



Catalogue de services 2025

Tests microbiologiques

Tests utilisant des méthodes physico-chimiques

Edition 2025
Version 1.0

Table des matières

1. Tests utilisant des méthodes microbiologiques.....	2
1.1 Test de produits stériles.....	2
1.2 Test de produits non stériles.....	2
1.3 Tests de détection des endotoxines bactériennes.....	2
1.3.1 Ph. Eur.: 2.6.14 Test LAL - Détection ou détermination des endotoxines des bactéries Gram négatives à l'aide de lysat d'amœbocytes de <i>Limulus</i>	2
1.3.2 Ph. Eur.: 2.6.32 Recherche d'endotoxines bactériennes avec le facteur C recombinant (rFC).....	4
1.4 Test des eaux.....	4
2. Tests utilisant des méthodes physico-chimiques.....	5
2.1 Comptage des particules – Particules non visibles.....	5
2.2 Détermination des chlorures.....	5
2.2.1 Test de la valeur limite.....	5
2.2.2 Détermination du contenu total.....	5

1. Tests utilisant des méthodes microbiologiques



1.1 Test de produits stériles

Ces analyses sont réalisées sur des solutions aqueuses stériles (médicaments parentéraux, solutions d'extraction ou de rinçage et autres solutions stériles), des solides hydrosolubles, des liquides huileux ainsi que des pommades et des crèmes. Un test de stérilité est effectué pour montrer que les produits examinés sont exempts de contamination microbiologique.

Service	Référence
Test de stérilité par filtration sur membrane (membrane MCE)	7130015
Test de stérilité par filtration sur membrane (membrane PDF)	7130016
Test de stérilité avec inoculation directe	7130005
Validation du test de stérilité par colonie bactérienne (6 souches de la même colonie sont nécessaires)	7130020

1.2 Test de produits non stériles

Cette analyse est réalisée pour déterminer la charge microbienne (comptage de la population de micro-organismes viables) sur ou dans des produits (notamment des dispositifs médicaux), des composants, des matières premières ou des emballages.

Les tests des produits non stériles sont effectués selon les spécifications suivantes :

- DIN EN ISO 11737-1 10-2021: Stérilisation des dispositifs médicaux - Procédés microbiologiques-Partie 1 : Détermination de la population de micro-organismes sur les produits
- Ph. Eur. 2.6.12: Contrôles microbiologiques des produits non stériles : comptage du nombre total de germes capables de se reproduire
- Ph. Eur. 5.1.4: Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques
- USP 61: Microbial limit tests

Il y a en outre les tests de stabilité (concernant la conservation des produits) qui se réfèrent aux spécifications suivantes:

- Ph. Eur. 5.1.3: Test de l'efficacité de la conservation
- USP 51: Antimicrobial Effectiveness Testing

Service	Référence
Détermination de la charge microbienne (Bioburden)	7140005
Comptage des germes de surface	7150025
Détermination d'une conservation antimicrobienne suffisante	7130018
Test de bandelettes de spores	7100011

1.3 Tests de détection des endotoxines bactériennes

1.3.1 Ph. Eur.: 2.6.14 Test LAL - détection ou détermination des endotoxines des bactéries Gram négatives à l'aide de lysat d'amœbocytes de limule

1.3.1.1 Méthodes par gélification

Les méthodes de gélification se divisent en tests limites (méthode A) et détermination quantitative (méthode B). Ces méthodes reposent sur la réaction du lysat d'amœbocytes de limule avec des endotoxines bactériennes à environ 37 °C, ce qui entraîne la formation d'un gel.

Service	Référence
Validation de la détermination des endotoxines selon la méthode A, Ph. Eur. & USP (gélification)	7111017
Détermination des endotoxines (quantitative) selon la méthode B, Ph. Eur. & USP (gélification)	7112005
Test limite d'endotoxines selon la méthode A, Ph. Eur. & USP (gélification)	7113004
Caractérisation des produits selon la méthode B, Ph. Eur. & USP (gélification)	7112024

(Les références 7112005 & 7113004 concernent les analyses de produits qui ont été préalablement été validés avec succès sur au moins trois lots de production)

1.3.1.2 Méthode turbidimétrique cinétique

Le test repose sur la réaction du lysat d'amœbocytes de limule avec des endotoxines bactériennes à environ 37 °C, ce qui entraîne une turbidité de la solution. Cette turbidité est mesurée par photométrie. Le temps de réaction (*onset time*) est le temps qui s'écoule jusqu'à ce qu'une valeur seuil souhaitée de turbidité soit atteinte ; il correspond à la teneur en endotoxines d'un échantillon. Ce temps de réaction ainsi que les logarithmes en base 10 des différentes concentrations de la solution étalon utilisée lors du test peuvent être représentés avec un graphique cartésien de l'évolution de la turbidité en fonction du temps. La limite inférieure de détection des endotoxines dans une solution de test est de 0,001 U.I./ml.

Service	Référence
Validation de la détermination des endotoxines selon la méthode C, Ph. Eur. & USP (turbidimétrie cinétique)	7111018
Détermination des endotoxines (quantitative) selon la méthode C, Ph. Eur. & USP (turbidimétrie cinétique)	7112010
Test limite d'endotoxines selon la méthode C, Ph. Eur. & USP (turbidimétrie cinétique)	7113005
Caractérisation des produits selon la méthode C, Ph. Eur. & USP (turbidimétrie cinétique)	7112025

(Les références 7112010 & 7113005 concernent les analyses de produits qui ont été préalablement été validés avec succès sur au moins trois lots de production)

1.3.1.3 Méthode chromogénique cinétique

Les endotoxines catalysent l'activation d'une proenzyme dans le lysat d'amœbocytes de limule. L'activation est déterminée par la concentration d'endotoxines. L'enzyme activée catalyse la séparation de la p-nitroaniline (pNA) du substrat incolore (Ac-Ile-Glu-Ala-Arg-pNA). La teneur d'endotoxines d'un échantillon est calculée en comparant son temps de réaction avec le temps de réaction de solutions étalons contenant des quantités connues d'endotoxine standard (courbe standard). La courbe standard a généralement des concentrations d'endotoxines qui vont de 0,001 à 1,0 U.I./ml.

Service	Référence
Validation de la détermination des endotoxines selon la méthode D, Ph. Eur. & USP (chromogénie cinétique)	7111016
Détermination des endotoxines (quantitative) selon la méthode D, Ph. Eur. & USP (chromogénie cinétique)	7112015
Test limite d'endotoxines selon la méthode D, Ph. Eur. & USP (chromogénie cinétique)	7113006
Caractérisation des produits selon la méthode D, Ph. Eur. & USP (chromogénie cinétique)	7112026

1.3.2 Ph. Eur.: 2.6.32 Recherche d'endotoxines bactériennes avec le facteur C recombinant (rFC)

Ce test est basé sur la séquence génétique du limule. Il utilise une méthode fluorométrique.

Dans le domaine de la détermination des endotoxines bactériennes, la méthode rFC est décrite dans un chapitre distinct de la Pharmacopée européenne (Ph. Eur. 2.6.32). Elle offre les avantages suivants par rapport au test du lysat d'amœbocytes de limule (LAL):

- Pas de résultats faussement positifs dus à la présence de β -glucanes
- Sensibilité plus élevée
- Méthode alternative économe en ressources et durable

La plage de mesure couvre généralement des concentrations d'endotoxines de 0,001 à 1,0 UI/ml.

Service	Référence
Validation de la détermination des endotoxines selon la méthode rFC, Ph. Eur.	7213001
Détermination des endotoxines (quantitative) selon la méthode rFC, Ph. Eur.	7112015
Test limite d'endotoxines selon la méthode rFC, Ph. Eur.	7213005
Caractérisation des produits selon la méthode rFC, Ph. Eur.	7213015

1.4 Test des eaux

Le laboratoire ACILA réalise des tests de pureté de l'eau pour injection (WFI).

Les méthodes suivantes sont accréditées:

1. Tests selon la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.)
 - Tests des produits stériles
 - Tests de produits non stériles
 - Recherche d'endotoxines bactériennes
 - Tests de particules
2. Tests selon les procédures normatives:
 - DIN ISO 11737-1 10-2021: Stérilisation des dispositifs médicaux - Procédés microbiologiques-Partie 1: Détermination de la population de micro-organismes sur les produits
 - DIN EN ISO 9308-1 2017-09: Qualité de l'eau - Dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes - Partie 1: Procédé de filtration sur membrane des eaux à faible flore accompagnante
 - DIN EN ISO 7899-2 2000-11: Qualité de l'eau - Détection et comptage des entérocoques intestinaux - Partie 2: Méthode par filtration membranaire
 - DIN EN ISO 16266 2008-05: Qualité de l'eau - Détection et comptage de *Pseudomonas aeruginosa* - Méthode de filtration sur membrane
 - DIN EN ISO 6222 1999-07: Qualité de l'eau - Détermination quantitative des micro-organismes cultivables - Détermination du nombre de colonies par inoculation dans un milieu gélosé nutritif
 - DIN EN ISO 11731 2019-03: Qualité de l'eau - Comptage des légionelles

2. Tests utilisant des méthodes physico-chimiques



2.1 Comptage des particules – Particules non visibles

Cette méthode détecte les particules « invisibles » (granulométrie entre 10 µm et 25 µm) qui ont été introduites accidentellement dans des solutions ou des récipients, à la suite d'une contamination par des particules étrangères non dissoutes (exceptions : bulles de gaz).

Service	Référence
Comptage de particules par blocage de la lumière	7100025
Comptage de particules à l'aide d'un microscope	7100026

Valeurs limites selon Ph. Eur.:

Volume des conteneurs	Taille des particules	Méthode	
		Blocage de la lumière	Microscope
≤ 100 ml	≥ 10 µm	< 6.000 Particules / conteneur	< 3.000 Particules / Conteneur
	≥ 25 µm	< 600 Particules / conteneur	< 300 Particules / conteneur
> 100 ml	≥ 10 µm	< 25 / ml	< 12 / ml

2.2 Détermination des chlorures

2.2.1 Test de la valeur limite

Détermination de la teneur en ions chlorure dans l'eau par mesure photométrique de la turbidité qui se produit lors de la précipitation du nitrate d'argent en présence d'acide nitrique dilué. En raison de sa grande sensibilité, ce test est particulièrement utilisé comme test limite pour les contrôles de pureté.

Service	Référence
Détermination des chlorures (test de la valeur limite)	7210012

2.2.2 Détermination du contenu total

La teneur en chlorure est déterminée par titrage potentiométrique. Pour cela, une électrode combinée métallique pour titrages d'halogénures (AgCl 65, tige en verre, diaphragme en platine) est immergée dans la solution d'analyse. La teneur est déterminée par ajout d'une solution de nitrate d'argent dans l'acide nitrique.

Au point d'équivalence, le potentiel augmente significativement et peut donc être évalué par des méthodes conventionnelles.

Service	Référence
Détermination des chlorures (contenu total) dans l'eau ou dans des solutions aqueuses	7210010