéries, validés après évaluation par le LNR, sera éditée et publiée sur le site web de l'Anses.

Des demandes complémentaires d'ajouts de nouveaux couples antibiotiques/bactéries pourront être soumis au LNR qui les évaluera et mettra à jour les nouveaux couples validés sur le site web de l'Anses.