
**Systèmes d'essais en laboratoire et
de diagnostic in vitro — Sensibilité
in vitro des agents infectieux et
évaluation des performances des
dispositifs pour antibiogrammes —**

Partie 2:
**Évaluation des performances des
dispositifs pour antibiogrammes par
rapport à une méthode de référence
de microdilution en bouillon**

*Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems —
Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of
performance of antimicrobial susceptibility test devices —*

*Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test
devices against reference broth micro-dilution*



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 20776-2:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/19b843d6-1c5c-466a-98d5-111890221b23/iso-20776-2-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/19b843d6-1c5c-466a-98d5-111890221b23/iso-20776-2-2021>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2021

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
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Méthodes d'essai	5
4.1 Généralités	5
4.2 Méthodes	6
4.2.1 Méthode de référence	6
4.2.2 Sélection des souches	6
4.2.3 Contrôle de qualité (CQ)	7
4.2.4 Contrôle de qualité (CQ) de la méthode de référence	7
4.2.5 Essai de reproductibilité du dispositif évalué	7
4.2.6 Protocole d'essai	7
4.2.7 Préparation de l'inoculum	8
4.2.8 Essai de résolution des écarts	8
4.2.9 Système évalué	8
5 Analyse de données et critères d'acceptation	9
5.1 Exactitude du dispositif évalué	9
5.1.1 Généralités	9
5.1.2 Dispositifs CMI	9
5.1.3 Dispositifs DMSA qualitatifs	9
5.2 Contrôle de qualité (CQ) du dispositif évalué	9
5.3 Reproductibilité du dispositif évalué	9
5.4 Documents relatifs à l'étude	10
Annexe A (informative) Évaluation des performances des essais CMI	11
Annexe B (informative) Raisons de l'analyse de biais	14
Annexe C (informative) Analyses de sensibilité et de spécificité pour essais qualitatifs	16
Bibliographie	18

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 www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 212, *Laboratoires de biologie médicale et systèmes de diagnostic in vitro*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 140 du Comité européen de normalisation (CEN), *Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro*, conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 20776-2:2007), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- révision du titre du présent document pour mieux correspondre aux informations données;
- ajout d'une Introduction (inexistante dans la première édition);
- révision de l'[Article 3](#) comme suit:
 - suppression des définitions des termes accord de catégorie, sensible, intermédiaire, résistante, non sensible, écart majeur, écart mineur, écart très majeur, essai de concentration critique et diamètre de la zone;
 - ajout d'une définition du terme isolat contemporain ([3.11.1](#)) et suppression des définitions des termes isolat frais, isolat récent;
 - ajout des définitions des termes reproductibilité ([3.9](#)), biais de la méthode d'essai ([3.10.3](#)), analyse de sensibilité ([3.10.4.1](#)), analyse de spécificité ([3.10.4.2](#)), groupe d'organismes bactériens ([3.16](#));
 - ajout d'une définition du terme essai qualitatif ([3.7](#)) et suppression de la définition du terme essai de concentration critique;

- révision des définitions des termes essai de concentration minimale inhibitrice (3.4), concentration critique (3.6), contrôle de qualité (3.8), écart (3.10.1);
- réagencement de l'Article 4 (Méthodes d'essai);
- déplacement de la section distincte des Exigences générales relatives à l'évaluation des performances vers les Généralités, paragraphe 4.1, sous Méthodes d'essai;
- révision de la section Contrôle de qualité, paragraphe 4.2, et des documents de référence EUCAST et CLSI pour les plages de contrôle de qualité;
- révision du paragraphe 4.2.1 (Méthode de référence) pour ajout de la variabilité;
- révision du paragraphe 4.2.2 (Sélection des souches) et intégration d'une nouvelle définition du terme isolats contemporains (3.11.1);
- révision du paragraphe 4.2.5 (Essai de reproductibilité);
- mise à jour du paragraphe 4.2.8 (Essai de résolution des écarts);
- regroupement des paragraphes Analyse de données et Critères d'acceptation (Article 5);
- révision du paragraphe 5.1 (Exactitude du dispositif évalué) pour suppression de l'accord de catégorie;
- révision de la section Analyse de données des dispositifs CMI pour suppression de l'accord de catégorie, ajout d'exigence en matière de biais;
- suppression de l'acceptation pour les dispositifs DMSA de concentration critique;
- ajout de dispositions relatives aux critères d'acceptation pour les dispositifs DMSA qualitatifs (5.1.3) et intégration d'exigences en matière de sensibilité et de spécificité;
- révision des paragraphes Contrôle de qualité du dispositif évalué et Reproductibilité du dispositif évalué (5.2 et 5.3);
- révision de la bibliographie;
- ajout des Annexe A — Évaluation des performances des essais CMI, Annexe B — Raisons de l'analyse de biais, et Annexe C — Analyses de sensibilité et de spécificité pour essais qualitatifs.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 20776 se trouve sur le site web de l'ISO.

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 essais de sensibilité *in vitro* aux antimicrobiens sont réalisés sur des bactéries suspectées de provoquer une maladie, en particulier si l'isolat est connu pour appartenir à une espèce capable de montrer une résistance aux agents antimicrobiens fréquemment employés. Les essais sont également importants pour la surveillance de la résistance, pour les études épidémiologiques de la sensibilité et pour comparer les nouveaux agents antimicrobiens à ceux déjà existants.

Les méthodes de dilution sont employées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des agents antimicrobiens pour les essais de sensibilité aux antimicrobiens. Les méthodes de détermination des CMI sont employées dans la surveillance de la résistance, pour la définition et l'identification des phénotypes de type sauvage, pour comparer l'activité des nouveaux agents antimicrobiens, ainsi que pour établir la sensibilité des micro-organismes aux résultats équivoques avec les essais de routine, pour les micro-organismes dont les essais de routine peuvent ne pas être fiables et lorsqu'un résultat quantitatif est nécessaire à la décision clinique. Dans les essais de dilution, les souches bactériennes sont soumises à essai afin de déterminer leur capacité à produire une croissance visible dans un bouillon (dilution en bouillon) ou sur des boîtes gélosées (dilution en gélose) contenant des dilutions en série de l'agent antimicrobien.

La concentration la plus faible d'un agent antimicrobien (en mg/l) qui, dans des conditions *in vitro* définies, empêche l'apparition d'une croissance visible d'une souche bactérienne isolée au cours d'une période définie est connue sous le nom de CMI. Un contrôle strict de la méthode et une normalisation sont nécessaires à la reproductibilité intralaboratoire et interlaboratoires des essais CMI en bouillon. Les CMI des souches de contrôle de qualité (CQ) s'étendent généralement sur trois doubles dilutions avec une valeur centrale dominante, mais sont capables de couvrir quatre dilutions.

La microdilution en bouillon indique un essai par dilution en bouillon sur des plaques de microdilution. La microdilution en bouillon est aujourd'hui l'une des méthodes les plus couramment utilisées au monde pour réaliser des essais de sensibilité aux antimicrobiens.

Le présent document est la deuxième édition de l'ISO 20776-2. Il est conçu pour l'évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes par rapport à une méthode de référence de microdilution en bouillon (ISO 20776-1) ayant recours à des cultures pures de bactéries aérobies qui sont facilement cultivables en les incubant pendant une nuit sur une gélose et qui se cultivent bien dans des plaques normalisées de microdilution contenant du bouillon Mueller-Hinton normalisé (volume $\leq 200 \mu\text{l}$), ce qui peut nécessiter des modifications en fonction de l'agent antimicrobien soumis à essai.

Les évaluations qualitatives et de CMI quantitatives détaillées dans le présent document révisé permettent de mesurer l'exactitude, la reproductibilité et le CQ des essais réalisés à l'aide de dispositifs pour antibiogrammes générant des valeurs de CMI par rapport à une méthode de référence de microdilution en bouillon. Le présent document n'inclut pas les antibiogrammes réalisés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Le présent document a été révisé en partant du principe que l'essai CMI est un test *in vitro*, sujet aux variations de test intralaboratoire et interlaboratoires. Lors de la comparaison entre l'essai de la méthode de référence et tout essai dérivé, il convient de mettre en œuvre des mesures de performance de test uniquement, et non d'interprétation de résultats. Pour cette raison, et parce que les catégories interprétatives ont été retirées de la deuxième édition de l'ISO 20776-1, l'accord de catégorie (AC) et la terminologie associée, tels que décrits par la Food and Drug Administration américaine (FDA), le document M23 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et d'autres documents internationaux, n'ont pas été appliqués. Éviter l'évaluation de l'AC permet également d'avoir moins recours à une réévaluation systématique des performances de test lorsque le seul changement concerne une concentration critique (ce qui ne relève pas du test en lui-même).

Le présent document s'applique à toute nouvelle évaluation de performances mise en œuvre après la date de publication; il ne devrait pas être nécessaire de reconcevoir ou de réanalyser, sur la base de ces critères, les études menées avant la date d'acceptation du présent document. Les études menées avant la présente norme ou avant l'acceptation du présent document ont suivi des pratiques ou des recommandations courantes à l'époque.

Pour les essais dérivés présentant plus de trois fois des doubles dilutions, les performances de test sont évaluées à l'aide d'instruments conçus pour mesurer, d'une part, l'exactitude sur la base de l'accord essentiel (AE) et du biais et, d'autre part, la fidélité sur la base de l'AE uniquement. Pour les essais dérivés présentant une à trois concentrations, les performances de test sont évaluées à l'aide de mesures de sensibilité et de spécificité normalisées.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 20776-2:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/19b843d6-1c5c-466a-98d5-111890221b23/iso-20776-2-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/19b843d6-1c5c-466a-98d5-111890221b23/iso-20776-2-2021>

Systemes d'essais en laboratoire et de diagnostic in vitro — Sensibilité in vitro des agents infectieux et évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes —

Partie 2:

Évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes par rapport à une méthode de référence de microdilution en bouillon

1 Domaine d'application

Le présent document établit des critères de performances acceptables pour les dispositifs de mesure de sensibilité antimicrobienne (DMSA), qui sont utilisés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de bactéries des agents antimicrobiens dans des laboratoires médicaux.

Le présent document indique les exigences pour les dispositifs DMSA, ainsi que les modes opératoires permettant d'estimer la performance de ces dispositifs. Il définit comment une évaluation des performances d'un dispositif DMSA doit être effectuée.

Le présent document a été développé afin de guider les fabricants dans la réalisation des études d'évaluation des performances.

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 20776-1, *Sensibilité in vitro des agents infectieux et évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes — Partie 1: Méthode de référence de microdilution en bouillon pour la détermination de la sensibilité in vitro aux agents antimicrobiens des bactéries aérobies à croissance rapide impliquées dans les maladies infectieuses*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions 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 <https://www.electropedia.org/>

3.1 dispositif de mesure de sensibilité antimicrobienne dispositif DMSA

dispositif comprenant tous les composants spécifiés employés pour obtenir des résultats d'essai qui permettent une détermination CMI des bactéries avec des agents antimicrobiens spécifiques

Note 1 à l'article: Les composants spécifiques du dispositif incluent les inoculateurs, les consommables et les réactifs, les milieux utilisés pour réaliser l'essai et les lecteurs ou analyseurs. Les composants non spécifiques, comme les écouvillons, les pipettes et les tubes, ne font pas partie du dispositif.

3.2 méthode de référence

méthode d'analyse reconnue par les experts ou utilisée comme référence après accord entre les parties et ayant pour résultat, ou étant supposée avoir pour résultat, la valeur de référence du mesurande

Note 1 à l'article: Pour les besoins du présent document, la méthode de référence décrite dans l'ISO 20776-1 est utilisée. Cette méthode de référence décrit les méthodes de dilution permettant de déterminer la *concentration minimale inhibitrice* (3.3) des agents antimicrobiens.

[SOURCE: ISO/TS 22176:2020, 3.1.20, modifiée — Ajout de la note 1 à l'article.]

3.3 concentration minimale inhibitrice CMI

concentration la plus faible qui, dans des conditions in vitro définies, empêche la croissance visible de bactéries pendant une période définie

Note 1 à l'article: La CMI est exprimée en mg/l.

3.4 essai de concentration minimale inhibitrice essai CMI

essai capable de déterminer une valeur de CMI (3.3) couvrant au moins quatre doubles dilutions consécutives, et pour lequel l'accord essentiel (AE) (3.10.2) peut être déterminé

3.5 résultat d'essai CMI dans la gamme de mesure résultat d'essai de concentration minimale inhibitrice (CMI) dans la gamme de mesure

résultat d'un *essai de concentration minimale inhibitrice* (CMI) (3.4) lorsqu'il y a croissance dans au moins une dilution en dessous du critère de jugement de la CMI et aucune croissance dans au moins une dilution au-dessus

3.6 concentration critique

valeurs spécifiques de paramètres, comme les CMI (3.3), sur la base desquelles une bactérie peut être affectée à des catégories cliniques telles que «sensible» (S) ou «résistante» (R)

Note 1 à l'article: Pour les concentrations critiques interprétatives actuelles et les catégories interprétatives, se référer aux dernières publications des organisations employant cette *méthode de référence* (3.2) (par exemple, le CLSI^[2] et l'EUCAST^[3]).

3.7 essai qualitatif

essai dont l'objectif principal est de fournir un résultat qualitatif

EXEMPLE En utilisant une *concentration critique* (3.6) ou en surveillant une concentration.

Note 1 à l'article: Ces essais couvrent au maximum une à trois doubles dilutions.

3.8 contrôle de qualité CQ

utilisation de souches bactériennes soigneusement sélectionnées et des résultats attendus de *concentration minimale inhibitrice (CMI)* (3.3) donnés

Note 1 à l'article: Il convient que les *CMI* des agents antimicrobiens pour les organismes de contrôle se trouvent dans les plages indiquées dans les dernières éditions du document CLSI M100^[2] ou du document de contrôle de qualité EUCAST.^[4] Il est impossible de fournir un tableau de contrôle de qualité unique.

3.9 reproductibilité

mesure dans laquelle des résultats cohérents tels que les *CMI* sont obtenus lorsque l'essai est répété

3.10 Termes relatifs à l'évaluation des résultats de l'essai

3.10.1 écart

différence de résultat entre la méthode d'essai [qu'il s'agisse d'un *essai de concentration minimale inhibitrice (CMI)* (3.4) ou d'un *essai qualitatif* (3.7) et le résultat de la *méthode de référence* (3.2) en dehors de la région de l'*accord essentiel (AE)* (3.10.2) (*essai CMI*), ou en dehors de la région de la sensibilité et de la spécificité (*essai qualitatif*)

3.10.2 accord essentiel AE

résultats de *concentration minimale inhibitrice (CMI)* (3.3) obtenus par le *dispositif de mesure de sensibilité antimicrobienne (DMSA)* (3.1), qui sont situés entre la valeur positive et la valeur négative de la valeur de *CMI* à la suite d'une double dilution établie avec la *méthode de référence* (3.2)

Note 1 à l'article: Utilisé pour les dispositifs *CMI*. 0776-2:2021

Note 2 à l'article: Une autre représentation de ce concept est:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/19b843d6-1c5c-466a-98d5-111890221b23/iso-20776-2-2021>

$$\frac{N_{EA}}{N} * 100$$

où:

N_{EA} est le nombre d'isolats bactériens avec un AE;

N est le nombre total d'isolats bactériens soumis à essai.

Note 3 à l'article: L'AE est exprimé en pour cent.

3.10.3 biais de la méthode d'essai

évaluation des résultats du dispositif d'essai afin de déterminer si les résultats qui diffèrent de la *méthode de référence* (3.2) sont largement faussés ou s'orientent essentiellement dans une direction particulière

Note 1 à l'article: Utilisé pour les *essais de concentration minimale inhibitrice (CMI)* (3.4).