
**Microbiologie des aliments — Réaction
de polymérisation en chaîne (PCR) pour
la détection et la quantification des
micro-organismes pathogènes dans les
aliments — Caractéristiques de
performance**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain
reaction (PCR) for the detection and quantification of food-borne
pathogens — Performance characteristics*

ISO 22118:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22118:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2011

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

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 22118 a été élaborée par le comité technique CEN/TC 275, *Analyse des produits alimentaires — Méthodes horizontales*, du Comité européen de normalisation (CEN) en collaboration avec le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

[ISO 22118:2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>

Introduction

Des méthodes de détection moléculaires ont été développées ces dernières décennies et sont désormais disponibles pour la majeure partie des micro-organismes pathogènes présents dans les aliments. Certaines de ces méthodes offrent des possibilités d'analyses quantitatives.

Bien que de nos jours la plupart des méthodes soient basées sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et la PCR en temps réel, il convient de tenir compte d'autres principes de détection moléculaire et de quantification.

Pour comparer les méthodes moléculaires avec des méthodes traditionnelles ou basées sur d'autres principes, il est nécessaire d'établir des exigences minimales en termes de caractéristiques de performance des méthodes à développer.

La présente Norme internationale fait partie d'une série de documents présentés sous le titre général *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection de micro-organismes pathogènes dans les aliments*:

ISO/TS 20836, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments — Essais de performance des thermocycleurs*

ISO 20837, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences relatives à la préparation des échantillons pour la détection qualitative*

ISO 20838, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences relatives à l'amplification et à la détection pour les méthodes qualitatives*

ISO 22118, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection et la quantification des micro-organismes pathogènes dans les aliments — Caractéristiques de performance*

ISO 22119, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences générales et définitions*

ISO 22174, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences générales et définitions*

La Spécification technique suivante est en cours d'élaboration:

ISO/TS 13136, *Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la détection d'Escherichia coli produisant des Shiga-toxines (STEC) appartenant aux séro-groupes O157, O111, O26, O103 et O145 — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) qualitative en temps réel*

Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection et la quantification des micro-organismes pathogènes dans les aliments — Caractéristiques de performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie les exigences minimales relatives aux caractéristiques de performance pour la détection de séquences d'acide nucléique (ADN ou ARN) par méthodes moléculaires. La présente Norme internationale s'applique à la détection de micro-organismes pathogènes présents dans les aliments et les extraits obtenus à partir de ces aliments en employant des méthodes de détection moléculaires fondées sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

La présente Norme internationale peut également être utilisée, par exemple, pour la détection de micro-organismes pathogènes d'origine alimentaire dans des prélèvements environnementaux ainsi que dans les aliments pour animaux.

NOTE En raison de la rapidité des progrès dans ce domaine, les exemples fournis sont ceux les plus fréquemment utilisés au moment de l'élaboration de la présente Norme internationale.

2 Références normatives

ISO 22118:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>

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 (y compris les éventuels amendements) s'applique.

ISO 16140:2003, *Microbiologie des aliments — Protocole pour la validation des méthodes alternatives*

ISO 22174:2005, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences générales et définitions*

3 Termes et définitions

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

3.1

analyte

composant détecté ou mesuré à l'aide de la méthode d'analyse

NOTE 1 L'analyte peut être un micro-organisme ou un virus, ses composants ou ses produits.

NOTE 2 Adapté de l'ISO 16140:2003, 3.4.

3.2
méthode qualitative
méthode d'analyse dont la réponse est soit la présence soit l'absence de l'analyte détecté soit directement soit indirectement dans une quantité d'échantillon donnée

[ISO 16140:2003, 3.5]

3.3
méthode quantitative
méthode d'analyse dont la réponse est la quantité de l'analyte mesurée soit directement soit indirectement dans une quantité d'échantillon donnée

NOTE Adapté de l'ISO 16140:2003, 3.6.

3.4
essai de robustesse
(microbiologie des aliments) soumission de la méthode proposée à de légères modifications du mode opératoire ou à des facteurs environnementaux afin de déterminer leur éventuelle influence sur les performances de la méthode

3.5
sélectivité
(microbiologie des aliments) mesure de l'inclusivité (détection du micro-organisme ou virus cible) et de l'exclusivité (non détection de micro-organismes ou virus non cibles)

3.6
sensibilité
(microbiologie des aliments) mesure du plus faible nombre de cellules, particules ou molécules d'analyte pouvant être détecté en une seule réaction

3.7
spécificité
aptitude à reconnaître exclusivement la cible à détecter en la distinguant de substances et impuretés analogues

[ISO 22174:2005, 3.6.4]

3.8
justesse
étroitesse de l'accord entre l'espérance mathématique d'un résultat d'essai ou d'un résultat de mesure et une valeur vraie

[ISO 3534-2:2006^[1], 3.3.3]

3.9
limite de détection
LDD
plus petite concentration ou teneur en organisme cible par rapport à la quantité définie de matrice pouvant être immanquablement détectée dans les conditions expérimentales décrites par la méthode

NOTE Adapté de l'ISO 22174:2005, 3.1.8.

3.10
limite de quantification
LDQ
(microbiologie des aliments) plus petite quantité d'analyte (c'est-à-dire le plus petit nombre réel d'organismes) qui peut être mesurée et quantifiée avec une justesse et une fidélité définies, dans les conditions expérimentales de la méthode en cours de validation

NOTE Adapté de l'ISO 16140:2003, 6.2.2.2.3.

3.11**fidélité**

étroitesse d'accord entre des résultats d'essai/de mesure indépendants obtenus sous des conditions stipulées

NOTE 1 La fidélité dépend uniquement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou la valeur spécifiée.

NOTE 2 La mesure de la fidélité est généralement exprimée en termes d'infidélité et est calculée à partir de l'écart-type des résultats d'essai ou des résultats de mesure. Une fidélité faible est reflétée par un grand écart-type.

NOTE 3 Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Les conditions de répétabilité et de reproductibilité sont des ensembles particuliers de conditions extrêmes stipulées.

[ISO 3534-2:2006^[1], 3.3.4]

4 Caractéristiques de performance des méthodes de détection qualitatives et quantitatives

4.1 Généralités

Une méthode de détection moléculaire doit satisfaire à des caractéristiques de performance conformément à la présente Norme internationale. Les informations relatives aux caractéristiques de performance de la méthode de détection moléculaire doivent être disponibles. Elles comprennent des informations spécifiques sur les essais dans un seul ou plusieurs laboratoires, y compris les informations pertinentes obtenues au cours de la pré-validation de la méthode (par exemple variation des paramètres, des réactifs).

4.2 Domaine d'application de la méthode

Il convient d'indiquer l'objectif de la méthode. Les informations relatives à l'utilisation prévue et aux limites des méthodes doivent être fournies. En particulier, le fournisseur de la méthode doit préciser que les critères définis dans la présente Norme internationale sont satisfaits.

4.3 Base scientifique

Il convient de donner un aperçu des principes et de fournir des références à des publications scientifiques pertinentes.

4.4 Sélectivité

4.4.1 Essai d'inclusivité

4.4.1.1 Généralités

Il convient de fournir les résultats empiriques obtenus à la suite d'essais de la méthode sur les micro-organismes ou virus cibles. Il convient que ces essais incluent toutes les variantes ou types pertinents de micro-organismes ou de virus conformément au domaine d'application de la méthode (4.2).

4.4.1.2 Exigences minimales de spécificité

Il convient de détecter les variantes des séquences des micro-organismes ou virus cibles avec une efficacité d'amplification équivalente, même s'il existe des différences de séquences au niveau des sites d'hybridation des amorces et/ou des sondes comme indiqué dans le domaine d'application de la méthode (4.2).

Si possible, il convient de tester 50 souches du micro-organisme ou virus cible spécifique.

4.4.2 Essai d'exclusivité

4.4.2.1 Généralités

Il convient de fournir les résultats empiriques obtenus à la suite d'essais de la méthode avec des micro-organismes ou virus non cibles. Il convient que ces essais incluent des micro-organismes ou virus aussi bien proches qu'éloignés d'un point de vue taxonomique.

Il convient que la méthode fasse nettement la distinction entre les micro-organismes ou virus cibles et non cibles.

4.4.2.2 Systèmes d'essai pour la détection des bactéries

Sélectionner au moins 30 souches pouvant provoquer des interférences avec le micro-organisme cible et les souches alimentaires naturellement présentes dans chaque matériau d'essai alimentaire. Des exemples d'organismes appropriés sont listés en Annexe A.

Il convient d'inclure des virus, le cas échéant, par exemple s'il existe des similitudes entre les séquences d'oligonucléotides et les séquences d'acide nucléique viral.

Il convient que 90 % des souches au minimum soient composées de bactéries. Il convient que les souches restantes soient des levures, des moisissures ou des virus.

Pour les essais de sélectivité, il convient d'utiliser une quantité facilement détectable d'ADN, représentant par exemple l'ADN de 10^6 cellules. Il convient que l'aptitude de l'ADN utilisé pour l'amplification soit confirmée, par exemple par un système de PCR consensus basé sur de l'ADN ribosomique.

4.4.2.3 Systèmes d'essai pour la détection des champignons

Sélectionner au moins 30 souches de micro-organismes ou virus non cibles.

Pour la validation d'un système d'essai fongique, il convient que 90 % au moins des souches soient des champignons. Il convient que les souches restantes soient des bactéries ou des virus.

Il convient d'inclure des virus, le cas échéant, par exemple s'il existe des similitudes entre les séquences d'oligonucléotides et les séquences d'acide nucléique viral.

Pour les essais de sélectivité, il convient d'utiliser une quantité facilement détectable d'ADN, représentant par exemple l'ADN de 10^6 cellules. Il convient que l'aptitude de l'ADN utilisé pour l'amplification soit confirmée, par exemple par un système de PCR consensus basé sur de l'ADN ribosomique.

4.4.2.4 Systèmes d'essai pour la détection des virus

Pour la validation d'un système d'essai pour la détection des virus, il convient de tester au moins trois souches de virus non cibles.

Pour les essais de sélectivité, il convient d'utiliser une quantité facilement détectable d'ADN ou d'ARN, représentant par exemple l'ADN ou l'ARN de 10^6 particules virales ou de génomes équivalents. Il convient que l'aptitude de l'acide nucléique utilisé pour l'amplification soit confirmée, par exemple à l'aide d'un autre système d'essai.

4.5 Sensibilité

4.5.1 Généralités

Les résultats empiriques obtenus lors d'essais de la méthode à différentes concentrations dans le but de tester la plage d'utilisation de la méthode doivent être disponibles et doivent être décrits dans le rapport de validation.

4.5.2 Exigences minimales de sensibilité pour les essais qualitatifs

Il convient que les micro-organismes pathogènes présents dans les aliments soumis aux essais qualitatifs soient détectés à des concentrations de 1 cellule à 10 cellules par dosage pour les bactéries ou les parasites, et de 10 particules à 100 particules ou copies équivalents génome pour les virus, dans une quantité définie de la matrice d'aliments étudiée. Les concentrations sont liées à la quantité appliquée avant le début du mode opératoire de détection (enrichissement compris).

NOTE La sensibilité de la réaction diffère de la sensibilité de la méthode. La sensibilité de la réaction peut être définie de manière précise par la quantité d'acide nucléique utilisée comme matrice. La sensibilité de la méthode dépend, entre autres choses, de l'efficacité de récupération de l'extraction par concentration.

Les essais doivent être réalisés sur des échantillons contenant une flore microbiologique annexe correspondant à l'aliment.

Il convient que l'évaluation de la sensibilité comprenne cinq catégories d'aliments différentes.

4.5.3 Exigences minimales de sensibilité des essais quantitatifs

Les limites supérieure et inférieure de la plage de linéarité de la méthode doivent être indiquées.

L'évaluation de ces limites et de la plage de linéarité doit être réalisée sur des échantillons contenant une flore microbiologique annexe correspondant à l'aliment.

Il convient que l'évaluation de la sensibilité comprenne cinq catégories d'aliments différentes.

L'utilisateur doit s'assurer que la méthode choisie couvre la plage de détection donnée du paramètre cible.

4.6 Robustesse

4.6.1 Généralités

Il convient de fournir les résultats des essais empiriques de la méthode par rapport à des variations légères mais délibérées des paramètres de la méthode (par exemple variation de la concentration des composants des kits d'essai, variation des équipements, etc.), s'ils sont disponibles.

4.6.2 Détermination de la robustesse

La robustesse peut être déterminée en réalisant une étude interlaboratoires.

Les résultats de l'étude interlaboratoires doivent être interprétés comme la robustesse interlaboratoires. La méthode est applicable si les résultats provenant des différents laboratoires ne varient pas de manière significative.

4.7 Témoins analytiques

Les témoins analytiques conformes aux exigences de l'ISO 22174 doivent être clairement spécifiés et leur interprétation enregistrée. Ces témoins doivent comprendre des témoins d'amplification positifs et négatifs ainsi qu'internes ou externes, leur contenu détaillé, leur utilisation et l'interprétation des résultats obtenus.