
**Microbiologie de la chaîne
alimentaire — Exigences spécifiques
et recommandations relatives aux
essais d'aptitude par comparaison
interlaboratoires**

*Microbiology of the food chain — Specific requirements and guidance
for proficiency testing by interlaboratory comparison*
(standards.iteh.ai)

ISO 22117:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/253d34a9-8a46-4276-9cc2-d0c307b0c53c/iso-22117-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 22117:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/253d34a9-8a46-4276-9cc2-d0c307b0c53c/iso-22117-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +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	v
Introduction	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Conception du programme et application	3
4.1 Généralités.....	3
4.2 Objectifs du programme.....	3
4.3 Exigences en termes de laboratoires pour les programmes.....	3
4.4 Choix des matrices d'essai.....	3
4.5 Informations sur les méthodes d'essais utilisées par les fournisseurs d'essai d'aptitude.....	3
4.6 Modèle statistique.....	4
5 Exigences techniques et recommandations pour la conception et la teneur des échantillons	4
5.1 Sources, caractérisation et traçabilité des organismes.....	4
5.2 Niveau d'organismes cibles.....	5
5.3 Organismes non ciblés et interférences.....	6
5.4 Sélection de la matrice et effets de matrice.....	6
6 Vérification des échantillons par le fournisseur	6
6.1 Généralités.....	6
6.2 Essai d'homogénéité d'échantillons – Considérations générales.....	6
6.3 Essai d'homogénéité pour des échantillons quantitatifs (de dénombrement).....	7
6.4 Essai d'homogénéité pour des méthodes qualitatives.....	8
6.5 Essai de stabilité par le fournisseur.....	9
6.5.1 Généralités.....	9
6.5.2 Stabilité durant les conditions de stockage.....	9
6.5.3 Stabilité durant les conditions de transport.....	9
7 Manipulation des échantillons	10
7.1 Généralités.....	10
7.2 Instruction pour les participants.....	10
8 Évaluations des performances	11
8.1 Généralités.....	11
8.2 Considérations préliminaires.....	11
8.3 Évaluation des méthodes qualitatives.....	11
8.3.1 Généralités.....	11
8.3.2 Distribution des données.....	12
8.3.3 Détermination de la valeur consensuelle.....	13
8.3.4 Incertitude de la valeur consensuelle.....	14
8.3.5 Méthodes d'évaluation des performances.....	14
8.3.6 Utilisation des scores z.....	14
8.3.7 Autres méthodes d'évaluation des performances.....	16
8.3.8 Évaluation des performances à long terme.....	18
8.4 Évaluation de méthodes qualitatives.....	20
8.4.1 Généralités.....	20
8.4.2 Performance des laboratoires individuels.....	20
8.4.3 Comparaisons de performances des laboratoires.....	21
Annexe A (informative) Exemple de détails à inclure dans un plan de programme d'essai d'aptitude	23
Annexe B (informative) Préparation de suspensions de spores	25

Annexe C (informative) Méthodes de test des variations entre les parties aliquotes de matériaux d'essai	27
Annexe D (informative) Exemple de fiche de données de sécurité	31
Annexe E (informative) Méthode pratique pour évaluer les performances à long terme des participants dans des programmes d'essai d'aptitude utilisant des méthodes de dénombrement	33
Bibliographie	35

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22117:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/253d34a9-8a46-4276-9cc2-d0c307b0c53c/iso-22117-2019>

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 attirée 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 www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette première édition annule et remplace l'ISO/TS 22117:2010, qui a fait l'objet d'une révision technique. Les modifications sont les suivantes:

- introduction de mises à jour pour harmoniser le document avec l'ISO 13528:2015.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

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/IEC 17043. Une recommandation générale est également disponible auprès de l'UICPA (Union internationale de chimie pure et appliquée); voir la Référence [12]. 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 à satisfaire par un fournisseur (et les collaborateurs associés) de programmes d'essai d'aptitude pour des examens microbiologiques afin d'être reconnu comme compétent. Cela s'applique notamment aux exigences techniques spécifiques nécessaires au traitement de micro-organismes, telles que l'homogénéité et la stabilité des échantillons, ainsi qu'à l'interprétation des essais de 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'agrément des 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 informatifs sur l'évaluation de la qualité externe de la justesse (biais).

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

- d'identifier les sources d'erreurs éventuelles, notamment la composante de biais de l'incertitude, pour améliorer les performances;
- d'estimer l'incertitude des résultats d'essai, conjointement avec les résultats de routine, pour les méthodes quantitatives (dénombrement) (voir l'ISO/TS 19036) et les niveaux de détection pour les méthodes qualitatives (détection);
- de démontrer la compétence du personnel à procéder à un examen microbiologique spécifique;
- d'évaluer et de valider une méthode donnée par l'étude de justesse, de fidélité et de robustesse;
- d'identifier la variabilité des résultats d'essai entre les différents laboratoires;
- d'assigner une valeur «cible» à un micro-organisme dans un matériau afin d'établir un matériau de référence (voir l'ISO 17034).

Cependant, ces aspects ne sont pas spécifiquement couverts par le présent document.

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

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Exigences spécifiques et recommandations relatives aux essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des exigences et fournit des lignes directrices relatives à l'organisation de programmes d'essai d'aptitude pour les examens microbiologiques concernant:

- a) les aliments et les boissons;
- b) l'alimentation animale;
- c) les échantillons environnementaux prélevés dans les secteurs de la production et de la manutention des aliments;
- d) les étapes de production primaire.

Le présent document 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.

Le présent document 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.

Le présent document est destiné à être utilisé avec l'ISO/IEC 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 examens microbiologiques pour les domaines spécifiés dans le premier alinéa.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 13528:2015, *Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires*

ISO/IEC 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 de l'ISO 3534-1, l'ISO 3534-2, l'ISO 5725-1, l'ISO 13528, l'ISO/IEC 17043, ainsi que les suivants, s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

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 du présent document couvrent celles des activités d'évaluation externe de la qualité qui satisfont à la définition des essais 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 sont naturellement présents ou qui peuvent être introduits pour entrer en compétition avec le micro-organisme cible ou pour l'imiter

3.3 matrice

ensemble des composants de l'échantillon

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[SOURCE: ISO 16140-1:2016, 2.38, modifiée — dans le terme, «(produit)» a été supprimé.]

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/253d34a9-8a46-4276-9cc2-d0c307b0c53c/iso-22117-2019>

3.4 souche de référence

micro-organisme obtenu directement auprès d'une collection officielle de cultures ou d'un laboratoire de référence, défini au moins par son genre et son espèce, classé et décrit selon ses caractéristiques et issu, de préférence, de produits alimentaires, de secteurs de production d'aliments, d'étapes de production primaire, d'animaux ou d'eau, le cas échéant

[SOURCE: ISO 11133:2014, 3.4.2, modifiée — dans le terme, «d'une collection officielle de cultures ou d'un laboratoire de référence» a remplacé «d'une collection de cultures de référence, c'est-à-dire une collection de cultures membre de la World Federation of Culture Collections (WFCC) (Fédération mondiale des collections de cultures) ou de l'European Culture Collections Organisation (ECCO) (Organisation européenne des collections de cultures)» et «de secteurs de production d'aliments, d'étapes de production primaire, d'animaux» a remplacé «de produits pour animaux, de l'environnement de production des aliments ou aliments pour animaux.»]

3.5 taux de récupération

proportion de la valeur consensuelle de l'*organisme cible* (3.1) retrouvée par le participant

Note 1 à l'article: Le taux de récupération est calculé en multipliant par 100 le nombre d'unités formant colonie (UFC) récupérées par volume ou par masse et en divisant le résultat par la valeur consensuelle.

Note 2 à l'article: Le taux 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/IEC 17043. Le présent article traite des domaines nécessitant des considérations spécifiques pour les programmes d'essai d'aptitude en microbiologie 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/IEC 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/IEC 17043:2010, 4.3.1, et l'ISO/IEC 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 la dispense d'un conseil avisé en matière de sécurité (voir l'[Article 7](#)). Par exemple, les laboratoires en microbiologie alimentaire doivent disposer d'installations permettant de traiter des micro-organismes appartenant aux niveaux de sécurité biologique 1 et 2, de façon appropriée (voir l'ISO 7218).

4.4 Choix des matrices d'essai

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

Si le programme est orienté sur un ou plusieurs essais spécifiés dans ou requis 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/IEC 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/IEC 17043:2010, 4.5.1).

4.6 Modèle statistique

Les exigences générales du modèle statistique sont données dans l'ISO/IEC 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 de faibles nombres, 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/IEC 17043:2010, B.3.1.4 d)]. Si de faibles nombres sont nécessaires dans les échantillons d'essais quantitatifs (par exemple examen de l'eau ou d'une boisson), une distribution de Poisson 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 suffisante, de sorte 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 requièrent des procédés statistiques différents pour analyser les données, lesquels sont plus amplement évoqués en [8.3](#) et [8.4](#).

Le plan du programme doit clarifier les distinctions entre essais de performance pour des méthodes de détection et ceux pour le dénombrement (ou la quantification pour les virus) des micro-organismes cibles.

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

5.1 Sources, caractérisation et traçabilité des organismes

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

Les virus cibles doivent produire les résultats attendus lorsqu'ils sont soumis à essai à l'aide de méthodes de référence. Les parasites cibles peuvent être identifiés par des méthodes de microscopie ou moléculaires en fonction de leur taille et/ou d'autres caractéristiques.

Il convient que les souches typiques et atypiques de bactéries cibles 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 ou de laboratoires de référence 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.

NOTE Les souches, en particulier les isolats sauvages, peuvent s'adapter aux milieux de culture et à l'environnement, à moins que le nombre de passages ne soit réduit au minimum.

Des suspensions de spores peuvent être utilisées pour ensemercer des échantillons destinés à dénombrer des moisissures, car elles contribuent à améliorer la stabilité et l'homogénéité. L'Annexe B fournit une méthode permettant de les préparer.

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

Dans certaines circonstances, il n'est pas 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 ou les parasites. Si disponibles, des échantillons naturellement contaminés peuvent être utilisés, ou 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.

Pour les distributions à utiliser avec des méthodes sérologiques ou moléculaires, il peut ne pas être nécessaire de distribuer des micro-organismes vivants, ou même entiers. L'utilisation de micro-organismes inactivés, d'antigènes cibles ou de séquences d'acides nucléiques sera souvent plus sûre et ceux-ci peuvent se révéler plus stables. Il convient que le fournisseur du programme détermine la stabilité de ces matériaux et, dans tous les cas, que les cibles produisent les résultats attendus avec les méthodes de référence.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/253d34a9-8a46-4276-9cc2-d0c307b0c53c/iso-22117-2019>

5.2 Niveau d'organismes cibles

Les organismes cibles doivent être présents à des niveaux permettant de démontrer que les méthodes d'examen répondent aux besoins et reflétant des taux de contamination susceptibles de survenir dans des matrices d'échantillons soumises à l'essai (ISO/IEC 17043:2010, 4.4.2.3). Si des micro-organismes 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 humaine n'est pas toujours connu précisément et dépend de la sensibilité des individus. L'objectif principal d'un examen de tous les organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites) consiste à prévenir la maladie, mais également à détecter des bactéries pathogènes à un très faible niveau avant qu'elles puissent atteindre un stade de développement supérieur.

Pour des méthodes quantitatives (dénombrement), le niveau cible doit être proche des niveaux trouvés traditionnellement dans les matrices d'échantillons utilisées et aux spécifications applicables aux matrices d'échantillons utilisées. Il convient également quelquefois que le niveau cible soit proche 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 méthodes et dilutions de routine, le nombre moyen attendu d'organismes dans l'échantillon soit inférieur à 10 colonies par boîte ou inférieur à 1 NPP/g (< 100 NPP/g pour les mollusques bivalves).

Pour des méthodes qualitatives classiques (détection), les bactéries cibles doivent être d'un niveau suffisamment faible pour fournir une épreuve valide pour les méthodes et produire des données de validation pour les critères de performance ou pour vérifier les niveaux de détection pour différents laboratoires participants.

5.3 Organismes non ciblés et interférences

La microflore totale des échantillons d'essai d'aptitude, contaminés naturellement ou artificiellement, est habituellement choisie pour évaluer la capacité des participants à détecter et/ou dénombrer des bactéries ciblées en présence d'une flore annexe. Cette flore annexe peut inclure des souches non ciblées typiques de la matrice de l'échantillon et des organismes cibles présumés qui, sans essais de confirmation appropriés, peuvent générer des résultats faussement positifs. Cependant, les programmes de base destinés à des usages spécifiques peuvent fournir des échantillons contenant uniquement les bactéries cibles.

Toute souche ajoutée aux matrices pour simuler la flore annexe doit satisfaire aux exigences de [5.1](#) pour la caractérisation et la traçabilité.

Déterminer tout effet néfaste de la flore annexe des échantillons contaminés artificiellement sur les bactéries cibles (par exemple, une inhibition ou autre interférence) avant toute utilisation de ces échantillons.

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 contaminée artificiellement et la flore annexe, par exemple si une matrice réduit le taux de récupération des organismes artificiellement contaminés. Il peut être utile d'inclure les informations disponibles à l'attention des participants concernant les matrices alimentaires 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.

Ces informations destinées aux participants doivent également inclure des modes opératoires de préparation appropriés et validés (ou vérifiés) pour les échantillons d'essai d'aptitude.

Les matrices d'échantillons utilisées pour des programmes d'essai d'aptitude en microbiologie sont souvent, mais pas nécessairement, stérilisées avant utilisation. Alternativement, l'absence de la cible est vérifiée par d'autres moyens (tels que l'utilisation de sources de matrices connues).

Si des matrices d'échantillons naturelles non stérilisées sont distribuées, les organisateurs doivent déterminer l'effet de la microflore annexe sur les organismes cibles avant utilisation. De ce fait, l'absence des organismes cibles dans les échantillons naturels est généralement requise si ceux-ci sont destinés à être contaminés artificiellement. Par exemple, dans le cadre d'un programme d'essai d'aptitude visant à détecter les larves parasitaires *Anisakidae* dans les filets de poisson, utiliser uniquement des filets de poisson d'eau douce, car les larves sont présentes uniquement dans les poissons de mer.

6 Vérification des échantillons par le fournisseur

6.1 Généralités

Les exigences générales de vérification des échantillons sont données dans l'ISO/IEC 17043 et l'ISO 13528. Le présent article détaille les exigences spécifiques et les questions particulières relatives aux essais 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/IEC 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 êtreensemencées individuellement avant distribution.

Indépendamment de la méthode de préparation utilisée, évaluer l'homogénéité du matériau d'essai, habituellement avant, mais également au moment des essais pour des matériaux frais moins stables.

Procéder à un essai d'homogénéité, en s'appuyant sur des principes statistiques appropriés (ISO/IEC 17043:2010, 4.4.3.2 et B.5), sur chaque lot d'échantillons. De tels essais sont donnés dans l'ISO 13528 ou, en alternative, en [Annexe C](#).

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, le cas échéant) 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/IEC 17043:2010, 4.4.3.1, Note 3), à condition que les principes statistiques appropriés soient utilisés pour tenir compte de la plus grande différence 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 ces matériaux comprenant une analyse en double de plusieurs échantillons (voir l'ISO 5725-5).

Pour la détection des parasites, chaque matériau d'essai est généralement contaminé artificiellement avec un nombre connu d'organismes et l'homogénéité est vérifiée par comptages au microscope de chaque échantillon par au moins deux opérateurs, car la distribution homogène des parasites cibles dans le matériau en vrac est difficile à obtenir.

Pour les méthodes applicables aux virus, la terminologie bactériologique utilisée en [6.3](#) et [6.4](#) peut ne pas être applicable, mais des principes similaires s'appliquent pour garantir une homogénéité suffisante dans les échantillons d'essai d'aptitude distribués.

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/IEC 17043:2010, 4.4.3 et B.5, et l'ISO 13528, mais d'autres modes opératoires peuvent parfois être nécessaires pour certains matériaux microbiologiques.

Dans les essais interlaboratoires, il convient de ne pas utiliser de matériaux présentant une variabilité 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. Cependant, un matériau est généralement considéré comme suffisamment homogène si l'écart-type inter-unités (sur l'échelle transformée de manière appropriée) est $\leq 0,3 \sigma_{pt}$, où σ_{pt} est l'écart-type cible utilisé pour évaluer la performance des laboratoires (voir l'ISO 13528).

Il convient que tout autre essai d'homogénéité satisfasse aux critères suivants:

- 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 $1,5 \sigma_{pt}$, où σ_{pt} est la variation interlaboratoires acceptable (exprimée comme un écart-type cible) est $\geq 80 \%$.

Une probabilité de 80 % de rejet d'un matériau quand la variation inter-unités représente $1,5 \sigma_{pt}$ repose sur des études de simulation de l'analyse en double de 10 unités d'essais en utilisant une méthode dont l'écart-type analytique est $0,5 \sigma_{pt}$ (à savoir 0,125 unité logarithmique) et la valeur critique pour T_2 (voir l'[Annexe C](#)) satisfaisant au critère a) dans l'alinéa précédent. Elle indique ce qui est atteignable avec une quantité raisonnable d'effort analytique.

Les essais d'homogénéité reposent sur des estimations de variance inter-unités et analytique (répétabilité) obtenues dans des conditions de répétabilité. Des méthodes appropriées pour estimer de telles variations sont données dans l'[Annexe C](#).