

ISO/TC 34/SC 9

ISO 16654:2001/Amd 1:2017(F)

Date: 2017-03

ISO/TC 34/SC 9

Secrétariat AFNOR

Deleted: /FDIS

Deleted: 2016

Deleted: 2016-12-01

**Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche des
Escherichia coli O157**

AMENDEMENT 1: Annexe B: Résultats des études interlaboratoires

***Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the
detection of Escherichia coli O157***

AMENDMENT 1: Annex B: Result of interlaboratory studies

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16654:2001/Amd 1:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6b4a1a8d-724a-4543-b5a7-7fda4fb71e1d/iso-16654-2001-amd-1-2017>

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, 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/IEC, Partie 2 (voir 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 dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de [la nature volontaire des normes](#), la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré 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).

Deleted: Comité

Deleted: Comité

Deleted: Sous

Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157

AMENDEMENT 1: Annexe B: Résultats des études interlaboratoires

-
[Page 9, 9.1](#)

[Remplace "NOTE" avec "NOTE 1".](#)

-
Page 9, 9.1

Ajouter ce qui suit à la fin du paragraphe.

Le présent document a été validé avec des prises d'essai ayant une masse ou un volume spécifié pour chaque matrice alimentaire. Il est admis d'utiliser une prise d'essai plus petite, sans qu'il soit nécessaire de réaliser une validation/vérification supplémentaire, à condition que le rapport entre le bouillon d'enrichissement (de préenrichissement) et la prise d'essai soit identique. Il est admis d'utiliser une prise d'essai plus grande que celle initialement validée, s'il a été démontré par une étude de validation/vérification que l'utilisation d'une telle prise d'essai n'a aucune incidence préjudiciable sur la recherche des *E. coli* O157.

NOTE 2. La validation peut être effectuée conformément aux documents appropriés de la série de normes ISO 16140 (toutes les parties). Il est possible d'effectuer la vérification en vue du regroupement des échantillons conformément au protocole décrit dans l'Annexe D de l'ISO 6887-1:2017 (protocole de vérification pour le regroupement d'échantillons en vue d'analyses qualitatives).

Page 12, après l'Article 11

Ajouter l'Article 12 suivant, et renuméroter l'Article 12 existant, «Rapport d'essai», en Article 13.

12 Caractéristiques de performance de la méthode

12.1 Études interlaboratoires

Les caractéristiques de performance de la méthode ont été déterminées par des études interlaboratoires visant à établir la spécificité, la sensibilité et, lorsque ceci est possible, le LOD₅₀ (niveau de détection) de la méthode. Les données y afférentes sont résumées dans l'Annexe B. Les valeurs issues des études interlaboratoires peuvent ne pas être applicables à des types de produits alimentaires autres que ceux indiqués dans l'Annexe B.

12.2 Sensibilité

La sensibilité correspond à l'aptitude de la méthode à détecter l'analyte. Elle est définie comme étant le nombre d'échantillons positifs divisé par le nombre d'échantillons soumis à l'essai à un niveau de contamination donné. Les résultats dépendent donc du niveau de contamination de l'échantillon.

Deleted: :

Deleted: *Escherichia*

Deleted: 1

Deleted: 1999

12.3 Spécificité

La spécificité correspond à l'aptitude de la méthode à identifier correctement l'absence d'analyte dans les échantillons négatifs. Elle est définie comme étant le nombre d'échantillons négatifs divisé par le nombre d'échantillons blancs soumis à l'essai.

12.4 LOD₅₀

Le LOD₅₀ (niveau de détection) est la concentration (UFC/échantillon) à laquelle la probabilité de détection est de 50 %.

Le LOD₅₀ a été calculé à l'issue des études menées dans le cadre du mandat donné au CEN (voir l'Annexe B) uniquement pour les matrices de graines germées, car aucun résultat négatif n'a été obtenu au cours de la seconde étude, effectuée sur le lait, pour les deux niveaux de contamination.

Le LOD₅₀ obtenu était de 8,4 UFC/g (intervalle de confiance à 95 % compris entre les limites de confiance de 6,5 UFC/g et de 10,9 UFC/g).

Page 14, après l'Annexe A

Ajouter l'Annexe B suivante.

Deleted: :

(Annexe B
(informative))

Résultats des études interlaboratoires

B.1 Résultats de l'étude interlaboratoires menée par le NMKL

Une étude interlaboratoires internationale a été menée en 1999 par le Nordic Committee on Food Analysis; elle portait sur des matrices alimentaires de viande hachée, de lait cru et de salade (voir Référence [1]), et elle a été menée selon une méthode évaluée équivalente à celle de l'ISO 16654:2001.

Deleted: et réputée

Les valeurs des caractéristiques de performance obtenues à partir de cette étude interlaboratoires sont présentées par type d'échantillon dans les Tableaux B.1 à B.3.

Tableau B.1 — Résultats de l'analyse des données obtenues sur des échantillons de viande hachée de 25 g

Caractéristique de performance	Viande hachée (blanc)	Viande hachée (faible niveau, 17 UFC/échantillon)	Viande hachée (niveau élevé, 80 UFC/échantillon)
Année de l'étude interlaboratoires	1999	1999	1999
Nombre de laboratoires ayant transmis leurs résultats	14	14	14
Nombre d'échantillons par laboratoire	2	2	2
Nombre de laboratoires exclus	0	0	0
Nombre de laboratoires retenus	14	14	14
Nombre d'échantillons acceptés	28	28	28
Sensibilité en %	-	100	100

Spécificité en %	92,8	-	-
------------------	------	---	---

Tableau B.2 — Résultats de l'analyse des données obtenues sur des échantillons de lait cru de 25 ml

Caractéristique de performance	Lait cru (blanc)	Lait cru (faible niveau, 17 UFC/échantillon)	Lait cru (niveau élevé, 78 UFC/échantillon)
Année de l'étude interlaboratoires	1999	1999	1999
Nombre de laboratoires ayant transmis leurs résultats	14	14	14
Nombre d'échantillons par laboratoire	2	2	2
Nombre de laboratoires exclus	0	0	0
Nombre de laboratoires retenus	14	14	14
Nombre d'échantillons acceptés	28	28	28
Sensibilité en %	-	92,8	100
Spécificité en %	85,7	-	-

Tableau B.3 — Résultats de l'analyse des données obtenues sur des échantillons de salade de 25 g

Caractéristique de performance	Salade (blanc)	Salade (faible niveau, 10 UFC/échantillon)	Salade (niveau élevé, 33 UFC/échantillon)
Année de l'étude interlaboratoires	1999	1999	1999
Nombre de laboratoires ayant transmis leurs résultats	14	14	14
Nombre d'échantillons par laboratoire	1	2	2
Nombre de laboratoires exclus	0	0	0
Nombre de laboratoires retenus	14	14	14
Nombre d'échantillons acceptés	14	28	28
Sensibilité en %	-	100	100
Spécificité en %	85,7	-	-

B.2 Résultats d'études interlaboratoires menées dans le cadre d'un mandat donné au CEN

B.2.1 Étude sur le lait

Une deuxième étude interlaboratoires internationale a été menée en 2012, dans le cadre du Mandat M/381 donné au CEN.

Au cours des étapes préliminaires du processus, une évaluation a permis d'établir que la méthode décrite dans l'ISO 16654:2001 est équivalente à la méthode N. 164 du NMKL (voir la résolution n° 297 prise lors de la réunion de l'ISO/TC 34/SC 9 qui s'est tenue à Prague en juin 2006). Compte tenu de l'équivalence établie entre ces deux méthodes, il a été décidé, lors de la 14e réunion du CEN/TC 275/WG 6 (qui a eu lieu du 23 au 28 avril 2007 au Caire, en Égypte), de réaliser une étude

restreinte pour valider la méthode de l'ISO 16654:2001, en utilisant seulement une matrice alimentaire pertinente sur le plan épidémiologique (le lait).

Des laboratoires nationaux de référence désignés dans le domaine des *Escherichia coli*, ainsi que des laboratoires impliqués dans les contrôles officiels effectués par les États membres de l'UE sur les denrées alimentaires ont été choisis sur la base de leur accréditation selon l'ISO 17025, de leur accréditation pour la méthode de l'ISO 16654:2001 et de leur expertise dans le domaine de l'isolement par séparation immunomagnétique (IMS) des bactéries présentes dans les aliments.

Au total, quinze laboratoires ont participé à cette étude interlaboratoires fondée sur l'analyse, suivant la méthode décrite dans l'ISO 16654:2001, d'échantillons de lait cru contaminés artificiellement par *Escherichia coli* 0157 à trois niveaux de contamination différents: blanc (0 UFC/ml), faible (25 UFC/ml, incertitude composée, $U_c = 7$ UFC/ml) et élevé (140 UFC/ml, $U_c = 38$ UFC/ml). Les échantillons contenaient une microflore annexe, d'origine naturelle, et huit répliqués de chaque niveau de contamination ont été envoyés à chaque laboratoire pour analyse en aveugle, soit un total de 24 échantillons analysés par chaque laboratoire. Les échantillons contenaient du glycérol et ont été envoyés aux laboratoires sous forme d'éprouvettes congelées (à -70 °C dans de la glace carbonique).

Les valeurs des caractéristiques de performance obtenues à partir de cette étude interlaboratoires sont présentées dans le Tableau B.4.

Tableau B.4 — Résultats de l'analyse des données obtenues sur des échantillons de lait de 10 ml

Caractéristique de performance	Lait (blanc)	Lait (faible niveau, 250 UFC/échantillon)	Lait (niveau élevé, 1 400 UFC/échantillon)
Année de l'étude interlaboratoires	2012	2012	2012
Nombre de laboratoires ayant transmis leurs résultats	15	15	15
Nombre d'échantillons par laboratoire	8	8	8
Nombre de laboratoires exclus	0	0	0
Nombre de laboratoires retenus	15	15	15
Nombre d'échantillons acceptés	120	120	120
Sensibilité en %	–	100	100
Spécificité en %	94,4	–	–

B.2.2 Étude sur les graines germées

Une troisième étude interlaboratoires internationale a été organisée et menée en 2013; les laboratoires participants ont été choisis selon les mêmes principes que ceux utilisés pour la première étude menée dans le cadre du mandat donné au CEN (portant sur le lait).

14 laboratoires ont reçu chacun 24 échantillons de graines germées achetées au détail, pour analyse en aveugle, comprenant 8 répliqués de chaque niveau de contamination, contaminés artificiellement par *Escherichia coli* 0157 à trois niveaux de contamination différents: 0 UFC/g, 10 UFC/g et 100 UFC/g. L'incertitude de mesure élargie associée à l'inoculum est de 0,27 log UFC/ml (calculée suivant l'ISO/TS 19036). Les échantillons de graines germées contenaient **chacun** un mélange d'alfalfa (90 %) et de cresson (10 %), avec une microflore endogène dont la teneur estimée était comprise entre 10^5 UFC/g et 10^7 UFC/g; ils ont été envoyés aux laboratoires participants à l'état réfrigéré.

Les valeurs des caractéristiques de performance obtenues à partir de cette étude interlaboratoires sont présentées dans le Tableau B.5.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16654:2001/Amd 1:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6b4a1a8d-724a-4543-b5a7-7fda4fb71e1d/iso-16654-2001-amd-1-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6b4a1a8d-724a-4543-b5a7-7fda4fb71e1d/iso-16654-2001-amd-1-2017>