
**Qualité de l'eau — Exigences pour la
comparaison du rendement relatif des
microorganismes par deux méthodes
quantitatives**

*Water quality — Requirements for the comparison of the relative
recovery of microorganisms by two quantitative methods*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 17994:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 17994:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2014

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes, définitions et symboles	1
3.1 Termes et définitions.....	1
3.2 Symboles et abréviations.....	3
4 Principe	3
5 Exigences fondamentales relatives à l'essai comparatif	4
5.1 Généralités.....	4
5.2 Description des méthodes.....	4
5.3 Types d'échantillons.....	4
5.4 Nombre d'échantillons et de laboratoires participants.....	5
5.5 Comptage et confirmation.....	7
6 Calculs	8
6.1 Édition préliminaire des données brutes.....	8
6.2 Différences relatives de base.....	8
6.3 Mi-largeur de l'intervalle de confiance.....	9
7 Évaluation	9
7.1 Évaluations préliminaires.....	9
7.2 Évaluation bilatérale.....	10
7.3 Évaluation unilatérale.....	12
8 Rapport d'essai	13
Annexe A (informative) Logigramme	14
Annexe B (informative) Essais comparatifs	15
Annexe C (informative) Dérivation de l'équation pour le calcul du nombre d'échantillons	17
Annexe D (informative) Exemple d'une évaluation bilatérale	19
Bibliographie	22

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 procédures utilisées pour l'élaboration du présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2, www.iso.org/directives

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou sur la liste ISO des déclarations de brevets reçues, www.iso.org/patents

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'attention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

Pour obtenir une explication concernant la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ainsi que des informations relatives à l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) en ce qui concerne les obstacles techniques au commerce (OTC), se rendre à l'adresse suivante : Avant-propos – Information complémentaire

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 4, *Méthodes microbiologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 17994:2004), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Introduction

La présente Norme internationale spécifie les critères et les procédures de comparaison des résultats quantitatifs moyens obtenus par deux méthodes d'analyse microbiologique dont l'une peut — mais pas nécessairement — être une méthode normalisée ou de référence.

Les méthodes étudiées reposent sur des comptages de colonies ou des tubes d'enrichissement liquide positifs et négatifs [méthodes NPP (nombre le plus probable)].

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 17994:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 17994:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014>

Qualité de l'eau — Exigences pour la comparaison du rendement relatif des microorganismes par deux méthodes quantitatives

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur du présent document connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document n'a pas pour but de traiter de tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de la présente norme d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité, et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur.

IMPORTANT — Il est indispensable que les essais menés selon le présent document soient effectués par un personnel adéquatement qualifié.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une procédure d'évaluation qui permet de comparer deux méthodes avec des caractéristiques de performance établies conformément à l'ISO/TR 13843 et visant à quantifier le même groupe cible ou la même espèce de micro-organismes.

Elle fournit les bases mathématiques pour évaluer les performances relatives moyennes des deux méthodes quantitatives par rapport à des critères de comparaison déterminés. Elle ne fournit aucune donnée permettant d'évaluer la fidélité des méthodes comparées. Il convient que la fidélité des méthodes soit évaluée lors de la détermination de leurs caractéristiques de performance.

La présente Norme internationale ne propose aucune méthode permettant de vérifier les caractéristiques de performance des méthodes au sein d'un seul laboratoire.

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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 8199, *Qualité de l'eau — Lignes directrices générales pour le dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture*

ISO/TR 13843, *Qualité de l'eau — Lignes directrices pour la validation des méthodes microbiologiques*

3 Termes, définitions et symboles

3.1 Termes et définitions

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

3.1.1 Termes généraux

3.1.1.1

essai comparatif

comparaison interlaboratoires qui implique des laboratoires chargés d'effectuer des mesurages appariés sur plusieurs de leurs propres échantillons en utilisant deux méthodes différentes

3.1.1.2

méthode sans différence

méthode considérée quantitativement sans différence par rapport à une autre méthode lorsque la différence moyenne de leurs comptages confirmés et la différence stipulée se situe entre les limites stipulées prédéfinies, en tenant compte de toutes les sources de variation

Note 1 à l'article: Cette différence peut être évaluée par la différence relative moyenne de leurs comptages confirmés.

3.1.1.3

limite stipulée prédéfinie

différence autorisée moyenne (basée sur un «intervalle de confiance» désigné $-2L$ à $+2L$) entre les résultats obtenus avec chaque méthode, sur la base de pratiques professionnelles ou d'exigences réglementaires

Note 1 à l'article: La Référence [1] suggère que, dans le cadre des essais internationaux et interlaboratoires de performances des méthodes, une limite de $2L = 10\%$ pour fixer l'«intervalle de confiance» soit la limite stipulée prédéfinie pour l'eau potable. Cette valeur a été couramment utilisée. Toutefois, pour les eaux environnementales, telles que les eaux de baignade, la Référence [2] propose une limite stipulée prédéfinie de $2L = 20\%$.

3.1.1.4

méthode de référence

méthode d'analyse reconnue au plan international par les experts ou par un accord entre les parties

Note 1 à l'article: Par convention, la méthode de référence est une méthode normalisée ou couramment utilisée.

3.1.1.5

incertitude-type

incertitude de mesure exprimée sous la forme d'un écart-type

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[SOURCE: Guide ISO/CEI 99:2007(3), 2.30]

ISO 17994:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad69cd5236a/iso-17994-2014>

3.1.1.6

méthode alternative

toute méthode dont il faut vérifier la comparaison avec une méthode de référence

3.1.2 Termes spécifiques

3.1.2.1

comptage

nombre observé d'objets

EXEMPLE Colonies ou cellules de micro-organismes, plages de bactériophages.

Note 1 à l'article: Dans la présente Norme internationale, le résultat d'une estimation du nombre le plus probable (NPP) est également considéré comme un comptage.

3.1.2.2

comptage présomptif

comptage des colonies ou nombre le plus probable (NPP) estimé, basé sur le nombre de colonies ou de tubes de fermentation ayant un aspect extérieur qui est interprété comme typique d'un organisme cible

3.1.2.3

comptage confirmé

comptage présomptif multiplié par le coefficient de confirmation

3.1.2.4

différence relative

DR

différence entre deux résultats, a et b , mesurée sur une échelle relative (logarithme népérien)

3.2 Symboles et abréviations

A	est la méthode alternative (symbole de l'idée)
a	est le résultat d'essai obtenu par la méthode A
a_i	est le résultat d'essai (comptage confirmé) obtenu par la méthode A pour l'échantillon i
B	est la méthode de référence (symbole de l'idée)
b	est le résultat d'essai obtenu par la méthode B
b_i	est le résultat d'essai (comptage confirmé) obtenu par la méthode B pour l'échantillon i
i	est l'indice indiquant une série
k	est le facteur d'élargissement utilisé pour calculer l'intervalle de confiance
L	est la plus petite différence relative moyenne significative d'un point de vue microbiologique entre les résultats obtenus par les méthodes A et B
NPP	est la méthode quantitative du nombre le plus probable
n	est le nombre d'échantillons
s	est l'écart-type expérimental de la différence relative (incertitude-type)
s^2	est la variance expérimentale
$s_{\bar{x}}$	est l'écart-type de la différence relative de la moyenne (incertitude-type)
W	est la mi-largeur de l'intervalle de confiance
x	est la différence relative
x_i	est la valeur de la différence relative entre a_i et b_i pour l'échantillon i
\bar{x}	est la moyenne arithmétique des x_i ($i = 1, 2, \dots, n$)
x_L	est la valeur de la différence relative à la limite de confiance inférieure, calculée en soustrayant la valeur de la mi-largeur de l'intervalle de confiance de la moyenne
x_U	est la valeur de la différence relative à la limite de confiance supérieure, calculée en additionnant la valeur de la mi-largeur de l'intervalle de confiance de la moyenne
X^2	est l'indice expérimental de dispersion de Poisson
y	est la variable conditionnelle utilisée pour calculer le nombre d'échantillons pour l'essai comparatif

4 Principe

La présente Norme internationale repose sur le principe du test t pour échantillons appariés (voir [Annexe C](#)).

Les données de base sont des comptages appariés confirmés (a_i , b_i) obtenus à partir de l'examen de deux prises d'essai égales prélevées dans un même récipient contenant un échantillon pour essai homogénéisé avec précaution, une détermination (comptage) par méthode. L'essai complet se compose d'un grand nombre de déterminations semblables.

Dans la présente Norme internationale, deux méthodes sont considérées comme quantitativement «sans différence» si la différence relative moyenne des comptages appariés confirmés ne s'écarte pas de manière significative du zéro et si l'intervalle de confiance ne dépasse pas le niveau de la limite

prédéterminée stipulée. Les règles de prise de décision reposant sur le principe ci-dessus sont précisées en [7.2](#) et [7.3](#) et un schéma est donné dans l'[Annexe A](#).

5 Exigences fondamentales relatives à l'essai comparatif

5.1 Généralités

Les deux méthodes doivent disposer de données concernant les caractéristiques de performances détaillées obtenues conformément aux lignes directrices spécifiées dans l'ISO/TR 13843.

L'exigence fondamentale la plus importante pour les essais comparatifs concerne la variété d'échantillons. La participation de nombreux laboratoires est préférable, permettant l'extension de la variété d'échantillons sur de grandes zones géographiques. Aussi estime-t-on couramment que la crédibilité d'une conclusion générale doit être liée à la participation de plusieurs laboratoires. Cependant, l'inclusion d'une large gamme de types d'échantillons par un seul laboratoire sera également valide. Le résultat de la comparaison n'est, en général, valide qu'à l'intérieur des limites de la variété des types d'échantillons étudiés. Les essais comparatifs font l'objet d'un développement dans l'[Annexe B](#).

Il est essentiel que tous les laboratoires participant à un essai interlaboratoires disposent de systèmes d'assurance qualité reconnus et appliquent des techniques de base approuvées en matière de culture de micro-organismes.

5.2 Description des méthodes

Il est important que les principes de fonctionnement des deux méthodes comparées soient bien compris et que la portée des différences entre les méthodes sur le résultat de l'évaluation comparative soit reconnue. Ceci est particulièrement important si les résultats confirmés obtenus par chaque méthode reposent sur différents principes. Il convient de détailler toute différence dans le rapport d'essai (voir l'[Article 8](#)).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fbcee0d4-dee0-4c53-a2cb-6ad19cd5276e/iso-17994-2014>

Les données relatives aux caractéristiques de performances doivent être obtenues conformément à l'ISO/TR 13843. Ces données pour les méthodes doivent être comparées afin d'évaluer les différences potentielles de performances.

EXEMPLE Les méthodes de dénombrement des bactéries coliformes reposant sur la possession de l'enzyme β -galactosidase se sont avérées produire des comptages supérieurs à ceux obtenus par fermentation du lactose en raison de la détection d'une plus large gamme de bactéries coliformes.

5.3 Types d'échantillons

Les exigences requises en matière de comparaisons de méthodes diffèrent quelque peu des procédures de routine quotidiennes. Il est utile et souvent nécessaire de choisir à l'avance ou de préparer des échantillons spéciaux. Les échantillons utilisés pour les comparaisons de méthodes doivent contenir suffisamment d'organismes cibles pour qu'il y ait peu de chances d'obtenir un comptage nul.

Les échantillons utilisés en vue d'effectuer des comparaisons de méthodes doivent représenter les types qui relèvent du domaine d'application des deux méthodes. La procédure idéale consiste à utiliser des échantillons naturels. Les échantillons soumis à essai doivent représenter les types de sources d'eau typiques de la région géographique et environnementale où la méthode est appliquée. Les types d'eau soumis à essai doivent relever du domaine d'application des méthodes évaluées. Il est également possible de préparer des échantillons convenables par dilution, dopage ou mélange de différentes sortes d'eau pour atteindre la population voulue à une concentration appropriée. Le dopage avec des cultures pures ne doit être envisagé qu'en dernier ressort.

Pour éviter l'inhibition des organismes cibles par d'autres organismes, s'assurer que la concentration en flore totale dans un échantillon n'est pas trop élevée. Consulter l'ISO 8199 pour vérifier les limites relatives aux comptages de colonies pour différentes méthodes de culture.

Il peut être pertinent d'influencer la population microbienne d'échantillons existants pour simuler les situations rencontrées dans les pratiques de laboratoire de routine. Ces modifications peuvent être des applications de désinfectants (par exemple, chlore, ozone ou rayonnements UV, Référence^[1]) ou différentes gammes de température, ou encore l'influence de la lumière du jour, afin de simuler différentes situations environnementales représentatives des échantillons pouvant parvenir dans les laboratoires.

5.4 Nombre d'échantillons et de laboratoires participants

5.4.1 Nombre de laboratoires

Le nombre de laboratoires participant aux essais comparatifs doit être suffisant pour obtenir un résultat représentatif du rendement relatif des deux méthodes soumises à essai. Au moment de décider du nombre de laboratoires participants lors d'un essai comparatif, les facteurs suivants doivent être pris en compte:

- a) si la méthode alternative est évaluée en remplacement de la méthode de référence;
- b) si les essais comparatifs sont effectués à titre réglementaire et vérificatif;
- c) la nécessité de couvrir la gamme des zones géographiques et des types d'eau pour lesquels la méthode alternative peut être utilisée;
- d) la nécessité de tenir compte de la variabilité saisonnière dans l'apparition des organismes cibles;
- e) le nombre de résultats d'essai nécessaires pour évaluer le rendement relatif;
- f) le nombre de laboratoires ayant la capacité suffisante et l'expertise technique pour participer.

Il peut être acceptable de disposer d'un petit nombre de laboratoires participants chargés d'analyser une vaste gamme de types d'eau plutôt qu'un grand nombre de laboratoires chargés d'analyser une plus petite gamme de types d'eau appropriés aux méthodes comparées.

NOTE Plusieurs comparaisons probantes ont été obtenues avec trois à six laboratoires. En théorie, il est possible qu'un laboratoire puisse être en mesure d'effectuer un essai comparatif approprié à condition d'avoir accès à une gamme suffisamment large de types d'échantillons pour lesquels les méthodes ont été caractérisées.

5.4.2 Nombre d'échantillons

Il n'est pas possible de déterminer à l'avance le nombre exact d'échantillons requis pour que la comparaison soit valide. Ce nombre est fonction de la différence réellement observée, de l'écart-type expérimental et de la différence considérée comme significative. La présente Norme internationale comprend une clause d'adéquation basée sur une «limite stipulée prédéfinie» et sur la mi-largeur de l'intervalle de confiance. Quand les données ne permettent pas de savoir si les méthodes sont «différentes» ou «sans différence», un plus grand nombre d'échantillons doit être prélevé et examiné.

Si les méthodes sont nettement différentes, il se peut qu'un petit nombre d'échantillons suffise pour déterminer cet état de fait. Il est donc recommandé de procéder par étapes. Il convient que la première étape vise à détecter les grandes différences entre les méthodes. Si l'on ne constate aucune grande différence (résultat non concluant), des échantillons supplémentaires sont prélevés jusqu'à ce que le système soit en mesure de détecter la différence relative moyenne qui correspond à la limite stipulée prédéfinie choisie au début de l'essai.

Le nombre total d'échantillons, n , pour une évaluation bilatérale (7.2) suffisante pour détecter une différence relative moyenne donnée à un niveau de confiance d'environ 95 % dépend de la variance expérimentale conformément à la Formule (1):

$$n = \frac{4s^2}{L^2} \tag{1}$$

où

- n est le nombre d'échantillons requis pour la détection d'une différence L ;
- L est la plus petite différence relative moyenne significative d'un point de vue microbiologique
- s est l'écart-type expérimental.

EXEMPLE Un écart-type expérimental de la différence relative, s , égal à environ 80 est une valeur assez fréquemment observée. Pour détecter une différence relative moyenne de 10 % d'unités ($L = 10$ %), la valeur $n = 25\ 600 / 100 = 256$ échantillons devrait être suffisante pour une évaluation bilatérale.

Pour une évaluation unilatérale (7.3), le nombre d'échantillons correspondant peut être calculé d'après la Formule (2):

$$n = \frac{3s^2}{L^2} \tag{2}$$

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Le justificatif de la dérivation des Formules (1) et (2) est présenté dans l'Annexe C.

Une haute variabilité des comptages peut être observée en raison de disparités dans la conduite des analyses par les laboratoires ou de la gamme des types d'échantillons analysés. S'il est judicieux de poursuivre, un essai comparatif des méthodes peut être évalué en examinant l'écart-type de la différence relative moyenne. Des comparaisons valides sont indiquées par des écarts-types inférieurs à 100.

NOTE Certaines méthodes récentes basées sur des substrats chromogènes permettent d'estimer simultanément deux groupes bactériens. L'un des groupes peut être 10 fois plus nombreux que l'autre, voire même davantage. Il est possible que le nombre d'échantillons suffisant pour prendre une décision finale d'équivalence avec le type le plus nombreux puisse se révéler insuffisant pour un organisme présent en petit nombre.