

---

---

**Microbiologie des aliments — Exigences  
spécifiques et lignes directrices pour les  
essais d'aptitude par comparaison  
interlaboratoires**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Specific requirements  
and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO/TS 22117:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010>



**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/TS 22117:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2010

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	iv
Introduction.....	v
1 <b>Domaine d'application .....</b>	<b>1</b>
2 <b>Références normatives .....</b>	<b>1</b>
3 <b>Termes et définitions .....</b>	<b>2</b>
4 <b>Conception du programme et application .....</b>	<b>2</b>
4.1 <b>Généralités .....</b>	<b>2</b>
4.2 <b>Objectifs du programme .....</b>	<b>3</b>
4.3 <b>Exigences en termes de laboratoires pour les programmes .....</b>	<b>3</b>
4.4 <b>Choix des matrices d'essai .....</b>	<b>3</b>
4.5 <b>Informations sur les méthodes d'essais utilisées par les fournisseurs d'essai d'aptitude .....</b>	<b>3</b>
4.6 <b>Modèle statistique .....</b>	<b>4</b>
5 <b>Exigences techniques et recommandations pour la conception et la teneur des échantillons.....</b>	<b>4</b>
5.1 <b>Niveau d'organismes cible .....</b>	<b>4</b>
5.2 <b>Sources, caractérisation et traçabilité des organismes.....</b>	<b>5</b>
5.3 <b>Flore annexe et compétitive .....</b>	<b>5</b>
5.4 <b>Sélection de la matrice et effets de matrice .....</b>	<b>5</b>
6 <b>Vérification des échantillons par le fournisseur .....</b>	<b>6</b>
6.1 <b>Généralités .....</b>	<b>6</b>
6.2 <b>Essai d'homogénéité d'échantillons — considérations générales .....</b>	<b>6</b>
6.3 <b>Essai d'homogénéité pour des échantillons quantitatifs (de dénombrement) .....</b>	<b>6</b>
6.4 <b>Essai d'homogénéité pour des méthodes qualitatives .....</b>	<b>8</b>
6.5 <b>Essai de stabilité par le fournisseur .....</b>	<b>8</b>
7 <b>Manipulation des échantillons .....</b>	<b>9</b>
7.1 <b>Généralités .....</b>	<b>9</b>
7.2 <b>Instruction pour les participants .....</b>	<b>9</b>
8 <b>Évaluations des performances .....</b>	<b>9</b>
8.1 <b>Généralités .....</b>	<b>9</b>
8.2 <b>Considérations préliminaires .....</b>	<b>10</b>
8.3 <b>Méthodes quantitatives.....</b>	<b>10</b>
8.4 <b>Évaluation de méthodes qualitatives .....</b>	<b>18</b>
<b>Annexe A (informative) Exemple de détails à inclure dans une planification de programme d'essai d'aptitude.....</b>	<b>21</b>
<b>Annexe B (informative) Méthodes de test des variations entre les parties aliquotes de matériaux d'essai.....</b>	<b>23</b>
<b>Annexe C (informative) Une méthode pratique pour évaluer les performances à long terme des participants dans des programmes d'essai d'aptitude utilisant des méthodes de dénombrement.....</b>	<b>26</b>
<b>Annexe D (informative) Exemple de fiche de données de sécurité .....</b>	<b>28</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>30</b>

## 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.

Dans d'autres circonstances, en particulier lorsqu'il existe une demande urgente du marché, un comité technique peut décider de publier d'autres types de documents:

- une Spécification publiquement disponible ISO (ISO/PAS) représente un accord entre les experts dans un groupe de travail ISO et est acceptée pour publication si elle est approuvée par plus de 50 % des membres votants du comité dont relève le groupe de travail;
- une Spécification technique ISO (ISO/TS) représente un accord entre les membres d'un comité technique et est acceptée pour publication si elle est approuvée par 2/3 des membres votants du comité.

Une ISO/PAS ou ISO/TS fait l'objet d'un examen après trois ans afin de décider si elle est confirmée pour trois nouvelles années, révisée pour devenir une Norme internationale, ou annulée. Lorsqu'une ISO/PAS ou ISO/TS a été confirmée, elle fait l'objet d'un nouvel examen après trois ans qui décidera soit de sa transformation en Norme internationale soit de son annulation.

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/TS 22117 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

## Introduction

Les exigences générales d'organisation des programmes d'essai d'aptitude de tout type sont précisées par l'ISO/CASCO (Comité pour l'évaluation de la conformité) dans l'ISO/CEI 17043 et une recommandation générale est également disponible auprès de l'UICPA (Union internationale de chimie pure et appliquée, voir Référence [9]) et l'ILAC (Coopération internationale sur l'agrément des laboratoires d'essais, voir Référence [8]). Toutefois, ces recommandations peuvent ne pas être directement applicables à tous les cas et il convient de les interpréter spécifiquement pour les différents secteurs de laboratoire où les programmes d'essai d'aptitude sont organisés. De ce fait, il est nécessaire d'établir un document définissant les critères auxquels un fournisseur (et collaborateurs associés) de programmes d'essai d'aptitude doit satisfaire afin de reconnaître ses compétences à fournir des programmes d'essai d'aptitude pour des analyses microbiologiques. Cela s'applique notamment aux exigences techniques spécifiques nécessaires au traitement de micro-organismes vivants, telles que l'homogénéité et la stabilité des échantillons, ainsi qu'à l'interprétation des essais de présence/absence (détection) qui n'est actuellement couverte par aucun document.

Les programmes d'essai d'aptitude pour les laboratoires de microbiologie servent principalement à évaluer les performances, notamment la justesse (biais) et, dans certains cas, la fidélité des examens microbiologiques des aliments dans des laboratoires spécifiques.

En outre, les données provenant de tels programmes d'essai d'aptitude peuvent servir à:

- a) fournir des informations aux organisations responsables de l'acceptation de laboratoires dans un cadre de contrôle officiel ou à permettre une surveillance en continu;
- b) contribuer à l'accréditation des laboratoires dans un cadre général de management de la qualité;
- c) informer les personnes en charge de la qualité dans les laboratoires participants, en tant qu'éléments de formation sur l'évaluation qualité externe de la justesse (biais).

Les informations provenant des programmes d'essai d'aptitude peuvent également être utilisées afin:

- 1) d'identifier les sources d'erreurs éventuelles, notamment la composante de biais de l'incertitude, pour améliorer les performances;
- 2) d'estimer l'incertitude de mesure pour des méthodes de dénombrement (voir l'ISO/TS 19036<sup>[6]</sup>) et les limites de détection des méthodes de présence/absence;
- 3) de démontrer la compétence du personnel à procéder à un examen microbiologique spécifique;
- 4) d'évaluer et de valider une méthode donnée par l'étude de justesse et de fidélité;
- 5) d'identifier la variabilité entre les différents laboratoires;
- 6) d'assigner une valeur «cible» à un analyte dans un matériau afin d'établir un matériau de référence.

Cependant, ces aspects ne sont pas spécifiquement couverts par la présente Spécification technique.

Les programmes d'essai d'aptitude sont, par conséquent, organisés de sorte à satisfaire à certains critères et le programme d'essai (fréquence, nombre d'échantillons, nombre de répétitions, etc.) doit satisfaire aux exigences du type de méthode utilisée et de produit analysé, afin de parvenir au niveau de contrôle souhaité par toutes les parties impliquées.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO/TS 22117:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010>

# Microbiologie des aliments — Exigences spécifiques et lignes directrices pour les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires

## 1 Domaine d'application

La présente Spécification technique fournit des exigences et des recommandations relatives à l'organisation de programmes d'essai d'aptitude pour les examens microbiologiques concernant:

- a) les aliments et les boissons;
- b) les aliments pour animaux;
- c) les environnements de production des aliments et la manipulation de ces aliments;
- d) les étapes de production primaire.

Éventuellement, la présente Spécification technique peut également s'appliquer à l'examen microbiologique de l'eau si celle-ci est utilisée dans la production alimentaire ou si la législation nationale la considère comme un aliment.

La présente Spécification technique concerne l'organisation technique et la mise en œuvre de programmes d'essai d'aptitude et également le traitement statistique des résultats des examens microbiologiques.

La présente Spécification technique est destinée à être utilisée avec l'ISO/CEI 17043 et l'ISO 13528 et ne traite que des domaines où des détails spécifiques ou supplémentaires sont nécessaires pour les programmes d'essai d'aptitude traitant des analyses microbiologiques pour les domaines spécifiés dans le premier alinéa.

## 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 3534-1, *Statistique — Vocabulaire et symboles — Partie 1: Termes statistiques généraux et termes utilisés en calcul des probabilités*

ISO 3534-2, *Statistique — Vocabulaire et symboles — Partie 2: Statistique appliquée*

ISO 5725-1, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 1: Principes généraux et définitions*

ISO 5725-5, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 5: Méthodes alternatives pour la détermination de la fidélité d'une méthode de mesure normalisée*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

ISO 13528, *Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires*

ISO/CEI 17043:2010, *Évaluation de la conformité — Exigences générales concernant les essais d'aptitude*

### 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 3534-1, l'ISO 3534-2, l'ISO 5725-1, l'ISO 13528, l'ISO/CEI 17043, ainsi que les suivants s'appliquent.

NOTE 1 Certains termes utilisés dans le texte ont des significations différentes en microbiologie et statistique, par exemple: homogénéité; hétérogénéité; essai; échantillon; distribution. Le contexte indique si les termes se rapportent aux échantillons d'essais microbiologiques ou aux ensembles de données utilisés pour l'analyse statistique.

NOTE 2 Certains fournisseurs d'essais d'aptitude utilisent le terme «évaluation externe de la qualité» pour désigner des programmes plus larges s'appliquant à tous les domaines d'intervention d'un laboratoire et à une attribution éducative particulière. Les exigences de la présente Spécification technique couvrent celles des activités d'évaluation externe de la qualité qui satisfont à la définition de l'essai d'aptitude.

#### 3.1

##### **organisme cible**

micro-organisme qui est l'analyte désigné pour un échantillon d'essai d'aptitude

#### 3.2

##### **flore annexe**

micro-organismes inclus dans un échantillon d'essai d'aptitude qui peuvent être introduits pour entrer en compétition avec le micro-organisme cible ou pour l'imiter

#### 3.3

##### **souche de référence**

micro-organisme obtenu directement auprès d'une collection officielle de cultures, défini au moins par son genre et son espèce, classé et décrit selon ses caractères et issu, de préférence, de produits alimentaires ou d'eau, selon le cas échéant

[ISO/TS 11133-1:2009<sup>[3]</sup>, 3.3.2]

#### 3.4

##### **pourcentage de récupération**

proportion de la valeur attribuée à l'organisme cible retrouvée par le participant

NOTE 1 Le pourcentage de récupération est calculé en multipliant par 100 le nombre d'unités formant colonie (ufc) récupérées par volume ou par masse.

NOTE 2 Le pourcentage de récupération peut être bien inférieur à 100 % quand une flore compétitive et des effets de matrice sont présents dans un échantillon d'essai d'aptitude.

### 4 Conception du programme et application

#### 4.1 Généralités

Des exigences générales de conception des programmes d'essai d'aptitude sont données dans l'ISO/CEI 17043; dans le présent article, seuls les domaines nécessitant des considérations spécifiques pour les programmes d'essai d'aptitude relatifs à la microbiologie sont évoqués dans le contexte de ces principes généraux.



## 4.2 Objectifs du programme

En premier lieu, un programme d'essai d'aptitude vise à fournir des informations permettant aux laboratoires d'avoir confiance en la fiabilité de leurs résultats.

Les exigences détaillées requises pour un plan documenté d'un programme d'essai d'aptitude sont couvertes par l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.1.3 et il convient que le plan fasse également référence à toute législation pertinente. L'Annexe A donne un exemple de plan pour un programme d'examen typique des aliments en microbiologie.

Les études nécessaires à la mise en œuvre d'un nouveau programme d'essai d'aptitude sont nombreuses et doivent être clairement définies dans les objectifs du programme. Il convient qu'elles comprennent au moins les exigences répertoriées dans l'Article 5. Il convient également que les exigences en termes de vérification des différents cycles d'essai, comprenant l'essai d'homogénéité et de stabilité, soient également définies dans la conception du programme et soient appropriées aux objectifs du programme.

## 4.3 Exigences en termes de laboratoires pour les programmes

Les exigences générales en matière d'installations de laboratoire appropriées pour le traitement de tous les aspects des programmes d'essai d'aptitude sont données dans l'ISO/CEI 17043:2010, 4.3.1 et l'ISO/CEI 17043:2010, 4.6.2.4 couvre les exigences en matière de sécurité.

Pour les programmes en microbiologie, les fournisseurs doivent disposer d'une politique documentée attirant l'attention des participants sur les risques et garantissant qu'un conseil avisé en matière de sécurité est dispensé (voir Article 7). Par exemple, les laboratoires en microbiologie alimentaire doivent disposer d'installations permettant de traiter des micro-organismes appartenant aux catégories de risque 1, 2 et 3, le cas échéant (voir l'ISO 7218:2007, 3.2).

## 4.4 Choix des matrices d'essai

ISO/TS 22117:2010

Les exigences générales concernant la documentation du choix des matrices d'essai dans le plan du programme sont données dans l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.1.3 et le choix des matrices destinées à refléter les types d'échantillons de routine dans l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.2.3.

Il convient que les raisons motivant le choix du type de matrice soient explicitées, par exemple permettre des niveaux de stabilité et d'homogénéité d'échantillons satisfaisant aux objectifs annoncés par le programme.

La description des échantillons d'essai doit spécifier la matrice d'échantillon (naturelle ou simulée); s'il s'agit de contamination artificielle ou naturelle; la source et le pays d'origine pour la conformité aux législations internationales sur le transport; ainsi que toute méthode de conservation utilisée, par exemple lyophilisation, produit sec.

## 4.5 Informations sur les méthodes d'essais utilisées par les fournisseurs d'essai d'aptitude

Les exigences générales relatives aux méthodes à utiliser par le fournisseur d'essai d'aptitude sont données dans l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.1.3.

Si le programme est orienté sur un ou plusieurs essais spécifiés dans ou imposés par la législation, les essais de contrôle qualité de routine sur les échantillons du programme (par exemple homogénéité et stabilité) doivent être entrepris conformément aux méthodes stipulées dans cette législation et il doit en être fait mention (ISO/CEI 17043:2010, 4.5.1).

Les participants doivent être encouragés à utiliser leurs méthodes de routine, mais s'ils entreprennent des essais conformément à la législation, un certain niveau de recommandation doit être donné, par exemple faire référence à des méthodes ISO, à des textes législatifs, à des publications revues par les pairs (ISO/CEI 17043:2010, 4.5.1).

## 4.6 Modèle statistique

Les exigences générales du modèle statistique sont données dans l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.4.

Les grandes lignes du modèle statistique concernant les programmes d'essai d'aptitude en microbiologie doivent faire mention de l'incidence du niveau d'homogénéité du matériau d'essai sur les tests statistiques à utiliser, lequel matériau est, à son tour, influencé par la variation aléatoire dans la distribution des micro-organismes.

Excepté pour des faibles dénombrements, une distribution log-normale est généralement attendue dans les données d'essai quantitatives et des méthodes d'analyse statistique appropriées doivent être utilisées pour de telles données [ISO/CEI 17043:2010, B.3.1.4 d)]. Si des faibles dénombrements sont nécessaires dans les échantillons d'essais quantitatifs (par exemple examen de l'eau ou d'une boisson), un modèle de Poisson aléatoire est plus applicable, la variation en nombres d'organismes entre les différentes unités de matériau devenant relativement importante et pouvant masquer des variations de performance.

L'homogénéité de l'échantillon doit normalement être telle qu'elle n'influence pas de manière significative les variations observées entre laboratoires.

Les essais de dénombrement semi-quantitatifs et les essais de détection qualitatifs impliquent des procédés statistiques différents pour analyser les données, lesquels sont plus amplement évoqués en 8.3 et 8.4.

La planification du programme doit clarifier les distinctions entre essais de performance pour des méthodes de détection et ceux pour le dénombrement des micro-organismes cible.

## iTeh STANDARD PREVIEW

## 5 Exigences techniques et recommandations pour la conception et la teneur des échantillons

### 5.1 Niveau d'organismes cible

ISO/TS 22117:2010

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010)

[afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2f3c43e3-7f61-454b-91b6-afb5cb8e152e/iso-ts-22117-2010)

Les organismes cible doivent être fournis à des niveaux permettant de démontrer que les méthodes d'examen répondent aux besoins et qu'elles reflètent des niveaux susceptibles de survenir dans des matrices d'échantillons soumises à l'essai (ISO/CEI 17043:2010, 4.4.2.3). Si des bactéries pathogènes sont la cible, il convient que leurs niveaux prennent en compte et reflètent les niveaux susceptibles de présenter des risques pour la santé humaine et, le cas échéant, toute limite spécifiée dans les critères microbiologiques.

NOTE Le niveau représentant un danger pour la santé de l'homme n'est pas toujours connu précisément et dépend de la sensibilité des individus. L'objectif d'un examen des pathogènes consiste à prévenir la maladie et également à détecter des pathogènes à un très faible niveau avant qu'ils puissent atteindre un stade de développement supérieur.

Pour des méthodes quantitatives (dénombrement), le niveau cible doit être approprié aux niveaux trouvés traditionnellement dans les matrices d'échantillons utilisées et aux spécifications réglementaires applicables aux matrices d'échantillons utilisées. Il convient également quelquefois d'utiliser le niveau cible à proximité de la limite de quantification de méthodes de routine afin de mettre à l'épreuve les performances des participants dans la plage applicable de la méthode. Cependant, il convient que l'échantillon ne soit pas distribué avec des niveaux d'organismes si faibles qu'avec les dilutions habituelles, le nombre moyen attendu d'organismes dans l'échantillon soit inférieur à 10 colonies par boîte.

Pour des méthodes qualitatives (détection), les organismes cible doivent généralement être d'un niveau suffisamment faible pour fournir une épreuve valide pour la méthodologie et pour fournir des données pour des exercices de validation permettant de définir ou de vérifier les limites de détection pour différents laboratoires participants.

## 5.2 Sources, caractérisation et traçabilité des organismes

Les caractéristiques des organismes cible doivent être établies avant d'en faire usage afin d'évaluer de manière fiable les performances, notamment dans des programmes où les participants sont autorisés à utiliser différentes méthodologies.

Il convient que les souches typiques et atypiques soient considérées et incluses dans le programme pour mettre à l'épreuve les performances des laboratoires.

Il convient que les souches de référence reconnues provenant de collections internationales soient utilisées si elles conviennent mieux aux objectifs du programme; cependant, les isolats de laboratoire ou les souches «sauvages» isolées à partir des matrices utilisées dans les programmes d'essai d'aptitude sont utiles pour refléter plus précisément des situations de routine. Si elles sont utilisées, il convient qu'elles soient suffisamment caractérisées selon les méthodes de référence appropriées décrites dans des Normes internationales pour garantir le fait que toute réaction atypique soit manifeste pour les organisateurs avant utilisation.

Il convient dans tous les cas que les organismes utilisés dans les échantillons de programmes d'essai d'aptitude puissent être tracés pour remonter à la collection de culture concernée ou pour valider des données de caractérisation détenues par les organisateurs.

Dans certaines circonstances, il peut ne pas être possible d'utiliser les matériaux et cultures de référence provenant des collections internationalement reconnues ou des souches de laboratoire cultivées, par exemple pour des programmes d'essai d'aptitude relatifs à des organismes non cultivables tels que les norovirus humains. Dans de telles circonstances, le matériau clinique peut être utilisé pour contaminer une matrice d'essai artificiellement, soit par immersion, pulvérisation ou, dans le cas d'un mollusque bivalve, par bioaccumulation. Il convient que la méthode de contamination artificielle se rapproche le plus possible de la voie naturelle de contamination. Il convient d'apporter un soin extrême à la manipulation d'échantillons de matériau clinique humain, de vomi ou de déchet fécal et il convient d'y dépister des pathogènes supplémentaires avant utilisation. Il convient que les virus cible soient caractérisés intégralement pour les niveaux de souche par réaction de polymérisation en chaîne puis par séquençage.

## 5.3 Flore annexe et compétitive

La flore totale des échantillons, contaminés naturellement ou artificiellement, doit être choisie pour évaluer la capacité des participants à détecter et/ou à dénombrer des organismes cible en présence d'une flore annexe non ciblée (typique des matrices d'échantillons) et des organismes cible présumés qui, sans essais de confirmation appropriés, peuvent générer des résultats faussement positifs.

Toute souche utilisée pour simuler la flore annexe doit satisfaire aux exigences de 5.2 pour la caractérisation et la traçabilité. Dans des échantillons naturellement contaminés, les effets de toute flore annexe sur l'organisme cible doivent être déterminés.

## 5.4 Sélection de la matrice et effets de matrice

Toutes les matrices doivent être évaluées avant l'utilisation afin de contrôler tout effet sur la flore cible et annexe, par exemple si les matrices réduisent la récupération des organismes artificiellement contaminés.

Les participants doivent connaître la nature de la matrice alimentaire si de telles matrices sont connues pour influencer négativement sur la récupération de micro-organismes, par exemple celles qui se lient et retiennent des cellules telles que les matières grasses ou celles qui ont des propriétés bactériostatiques ou bactéricides. Des modes opératoires de préparation validés et appropriés doivent être inclus pour en informer les participants.

Les matrices d'échantillons utilisées pour des programmes d'essai d'aptitude en microbiologie sont souvent, mais pas nécessairement, stérilisées avant utilisation. Si des échantillons naturels non stérilisés sont distribués, les organisateurs doivent déterminer l'effet de la microflore annexe des échantillons.

## 6 Vérification des échantillons par le fournisseur

### 6.1 Généralités

Les exigences générales de vérification des échantillons sont données dans l'ISO/CEI 17043 et l'ISO 13528 (pour information, voir également la Référence [9]); le présent article détaille les exigences spécifiques et les problèmes d'essai d'homogénéité et de stabilité dans les matériaux contenant des micro-organismes vivants.

### 6.2 Essai d'homogénéité d'échantillons — considérations générales

(Voir également l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.3 et B.5.)

Les essais d'aptitude peuvent impliquer la préparation d'un matériau d'essai en vrac qui est ensuite sous-divisé en prises d'essai individuelles aussi similaires que possible pour une distribution aux participants. Alternativement, ces prises d'essai peuvent être inoculées individuellement avant distribution.

Indépendamment de la méthode de préparation utilisée, le matériau d'essai doit être évalué en termes d'homogénéité, normalement avant, mais également au moment des essais pour des matériaux frais instables.

Il convient qu'un essai d'homogénéité soit réalisé sur chaque lot d'échantillons, reposant sur des principes statistiques appropriés (ISO/CEI 17043:2010, 4.4.3.2 et B.5). De tels essais sont donnés dans l'ISO 13528 ou, en alternative, en Annexe B.

Il est également nécessaire de procéder à un essai d'homogénéité si les matériaux doivent être stockés durant des périodes de temps plus longues afin de s'assurer du respect des critères avant utilisation. Il convient que le nombre d'échantillons soumis à essai pour chaque lot soit également suffisant pour obtenir des informations continues sur l'homogénéité du lot; 10 échantillons (soumis à des essais en double si nécessaire) est le nombre suggéré.

Un matériau d'essai ne présentant pas une homogénéité suffisante peut encore être utilisé dans un cycle d'essai d'aptitude (ISO/CEI 17043:2010, 4.4.3.1, Note 3), à condition que les principes statistiques appropriés soient utilisés pour tenir compte de la plus grande variance entre les échantillons (voir l'ISO 13528). Pour réduire au minimum les effets du manque d'homogénéité sur l'évaluation de la performance des participants, il convient d'utiliser un plan statistique pour des matériaux hétérogènes comprenant une analyse en double de plusieurs échantillons (voir l'ISO 5725-5).

### 6.3 Essai d'homogénéité pour des échantillons quantitatifs (de dénombrement)

Les exigences générales et modes opératoires permettant de soumettre des matériaux d'essai d'aptitude quantitatifs à des essais d'homogénéité sont donnés dans l'ISO/CEI 17043:2010, 4.4.3 et B.5) et l'ISO 13528.

Dans les essais interlaboratoires, il convient de ne pas utiliser de matériaux présentant une variation inter-unités suffisamment importante pour interférer de manière significative sur l'évaluation des performances des laboratoires, sauf si des exigences et des méthodes d'analyse de données spécifiques s'appliquent, par exemple de faibles nombres de micro-organismes dans de l'eau potable et autres échantillons.

Le critère «suffisamment homogène» est défini par les exigences de comparaison interlaboratoires (voir l'ISO 13528 et l'Annexe B). Cependant, en général, un matériau pour lequel un écart-type inter-unités (sur l'échelle transformée de manière appropriée) est  $\leq 0,3 \sigma_p$ , où  $\sigma_p$  est l'écart-type cible utilisé pour évaluer la performance des laboratoires, est considéré comme suffisamment homogène (voir l'ISO 13528).

Il convient que tout autre essai d'homogénéité satisfasse aux critères suivants (repris de la Référence [9]):

- a) il convient que la probabilité de rejet d'un matériau d'essai suffisamment homogène soit  $\leq 5 \%$ ;
- b) la probabilité de rejeter un matériau d'essai dans lequel la variation inter-unités représente  $1,5 \sigma_p$ , où  $\sigma_p$  est la variation interlaboratoires acceptable (exprimée comme un écart-type cible) est  $\geq 80 \%$ .