

CAHIER DES CHARGES-TYPE POUR LA PRÉSENTATION D'UN RÉACTIF PCR TEMPS RÉEL AUX CONTRÔLES DE CONFORMITÉ

Version 2-: P_APPLICATION_DATE

Laboratoire	
Contact	XXXXXX ☎ : XX XX XX XX XX e-mail : xxxx@anses.fr

Mandat de référence	
----------------------------	--

Objet	
Cible	
Méthode	
Matrice	

Version	
Date d'application	

Validation			
Nom/Prénom	Fonction	Date	Signature

Table des matières

Avant-propos	3
1. Introduction.....	3
2. Référentiels et matériaux de référence	3
3. Définitions	4
4. Contexte et objectifs d'application du kit	4
5. Réactif (ou trousse) et lot soumis au contrôle initial	4
5-1 Description du réactif	4
5.2 Matériel à fournir par le demandeur pour le contrôle de conformité.....	5
5-3 Contrôle qualité	5
6. Dossier technique à présenter par le demandeur du contrôle initial	5
6.1 Caractérisation de la (RT)PCR pour des techniques qualitative, quantitative ou semi-quantitative/relative à un MRSI	5
6.1.1 Caractérisation de la (RT)PCR : analyse in silico (étude bio-informatique)	5
6.1.2 Spécificité analytique (inclusivité et exclusivité).....	5
6.1.3 Limite de détection de la (RT)-PCR ($LD_{(RT)-PCR}$).....	6
6.1.4 Efficacité de la (RT)PCR.....	6
6.1.5 Robustesse de la (RT)PCR	6
6.1.6 Stabilité du réactif	6
6.2 Caractérisation complémentaire de la (RT)PCR pour des techniques quantitatives .	6
6.2.1 Détermination du domaine de linéarité	7
6.2.2 Détermination de la limite de quantification $LQ_{(RT)PCR}$	7
6.3 Caractérisation de la méthode complète (préparation échantillon/extraction/(RT)-PCR) pour des techniques qualitative, quantitative ou semi-quantitative/relative à un MRSI.....	7
6.3.1 Caractérisation de la méthode.....	7
6.3.1.1 Limite de détection de la méthode ($LD_{méthode}$)	7
6.3.1.2 Sensibilité et spécificité diagnostiques (SeD et SpD).....	7
6.3.1.3 Robustesse de la méthode (optionnelle)	8
6.3.2 Caractérisation complémentaire pour une méthode quantitative	8
6.3.3 Caractérisation de la méthode semi-quantitative/relative à un MRSI.....	8
6.4 Synthèse des paramètres de performance et des niveaux d'exigence attendus	8
7. Contrôle de lot	10
7.1 Contrôle avant commercialisation d'un lot de réactif.....	10
7.2 Contrôle en cours de commercialisation.....	10

Avant-propos

Ce cahier des charges-type est un des documents visant à harmoniser les pratiques des LNR Anses pour la mise en œuvre du contrôle des réactifs, et rédigés par le Groupe de travail Anses « Contrôle des réactifs » :

- **Animation** : successivement, Jaqueline Vialard (Direction de la stratégie et des programmes, DSP), Bruno Garin-Bastuji (DSP), Marc Tabouret (Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, PPN) et Bertrand Lombard (DSP) ;
- **Membres** : Corinne Sailleau & Maria-Laura Boschioli (Laboratoire de santé animale), Élodie Rousset (Laboratoire de Sophia-Antipolis), Marie-Frédérique Le Potier (Laboratoire PPN), Géraldine Anthoine (Laboratoire de santé des végétaux).

Le cahier des charges-type, décrit dans le présent document, a pour objet de guider chaque LNR Anses concerné pour la rédaction du (ou des) cahier(s) des charges (CdC) relatif(s) au (i) contrôle initial de conformité d'un (ou des) réactif(s) de PCR temps réel dans son domaine de compétence et (ii) au contrôle de lot

Fondé sur le corpus normatif en santé animale, ce cahier des charges-type est destiné à être utilisé principalement par les LNR en santé animale. Les LNR en santé végétale, chargés de contrôle de réactifs, sont également encouragés à utiliser ce document avec des adaptations éventuelles.

Le présent document est destiné aux LNR Anses concernés alors que les cahiers des charges rédigés par les LNR Anses seront rendus publics et accessibles notamment aux demandeurs (producteurs et distributeurs de réactifs).

Le texte en noir est destiné à figurer dans tous les CdC relatifs au contrôle initial de conformité d'un réactif de PCR temps réel alors que le texte en vert et en italique est destiné à chaque LNR pour apporter les compléments spécifiques à son domaine de compétence (cf. guide adressé aux LNR, [ANSES/PG/0138](#)).

La version révisée de ce document est applicable non seulement au contrôle initial (version précédente) mais aussi au contrôle de lot. D'autres modifications, limitées, ont également été apportées sur la base des commentaires des utilisateurs de la version précédente. Les modifications de texte par rapport à la version précédente sont surlignées en jaune.

1. Introduction

Ce cahier des charges précise aux demandeurs (producteurs et distributeurs de réactifs), les conditions générales nécessaires à la présentation d'un réactif PCR¹ en temps réel (PCR et Reverse Transcription-PCR) au contrôle de conformité initial et de lot du LNR, en vue de l'obtention d'une attestation de conformité prévue à l'article R. 202-37 du Code rural et de la pêche maritime.

Il vise aussi à décrire le format et le contenu du dossier technique qui devra être présenté par le demandeur, en définissant pour chacun des paramètres spécifiés par le LNR, le niveau de performance attendu et les moyens à mettre en œuvre pour l'évaluer. Il décrit également les caractéristiques vérifiées par l'organisme de contrôle, les modalités de ce contrôle et les valeurs attendues. Les résultats de performance attendus sont notamment basés sur les capacités techniques et sur les besoins en fonction des objectifs d'application.

L'ensemble des données fournies au LNR par le demandeur sont et demeurent confidentielles. Par ailleurs, un dossier dépourvu d'informations confidentielles est fourni par le fabricant aux utilisateurs du kit.

2. Référentiels et matériaux de référence

- Norme AFNOR NF U 47-600-1, Méthodes d'analyses en santé animale – PCR (réaction de polymérisation en chaîne) – Partie 1 : Exigences et recommandations pour la mise en œuvre de la PCR de la PCR en santé animale.
- Norme AFNOR NF U 47-600-2, Méthodes d'analyses en santé animale – PCR (réaction de polymérisation en chaîne) – Partie 2 : Exigences et recommandations pour le développement et la validation de la PCR en santé animale.

¹ Le document est voué à être évolutif en fonction des nouvelles technologies PCR (ex : PCR digitale)

- Norme AFNOR NF U 47-301, Méthodes d'analyse en santé animale – Dossier de présentation pour le contrôle des réactifs biologiques
- Norme AFNOR NF U 47-311, Méthodes d'analyse en santé animale – Contrôle de réactifs PCR (réaction de polymérisation en chaîne) utilisés dans le domaine de la santé animale
 - *Autres référentiels spécifiques à la cible (à compléter par le LNR).*
 - *Protocole(s) opératoire(s) ou éléments techniques de ce protocole mis en œuvre par le LNR pour le contrôle initial du réactif si différent(s) de celui précisé par la notice du fournisseur, (A joindre en annexe).*
 - *Matériaux de référence, dont étalons, nationaux, européens ou internationaux (à compléter par le LNR).*

3. Définitions

À mentionner par le LNR dans ce chapitre, les définitions spécifiques à la cible visée (fixées par la réglementation, le gestionnaire ou le LNR).

Pour chaque paramètre, la définition est rappelée en introduction du paragraphe correspondant. En l'absence de précision, les définitions des termes employés seront celles des référentiels AFNOR.

4. Contexte et objectifs d'application du kit

Description précise par le LNR de la nature et des objectifs d'utilisation du réactif : voir guide.

5. Réactif (ou trousse) et lot soumis au contrôle **initial**

5-1 Description du réactif

Le demandeur fournit un descriptif précis de son réactif : nom commercial, dénomination et code produit, conditionnement(s), lieu(x) de fabrication, de contrôle et de conditionnement du produit fini, principe analytique, composition et conditions d'emploi (protocoles d'utilisation et numéro de version, types de prélèvements, domaine(s) d'utilisation, précautions d'emploi...).

La description précise de la méthode (référence(s) bibliographiques le cas échéant) et des matières premières critiques pour les performances (composants biologiques utilisés, procédés de fabrication...) est communiquée, à l'exception des données touchant au secret industriel. Le LNR est tenu de garder confidentielles les informations contenues dans le dossier.

Les modalités de conservation et la durée de validité sont précisées ainsi que toutes les informations relatives aux essais ayant permis de les établir (modalités et résultats des tests de vieillissement en particulier).

Le lot soumis au contrôle doit être un lot fabriqué et conditionné dans les conditions finales de commercialisation et identifié par un numéro unique (critères de définitions d'un lot à préciser, étant entendu que pour un numéro de lot donné correspondent des numéros de lots identiques des constituants du réactif dans leur forme finale, voir NF U 47-311). Le numéro, la taille du lot, la durée de validité ainsi que le numéro de lot des différents constituants du réactif sont décrits.

Le demandeur joint en annexe au dossier technique :

- Pour chacun des principes actifs (composants biologiques) et chacune des matières premières (composants chimiques), la description, le nom et les coordonnées du fabricant, le procédé de fabrication², le mode de conditionnement (nature du récipient, mode de fermeture, volume), les modalités de conservation et la fiche de sécurité.
- Le projet de notice **à minima en français**, rédigé selon les recommandations figurant dans l'annexe B de la Norme NF U47 – 311.
- Les modèles d'étiquettes du réactif ou de chacun des composants (*a minima* en français).
- La procédure de contrôle qualité et les certificats correspondants au lot soumis au contrôle.

² à l'exception des données touchant au secret industriel

- Les modalités d'interprétation des résultats d'analyses (seuils de détection, inhibition, ...) doivent être décrites pour tous les types d'échantillons / témoins possibles SH.

5.2 Matériel à fournir par le demandeur pour le contrôle de conformité

Le demandeur mettra gratuitement à disposition la quantité de réactif nécessaire pour réaliser le contrôle et vérifier d'autres paramètres que le LNR jugera nécessaire de vérifier (exemple : limite de détection de la PCR, de la méthode, test de répétabilité et reproductibilité intralaboratoire, tests de sensibilité, spécificité diagnostiques complémentaires, etc.).

5-3 Contrôle qualité

Le fournisseur devra présenter les procédures de contrôle qualité réalisées et les critères d'acceptation pour la libération de lot.

6. Dossier technique à présenter par le demandeur du contrôle initial

Avertissement important : La liste et les définitions des paramètres sont fondées sur les Normes NF U 47-311 et NF U47-600-1. Les données doivent être présentées dans le dossier technique selon les exigences définies par le LNR dans ce cahier des charges. Le demandeur doit en particulier indiquer pour chacun des paramètres, les différents types d'échantillons (de référence, de contrôles, de terrain) utilisés en précisant leur mode de sélection et de caractérisation (provenance, statut, ...). Il doit également préciser les méthodologies de vérification (protocoles ...) mises en œuvre et inclure les données brutes relatives aux résultats obtenus. L'évaluation des performances doit être réalisée pour chacune des matrices définies par le LNR pour laquelle le test s'applique et pour chacun des protocoles techniques différents proposés dans la notice.

Externalisation : Toutes ou parties des études permettant de caractériser les réactifs peuvent être réalisées dans un ou plusieurs laboratoires prestataires externes. Ces essais, notamment quand ils sont exigés par le LNR, doivent avoir été mis en œuvre par des laboratoires prestataires indépendants du fabricant et, dans la mesure du possible, agréés voire accrédités ou reconnus pour la mise en œuvre de la technique de diagnostic considérée. L'intégralité des résultats bruts et, le cas échéant, transformés, validés par le responsable du laboratoire prestataire concerné, doit être communiquée au LNR.

6.1 Caractérisation de la (RT)PCR pour des techniques qualitative, quantitative ou semi-quantitative/relative à un MRSI³

Le demandeur doit présenter les moyens mis en œuvre pour déterminer les valeurs des paramètres évalués et les résultats obtenus, comme décrit ci-après.

6.1.1 Caractérisation de la (RT)PCR : analyse *in silico* (étude bio-informatique)

- **Choix du « design » amorces/sonde(s)**

Le demandeur doit fournir des informations sur la localisation du design « amorces et sondes » (gène ciblé et position sur le gène) et assurer une vérification *in silico* de ses designs, notamment lorsqu'il a été alerté par le LNR de l'apparition de nouvelles souches ou de nouveaux variants.

- **Spécificité du « design »**

La spécificité *in silico* du système PCR en temps réel peut être évaluée en alignant la séquence nucléotidique ciblée (incluant la séquence ciblée par les amorces et sondes) avec les séquences disponibles dans les bases de données de séquences (ex NCBI (National Center of Biotechnology Information)). Cette étape ne peut se substituer à une évaluation expérimentale de la spécificité.

À compléter par le LNR le cas échéant (en fonction du contexte épidémiologique par exemple)

6.1.2 Spécificité analytique (inclusivité et exclusivité)

L'inclusivité est la capacité à détecter l'analyte cible y compris les différents sous-types ou autres variants pertinents compte tenu des objectifs d'utilisation du réactif. La PCR doit être testée sur un nombre pertinent de variants de l'organisme cible.

L'exclusivité est la capacité d'un réactif à ne pas détecter d'autres analytes que la cible, pouvant potentiellement provoquer des réactions croisées.

³ Matériaux de référence au seuil d'interprétation

L'exclusivité de la PCR doit être testée sur des suspensions (ou autres) de concentration forte de microorganismes ou organismes proches génétiquement et/ou appartenant à la même niche écologique.

À compléter par le LNR selon la nature de la cible, le contexte épidémiologique et les données scientifiques en sa possession (préciser les modalités d'évaluation et les critères d'acceptation).

6.1.3 Limite de détection de la (RT)-PCR ($LD_{(RT)-PCR}$)

La limite de détection de la RT-PCR ($LD_{(RT)-PCR95\%}$) est le plus petit nombre de copies d'acide nucléique cible par unité de volume qui peut être détecté dans 95% des cas.

La $LD_{(RT)-PCR}$ doit être déterminée à partir d'un ARN/ADN ou d'un plasmide dosé en conditions de répétabilité intra série (répliques) et inter série (séries indépendantes).

À compléter par le LNR (préciser les modalités d'évaluation et les critères d'acceptation)

6.1.4 Efficacité de la (RT)PCR

L'efficacité évalue le rendement de la réaction de PCR en temps réel. Elle est calculée dans le domaine de linéarité. La linéarité d'un test est sa capacité à générer des résultats proportionnels à la concentration de cibles présentes dans une gamme donnée et modélisable par une fonction linéaire : chaque cycle équivaut théoriquement à une multiplication par 2, l'efficacité est de 100% lorsque la pente est -3,3.

L'efficacité de la PCR peut être évaluée à partir d'une gamme réalisée à partir d'un ADN/ARN/plasmide quantifié ou d'un ADN/ARN extrait de l'organisme cible. Cette efficacité est d'autant plus importante dans les essais quantitatifs mais reste toutefois informationnelle pour des essais qualitatifs.

À compléter par le LNR (préciser les modalités d'évaluation et les critères d'acceptation)

6.1.5 Robustesse de la (RT)PCR

La robustesse doit être évaluée afin de vérifier la capacité de la PCR à ne pas être affectée par de petits changements dans les paramètres jugés critiques tels que la température d'incubation et le volume des réactifs notamment.

Elle doit être évaluée sur les conditions opératoires jugées les plus critiques de la réaction de RT-PCR et sur les différentes cibles (gène d'intérêt et gène de contrôle interne). Le niveau exigé de détection (NED) fixé par le LNR ou, si aucun NED n'est fixé, le niveau de 3 fois la $LD_{(RT)-PCR95\%}$ du gène d'intérêt déterminé lors des essais d'évaluation de la sensibilité par le producteur doit toujours être retrouvé positif, avec au moins 3 répétitions de l'analyse, quelles que soient les conditions expérimentales. La robustesse est testée avec l'échantillon ayant servi à la détermination de la $LD_{(RT)-PCR95\%}$ (ARN-ADN/plasmide dosé).

6.1.6 Stabilité du réactif

Stabilité du kit (non ouvert)

Des éléments de stabilité du réactif dans le temps doivent être fournis par le demandeur (selon la méthode choisie par celui-ci, vieillissement accéléré par exemple). Les études doivent être réalisées sur 3 lots fabriqués dans les conditions finales de production et de commercialisation. Pour le dossier technique, les résultats des études porteront sur au moins un lot, le fournisseur s'engageant à fournir les résultats portant sur deux autres lots au fur et à mesure de leur disponibilité.

L'ensemble des études de stabilité doivent porter au minimum sur 2 échantillons négatifs, 2 échantillons NED (ou équivalent du NED) (ou à défaut 3 fois la LD_{PCR}) et 2 échantillons positifs, et devront donner des résultats conformes au statut des échantillons testés, pendant une durée supérieure à la durée de conservation fixée par le demandeur.

À préciser par le LNR les modalités de l'évaluation de ce paramètre et critères d'acceptation

Stabilité du kit après ouverture et de ses composants reconstitués

Dans le cas où un ou plusieurs composants du réactif peuvent être utilisés plusieurs fois après ouverture ou reconstitution, le demandeur doit fournir des données de stabilité relatives aux durées et conditions de conservation indiquées dans la notice (dont, si nécessaire, le nombre de cycles de congélation/décongélation possible).

6.2 Caractérisation complémentaire de la (RT)PCR pour des techniques quantitatives

Des paramètres complémentaires au 6.1 doivent être étudiés pour les méthodes quantitatives.

6.2.1 Détermination du domaine de linéarité

Il s'agit de la capacité à générer des résultats proportionnels à la concentration de cibles présentes dans une gamme donnée et modélisables par une fonction linéaire. La valeur absolue du biais, mesurée à chaque série d'essais et exprimée en logarithme décimal, doit être inférieure à 0,25.

Le domaine de linéarité devra être déterminé selon les recommandations de la Norme NF U47-600 partie 2⁴.

À préciser par le LNR les modalités de l'évaluation de ce paramètre et critères d'acceptation (cf. guide)

6.2.2 Détermination de la limite de quantification LQ(RT)PCR

La limite de quantification est le plus petit nombre de copies d'acide nucléique cible qui peut être détecté à 100% et quantifié, en conditions de fidélité intermédiaire.

La limite de quantification de la PCR doit être déterminée selon les recommandations de la norme NF U47-600 partie 2.

À préciser par le LNR les modalités de l'évaluation de ce paramètre et critères d'acceptation (cf. guide)

6.3 Caractérisation de la méthode complète (préparation échantillon/extraction/(RT)-PCR) pour des techniques qualitative, quantitative ou semi-quantitative/relative à un MRSI

Le demandeur doit préciser les modalités de préparation des échantillons et de prise d'essai si elles n'ont pas été définies par le LNR.

Les modalités d'interprétation (critères de validité de l'essai, formule de calcul, ...) et de définition du (ou des) seuil(s) d'interprétation sont laissées à l'appréciation du demandeur. Le demandeur doit décrire la méthodologie suivie (nombre et description des échantillons, calculs et statistiques) et les résultats obtenus pour déterminer le(s) seuil(s) selon le(s) objectif(s) d'application.

Le demandeur doit présenter les moyens mis en œuvre pour déterminer les performances des paramètres évalués et les résultats obtenus, comme décrit ci-après.

6.3.1 Caractérisation de la méthode

6.3.1.1 Limite de détection de la méthode ($LD_{\text{méthode}}$)

La limite de détection de la méthode est la plus petite quantité ou teneur de l'analyte par quantité définie de matrice pouvant être détectée de façon répétable (8 fois sur 8 répétitions) dans les conditions expérimentales décrites par la méthode en condition de fidélité intermédiaire ; elle est établie en prenant en compte toutes les étapes de la méthode d'analyse (prise d'essai, préparation de l'échantillon, extraction, (RT)-PCR, etc.) vis-à-vis d'une matrice biologique donnée.

La limite de détection de la méthode complète doit être déterminée selon les recommandations de la norme NF U47-600 partie 2.

À préciser par le LNR les modalités de l'évaluation de ce paramètre et critères d'acceptation (cf. guide)

6.3.1.2 Sensibilité et spécificité diagnostiques (SeD et SpD)

La sensibilité « diagnostique » est la proportion d'échantillons donnant un résultat positif au test soumis au contrôle selon le(s) seuil(s) défini(s) par le demandeur parmi ceux renfermant la cible selon les critères du LNR ou de la réglementation.

La spécificité « diagnostique » est la proportion d'échantillons présentant un résultat négatif au test soumis au contrôle selon le(s) seuil(s) défini(s) par le demandeur parmi les échantillons définis comme négatifs au regard de la cible donnée (cf. chapitre « définitions » de ce CdC).

Ces caractéristiques de la méthode doivent être mesurées à partir d'un panel représentatif d'échantillons du terrain ou issus d'une infection expérimentale.

Un intervalle de confiance des pourcentages est déterminé, intervalle calculé en fonction du nombre d'échantillons testés.

Si le développeur fait appel à un prestataire, il doit transmettre le rapport complet de l'étude collaborative réalisée contenant l'ensemble des résultats obtenus par le prestataire.

À préciser par le LNR, le nombre et les caractéristiques (origine, statut de l'animal, niveau de positivité ...) des échantillons utilisés ainsi que les modalités de réalisation des analyses (par le demandeur et/ou ou externalisés).

⁴ Egalement applicable en santé végétale (sous réserve d'une norme spécifique plus adaptée à disposition)

6.3.1.3 Robustesse de la méthode (optionnelle)

Quand la méthode d'extraction est considérée comme critique, le LNR peut demander une étude (variation du volume de la prise d'essai, température...).

6.3.2 Caractérisation complémentaire pour une méthode quantitative

Des paramètres complémentaires au 6.3.1 doivent être étudiés pour les méthodes quantitatives : **Limite de quantification de la méthode (LQ_{méthode})**, **justesse et fidélité par élaboration du profil d'exactitude**.

La limite de quantification de la méthode est la plus petite quantité ou teneur de l'analyte par quantité définie de matrice permettant, dans des conditions de fidélité intermédiaire, d'obtenir des résultats compris dans un intervalle d'acceptabilité préalablement défini. La valeur de la LQ correspond à la concentration définie au premier niveau du domaine de validation ; elle est établie en prenant en compte toutes les étapes de la méthode d'analyse (prise d'essai, préparation de l'échantillon, extraction, PCR, etc.).

La justesse est l'écart de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée.

La fidélité est l'écart de l'accord entre les valeurs expérimentales obtenues lors de la répétition de la mesure dans les mêmes conditions.

La justesse et la fidélité sont estimées par le profil d'exactitude selon les recommandations de la norme NF U47-600 partie 2. La limite de quantification de la méthode est déduite du profil d'exactitude. La limite de quantification est exprimée, par unité d'échantillon, en logarithme décimal ($\log_{10}$ de copies) de gènes cibles ou de génome équivalent. Le profil d'exactitude doit couvrir *a minima* le domaine de quantification attendu de la méthode. La justesse et la fidélité, composantes de l'exactitude, ne doivent pas dépasser les limites d'acceptabilité du profil d'exactitude définies par le LNR.

À préciser par le LNR, la limite d'acceptabilité du profil d'exactitude.

6.3.3 Caractérisation de la méthode semi-quantitative/relative à un MRSI

Ce type de méthode est dérivé de la méthode quantitative. La méthode est mise en œuvre en routine, sans gamme de quantification, à l'aide d'un matériau de référence au seuil d'interprétation défini (MRSI).

Tous les paramètres de la méthode quantitative doivent être validés ainsi que le paramètre de fidélité suivant : **Fidélité au seuil d'interprétation de la méthode (ou au MRSI, Matériau de référence au seuil d'interprétation)**.

La fidélité au seuil d'interprétation de la méthode complète doit être déterminée selon les recommandations de la norme NF U47-600 partie 2. L'incertitude élargie associée à la fidélité ne doit pas dépasser une limite maximale en Ct ou Cq (Cycle threshold ou seuil du cycle de quantification) préconisée par le LNR.

Limite maximale en Ct/Cq à déterminer par le LNR

Remarque : Dans le cas des réactifs permettant une interprétation basée sur un ou des seuil(s), les modalités d'interprétation (critères de validité de l'essai, formule de calcul, ...) et du (ou des) seuil(s) d'interprétation sont laissées à l'appréciation du demandeur. Le demandeur doit décrire la méthodologie suivie (nombre et description des échantillons, calculs et statistiques) et les résultats obtenus pour déterminer le(s) seuil(s) selon le(s) objectif(s) d'application.

6.4 Synthèse des paramètres de performance et des niveaux d'exigence attendus

Les paramètres, niveaux de performance et résultats attendus sont synthétisés dans un tableau au format présenté du Tableau 1 ci-après. Le fournisseur utilisera ce modèle de tableau pour synthétiser l'ensemble des résultats qu'il aura obtenus.

Un tableau doit être établi pour chacune des matrices et méthodes d'extraction proposées.

Tableau 1. Paramètres évalués *a minima* par le demandeur et présentés dans le dossier de technique pour un test qualitatif, quantitatif ou semi-quantitatif (* à compléter par le LNR)

Paramètres	Performance à évaluer	Moyens mis en œuvre (échantillons et conditions)	Critères d'acceptation
Spécificité analytique° Analyse <i>in silico</i>	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Spécificité analytique° inclusivité	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Spécificité analytique exclusivité	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Limite de détection de la méthode (LD _{PCR})	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Efficacité / linéarité de la PCR	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Robustesse de la PCR	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Vérification de la stabilité	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Domaine de linéarité	Quantitatif/relatif	*	*
Limite de quantification de la PCR	Quantitatif/relatif	*	*
Limite de détection de la méthode (LD _{METHODE})	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Sensibilité diagnostique	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Spécificité diagnostique	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Robustesse de la méthode	Qualitatif/quantitatif/relatif	*	*
Limite de quantification de la méthode (PCR quantitative)	Quantitatif/relatif	*	*
Domaine de validation, justesse et fidélité (Profil d'exactitude de la PCR quantitative)	Quantitatif/relatif	*	*
Fidélité au seuil d'interprétation (PCR relative à un MRSI)	Quantitatif/relatif	*	*

Le LNR doit indiquer les paramètres qu'il vérifie, dont *a minima* la limite de détection (6.1.3, 6.3.1.1, sensibilité analytique). Ce peut être sous forme d'un tableau analogue au tableau 1

Le LNR se réserve, le cas échéant, le droit de vérifier d'autres paramètres en fonction des résultats présentés par le demandeur.

À l'issue du contrôle des documents envoyés par le demandeur et des résultats des paramètres vérifiés par le LNR, ce dernier établit et envoie au demandeur un rapport de contrôle initial ainsi qu'un certificat de contrôle concluant sur la conformité ou non du réactif au cahier des charges du LNR. Dans le cas d'un résultat conforme, le LNR informe la DGAL de la disponibilité d'un nouveau réactif. La liste des kits contrôlés conforme est disponible sur le site de l'ANSES en précisant la technique, le nom du fabricant, le nom et code du kit, le protocole, la matrice et la date de validation.

7. Contrôle de lot

7.1 Contrôle avant commercialisation d'un lot de réactif

Pour les réactifs nécessitant avant leur mise sur le marché, un contrôle de lot (contrôle lot par lot ou de certains lots) de la part du LNR, le demandeur doit fournir au LNR :

- Le formulaire de demande de contrôle reprenant :
 - nom et adresse du demandeur (coordonnées de la personne à qui adresser les résultats ou à contacter si nécessaire)
 - nom et adresse du fabricant
 - nom commercial, dénomination et code produit du réactif
 - nature des échantillons pour lesquels le réactif est utilisable
 - référence de l'acceptation du dossier pour le contrôle initial du réactif (date d'acceptation)
 - numéro de lot et date de péremption du réactif soumis au contrôle
 - taille du lot du réactif (nombre de réactions)
 - liste des éléments du kit avec leur numéro de lot et date de péremption
 - numéro de version de la notice avec identification des éventuels changements.
- Un certificat de contrôle reprenant les résultats des contrôles réalisés par le demandeur avec à minima ceux concernant la limite de détection (sensibilité analytique, 6.1.3, 6.3.1.1)
- La quantité de réactif nécessaire *et précisée par le LNR* pour réaliser les contrôles prévus et pour vérifier éventuellement d'autres paramètres jugés nécessaires par le LNR, en fonction par exemple de retours terrain ou de difficultés observés sur un lot précédent.

Le LNR doit indiquer les paramètres qu'il vérifie, *a minima*, pour les tests qualitatifs, la limite de détection de la technique (RT)-PCR (6.1.3, sensibilité analytique) mais se réserve le droit d'en vérifier d'autres.

À l'issue du contrôle des documents envoyés par le demandeur et des résultats des paramètres vérifiés par le LNR, ce dernier établit un certificat de contrôle, concluant sur la conformité ou non du lot au cahier des charges du LNR, qui est envoyé au demandeur et, si conforme, à la DGAL. La liste des lots contrôlés conforme ou leur certificat est disponible sur le site de l'ANSES en précisant la technique, le nom du fabricant, le nom et code du kit, le numéro de lot, le numéro de notice, le protocole, la matrice, la date d'attestation de conformité et la date de péremption.

Dans le cas d'une évaluation non conforme, le LNR avertit le demandeur en précisant la cause du rejet du lot présenté.

Le contrôle de lot peut être sous-traité par le LNR à un laboratoire indépendant du fabricant et accrédité pour la méthode d'analyse considérée.

7.2 Contrôle en cours de commercialisation

En cas d'anomalie d'un réactif rencontrée sur le terrain, le LNR peut décider de procéder à un nouveau contrôle du lot incriminé et éventuellement d'autres lots en cours de commercialisation. Les paramètres contrôlés dépendront du type d'anomalie observées et pourront correspondre à certains paramètres contrôlés uniquement lors du contrôle initial.