



PROJET FINAL

Norme internationale

ISO/FDIS 6579-4

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* —

Partie 4: Identification du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) par réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella —

Part 4: Identification of monophasic Salmonella Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) by polymerase chain reaction (PCR)

TRAITEMENT PARALLÈLE ISO/CEN

ISO/TC 34/SC 9

Secrétariat: **AFNOR**

Début de vote:
2024-10-31

Vote clos le:
2024-12-26

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COM-MERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 6579-4

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/9ea6be1f-6bdc-4d40-9dde-562e58b5e6c0/iso-6579-4>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2024

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	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	2
3 Termes et définitions	2
4 Principe	3
4.1 Généralités	3
4.2 Préparation de colonies bien isolées	3
4.3 Mise en suspension d'une colonie	3
4.4 Amplification et détection	3
5 Milieux de culture et réactifs	3
6 Équipement et consommables	3
7 Variant monophasique présumé de <i>Salmonella</i> Typhimurium	4
8 Culture de l'isolat	4
9 Mode opératoire	4
9.1 Préparation de la suspension cellulaire ou de l'ADN	4
9.2 Amplification et détection par PCR	5
9.2.1 Généralités	5
9.2.2 Témoins de PCR	5
10 Expression des résultats	5
11 Caractéristiques de performance des méthodes	5
11.1 Validation conformément à l'ISO 17468	5
11.2 Caractéristiques de performance	6
11.2.1 Étude d'évaluation de méthode(s)	6
11.2.2 Étude interlaboratoires	6
12 Rapport d'essai	6
13 Assurance qualité	7
Annexe A (normative) Milieux de culture et réactifs	8
Annexe B (informative) Essai PCR multiplex en temps réel avec sonde pour l'identification du variant monophasique de <i>Salmonella</i> Typhimurium (1,4,[5],12:i:-)	10
Annexe C (informative) Essai PCR multiplex avec électrophorèse sur gel d'agarose pour l'identification du variant monophasique de <i>Salmonella</i> Typhimurium (1,4,[5],12:i:-)	14
Annexe D (informative) Essai PCR simplex avec électrophorèse sur gel d'agarose pour l'identification du variant monophasique de <i>Salmonella</i> Typhimurium (1,4,[5],12:i:-)	20
Annexe E (informative) Caractéristiques de performance	27
Bibliographie	34

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'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de propriété revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de brevet.

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 ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 463, *Microbiologie de la chaîne alimentaire*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Une liste de toutes les parties de la série ISO 6579 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

Plusieurs législations internationale, régionale et nationale fixent des limites réglementaires pour garantir la soi-disant «absence» de *Salmonella* spp. dans des échantillons de la chaîne alimentaire. De plus, plusieurs règlements de la Commission européenne (CE) prescrivent également l'absence de sérotypes particuliers de *Salmonella* qui se sont révélés être à l'origine d'un pourcentage relativement important de salmonelloses chez l'Homme. L'un de ces sérotypes de *Salmonella* pour lesquels des critères légaux ont été fixés est *Salmonella* Typhimurium, y compris son variant monophasique 1,4,[5],12:i:- (par exemple, Règlement (CE) n° 1086/2011^[10]). Il est donc important de savoir si un sérotype identifié ayant pour formule antigénique 1,4,[5],12:i:- est bien le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (1,4,[5],12:i:1,2) et non le variant monophasique d'un autre sérotype de *Salmonella* (*S.*) pour lequel aucun critère n'a été fixé, tel que *S.* Lagos (1,4,[5],12:i:1,5), *S.* Agama (4,12:i:1,6), *S.* Farsta (4,[5],12:i:e,n,x), *S.* Tsevie (1,4,12:i:e,n,z₁₅), *S.* Gloucester (1,4,12,27:i:l,w) ou *S.* Tumodi (1,4,12:i:z₆). La confirmation de la distinction entre les sérotypes de *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* non Typhimurium peut être établie à l'aide d'une analyse moléculaire, telle que les techniques de PCR décrites dans le présent document.

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 6579-4](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/9ea6be1f-6bdc-4d40-9dde-562e58b5e6c0/iso-6579-4>

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* —

Partie 4:

Identification du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) par réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

AVERTISSEMENT — Afin de préserver la santé du personnel de laboratoire, il est essentiel d'effectuer les essais de recherche, de dénombrement et de (séro)typage de *Salmonella* uniquement dans des laboratoires correctement équipés, sous la direction d'un microbiologiste compétent et de faire très attention lors de l'élimination de tous les éléments incubés. Il convient que les personnes qui utilisent le présent document soient familières avec les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document ne prétend pas couvrir tous les aspects de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode horizontale *in vitro* d'identification moléculaire et de différenciation du variant monophasique de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* sérotype Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) ne présentant pas l'antigène H de seconde phase H:1,2, à partir d'isolats. La méthode détecte des séquences d'ADN spécifiques d'une région intergénique du groupe des flagellines de première phase H pour l'identification de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* sérotype Typhimurium (encore appelé *Salmonella* Typhimurium) et des séquences d'ADN spécifiques de gènes associés à l'expression d'antigène flagellaire H de seconde phase.

La méthode est applicable pour:

- la différenciation de l'isolat analysé entre le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium et le variant monophasique d'un autre sérotype de *Salmonella* non Typhimurium ayant la même formule antigénique;
- l'identification de l'isolat analysé comme étant soit le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium, soit *Salmonella* Typhimurium (biphasique).

Le présent document est applicable à l'analyse d'une culture pure appartenant au genre *Salmonella*, isolée à partir:

- de produits destinés à la consommation humaine;
- de produits destinés à l'alimentation animale;
- d'échantillons environnementaux dans le domaine de la production et de la manutention de denrées alimentaires;
- d'échantillons au stade de la production primaire.

Le présent document peut aussi être appliqué dans d'autres domaines pour l'identification du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (par exemple, domaine environnemental, santé humaine, santé animale).

NOTE La présente méthode a été validée dans la cadre d'une étude d'évaluation de méthode et d'une étude interlaboratoires à l'aide d'un large panel de souches différentes (souches cibles et non cibles), isolées à partir de différentes sources (produits alimentaires, animaux, aliments pour animaux, échantillons de production primaire et échantillons humains). Pour de plus amples informations sur la validation, voir [Annexe E](#).

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 7218, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Exigences générales et recommandations pour les examens microbiologiques*

ISO 11133, *Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau — Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture*

ISO 20836, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes — Essais de performance thermique des thermocycleurs*

ISO 22174, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche et la quantification de micro-organismes — Exigences générales et définitions*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et les définitions de l'ISO 22174 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:

— <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/9ea6be1f-6bdc-4d40-9dde-562e58b5e6c0/iso-6579-4>

— 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

variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium

variant de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* sérotype Typhimurium ne présentant pas l'antigène H de seconde phase H:1,2, ayant pour formule antigénique 1,4,[5],12:i:-

3.2

variant monophasique présumé de *Salmonella* Typhimurium

culture pure caractérisée comme appartenant au genre *Salmonella*, donnant une réaction positive pour l'antigène O:4 et l'antigène H:i et une réaction négative pour l'antigène H de seconde phase H:1,2

3.3

point de franchissement du cycle seuil

point de la courbe d'amplification à partir duquel le signal de fluorescence s'élève au-dessus de la ligne de base ou franchit un seuil prédéfini

4 Principe

4.1 Généralités

L'identification du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium comprend les trois étapes successives décrites en 4.2 à 4.4, en commençant par une culture pure caractérisée comme appartenant au genre *Salmonella*.

4.2 Préparation de colonies bien isolées

La culture est ensemencée en stries sur la surface d'un milieu gélosé non sélectif (pré-séché) et incubée entre 34 °C et 38 °C pendant 24 h, afin d'obtenir des colonies bien isolées.

4.3 Mise en suspension d'une colonie

Une colonie bien isolée est sélectionnée et mise en suspension dans 100 µl de solution saline (0,85 % m/v) ou dans 100 µl d'eau ultra-pure.

4.4 Amplification et détection

Les cellules bactériennes en suspension sont analysées par PCR pour la détection des séquences génétiques propres à *Salmonella* Typhimurium (1,4,[5],12:i:1,2) et à son variant monophasique ne présentant pas l'antigène H de seconde phase (1,4,[5],12:i:-), ainsi que pour la détection de séquences génétiques spécifiques de gènes associés à l'expression de la seconde phase de l'antigène flagellaire H. Des essais PCR spécifiques incluant des amorces et des sondes sont décrits aux Annexes B à D.

5 Milieux de culture et réactifs

Suivre les pratiques courantes de laboratoire conformément à l'ISO 7218. Pour les étapes en 4.3 et 4.4, utiliser des réactifs et des consommables de qualité adaptée aux applications de biologie moléculaire (voir ISO 22174). La composition des milieux de culture, des réactifs et leur préparation sont spécifiées à l'Annexe A. Pour les essais de performance des milieux de culture, suivre les modes opératoires conformément à l'ISO 11133 et à l'Article A.4. Les amorces et les sondes pour l'identification du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) sont répertoriées aux Annexes B à D.

6 Équipement et consommables

Le matériel à usage unique est acceptable au même titre que la verrerie réutilisable, à condition que ses spécifications soient convenables. Le matériel courant de laboratoire de microbiologie (voir ISO 7218) et le matériel de biologie moléculaire (voir ISO 22174) et, en particulier, ce qui suit doit être utilisé.

6.1 Incubateur, réglable entre 34 °C et 38 °C.

NOTE La plage de températures comprises entre 34 °C et 38 °C pour l'incubation de milieux de culture inclut l'utilisation d'incubateurs réglés à 35 °C ± 1 °C, 36 °C ± 2 °C ou 37 °C ± 1 °C.

6.2 Anses stériles, d'environ 3 mm de diamètre (10 µl) ou de 0,3 mm de diamètre (1 µl), ou un fil à ensemencer (ose).

6.3 Bain-marie, réglable de 47 °C à 50 °C.

6.4 Réfrigérateur, fonctionnant à 5 °C ± 3 °C.

6.5 Enceinte de séchage, ou étuve, réglable entre 25 °C et 50 °C.

- 6.6 pH-mètre**, ayant une exactitude d'étalonnage de $\pm 0,1$ unité de pH de 20 °C à 25 °C.
- 6.7 Matériel pour mise en suspension d'une colonie**, par exemple tubes pour (micro)centrifugeuse.
- 6.8 Pipettes graduées et cônes à filtres pour pipettes**, pour manipuler des volumes compris entre 0,2 μl et 13,55 μl , selon l'essai PCR utilisé (voir [Annexe B](#), [C](#) ou [D](#)). Pour plus de réactions par mélange, des volumes plus importants sont nécessaires.
- 6.9 Mélangeur**.
- 6.10 Boîtes de Petri stériles**, d'un diamètre d'environ 90 mm.
- 6.11 Équipement pour PCR et PCR en temps réel**, par exemple microcentrifugeuse ou centrifugeuse pour plaque.
- 6.12 Thermocycleur ou thermocycleur pour PCR en temps réel**, étalonné conformément à l'ISO 20836.
- 6.13 Consommables associés à la technique de PCR classique ou PCR en temps réel**, par exemple des tubes pour PCR, des micro-plaques et films, un support de plaques, appropriés à l'utilisation avec l'appareil de PCR sélectionné (voir [Annexe B](#), [C](#) ou [D](#)).
- 6.14 Appareils pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave)**, tels que spécifiés dans l'ISO 7218.

7 Variant monophasique présumé de *Salmonella* Typhimurium

L'isolat à utiliser pour une identification ultérieure doit être une culture pure caractérisée comme appartenant au genre *Salmonella* (voir ISO 6579-1). Un variant monophasique présumé de *Salmonella* Typhimurium présentera une réaction positive pour les antigènes O:4 et H:i et une réaction négative pour l'antigène H de seconde phase (voir ISO/TR 6579-3).

8 Culture de l'isolat

Ensemencer en stries la culture de [l'Article 7](#) (par exemple avec une anse de 10 μl ; [6.2](#)) sur la surface d'un milieu gélosé non sélectif (par exemple gélose nutritive; [Article A.2](#)) pour obtenir des colonies bien isolées. Incuber les boîtes, surface de la gélose vers le bas, entre 34 °C et 38 °C ([6.1](#)) pendant 24 h \pm 3 h.

9 Mode opératoire

9.1 Préparation de la suspension cellulaire ou de l'ADN

À l'aide d'un fil à ensemencer ou d'une anse stérile ([6.2](#)), prélever et mettre en suspension (une partie) une colonie dans 100 μl de solution saline (0,85 % m/v; [Article A.3](#)) ou dans 100 μl d'eau ultra-pure dans un tube approprié ([6.7](#)).

Mélanger ([6.9](#)) pour homogénéiser la suspension.

Une aliquote de 2 μl ou 2,5 μl , selon l'essai PCR choisi, de cette suspension de cellules bactériennes est utilisée (voir [Tableau B.2](#), [C.2](#), [D.2](#), [D.3](#) ou [D.4](#)).

Il est également possible d'utiliser un extrait d'ADN pour l'essai PCR. L'extraction de l'ADN peut par exemple être effectuée par lyse cellulaire thermique ou par une autre méthode d'extraction appropriée. S'ils sont fiables, les kits commerciaux peuvent également être utilisés pour l'extraction de l'ADN, en suivant les instructions du fabricant.

9.2 Amplification et détection par PCR

9.2.1 Généralités

Différents protocoles peuvent être utilisés pour la PCR multiplex en temps réel avec sonde, la PCR multiplex suivie d'une détection par électrophorèse sur gel d'agarose des produits d'amplification ou la PCR simplex suivie d'une détection par électrophorèse sur gel d'agarose.

Un essai PCR multiplex en temps réel avec sonde est donné à l'[Annexe B](#).

Un essai PCR multiplex avec électrophorèse sur gel d'agarose est donné à l'[Annexe C](#).

Un essai PCR simplex avec électrophorèse sur gel d'agarose est donné à l'[Annexe D](#).

Respecter toutes les exigences, y compris l'utilisation d'un équipement approprié ([6.11](#)), relatives à l'amplification par PCR (en temps réel) spécifiées dans l'ISO 22174.

9.2.2 Témoins de PCR

Utiliser des témoins (de processus) pour les essais PCR conformément à l'ISO 22174.

Pour la PCR en temps réel (voir [Annexe B](#)) et la PCR simplex (voir [Annexe D](#)), un témoin interne d'amplification (TIA) doit également être utilisé car les cibles pourraient toutes être négatives. Étant donné que la PCR multiplex (voir [Annexe C](#)) donnera toujours un fragment de PCR (1 000 pb ou 250 pb), ce mode opératoire ne nécessite pas de TIA.

10 Expression des résultats

Les résultats obtenus, avec les témoins spécifiés dans l'ISO 22174, doivent être non ambigus, sinon la PCR doit être recommencée.

Le résultat de la PCR sera:

- a) soit positif si un produit PCR spécifique est détecté et que tous les témoins donnent les résultats attendus;
- b) soit négatif dans les limites de détection, si un produit PCR spécifique n'a pas été détecté et que les témoins donnent les résultats attendus.

Si l'essai PCR identifie l'isolat comme étant un variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium, consigner le résultat de préférence en donnant la formule antigénique telle que déterminée.

Il est possible qu'un isolat soit identifié phénotypiquement comme un variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium, mais génotypiquement (par PCR) comme une *Salmonella* Typhimurium biphasique. Cela peut être dû au fait que les gènes sont présents, mais ne sont pas phénotypiquement exprimés. Pour l'identification de ces isolats, les résultats de la PCR prévalent sur les résultats de séro-agglutination.

11 Caractéristiques de performance des méthodes

11.1 Validation conformément à l'ISO 17468

Les méthodes PCR décrites aux [Annexes B, C et D](#) ont été validées conformément à l'ISO 17468. Toutes les données pertinentes obtenues aux étapes 1 à 5 de l'ISO 17468, ainsi que les résultats de l'étude interlaboratoires (étape 6 de l'ISO 17468) ont été rapportées dans la Référence [\[8\]](#).

Les caractéristiques de performance des trois méthodes PCR (inclusivité et exclusivité) ont été déterminées dans une étude d'évaluation de méthode(s) (décrite en [11.2.1](#)) et dans une étude interlaboratoires (décrite en [11.2.2](#)).

11.2 Caractéristiques de performance

11.2.1 Étude d'évaluation de méthode(s)

Les trois essais PCR décrits aux [Annexes B, C et D](#) ont été évalués dans le cadre d'une étude d'évaluation de méthode, en analysant 172 souches différentes (souches cibles et non cibles), isolées à partir de différentes sources (produits alimentaires, animaux, aliments pour animaux, échantillons de production primaire et échantillons humains), dans deux laboratoires différents. Pour les essais d'inclusivité et d'exclusivité, les résultats de sérotypage de *Salmonella* obtenus par méthode d'agglutination sur lame ont été comparés aux résultats de sérotypage obtenus pour chaque méthode PCR.

Toutes les données sont présentées à l'[Annexe E](#) et plus de détails sont disponibles dans la référence [8].

L'étude d'évaluation de la méthode dépend de l'objectif spécifique visé pour lequel l'essai PCR est mené et ses performances évaluées, à savoir si seul le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium est considéré comme une souche cible (et fait donc partie de l'étude d'inclusivité) ou si *Salmonella* Typhimurium (biphasique) est également considéré comme une souche cible.

Si l'objectif visé est de déterminer si la souche analysée est le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium et non le variant monophasique d'un autre sérotype de *Salmonella* non Typhimurium, alors le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Typhimurium (biphasique) peuvent être considérés comme souches cibles et les trois essais PCR décrits aux [Annexes B, C et D](#) présentent des performances équivalentes pour l'identification de souches de variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (voir [Tableau E.1](#)).

Si l'objectif est d'identifier si la souche analysée est soit un variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium, soit une *Salmonella* Typhimurium (biphasique), il convient alors de considérer *Salmonella* Typhimurium comme une souche non cible. À cette fin, la PCR multiplex avec électrophorèse sur gel (voir [Annexe C](#)) peut sembler moins spécifique pour certaines souches que les deux autres méthodes par PCR (voir [Tableau E.2](#)), car cette méthode est moins adaptée pour distinguer les *Salmonella* Typhimurium biphasiques des monophasiques.

11.2.2 Étude interlaboratoires

Les caractéristiques de performance de chaque méthode PCR (voir [Annexes B, C et D](#)) ont été déterminées dans le cadre d'une étude interlaboratoires (étape 6 de l'ISO 17468) afin de déterminer l'inclusivité et l'exclusivité des trois méthodes, en suivant les modes opératoires décrits dans l'ISO 16140-6. Des détails sur l'étude interlaboratoires et un récapitulatif des données sont fournis à l'[Article E.2](#) pour chaque essai PCR.

Un récapitulatif des données d'inclusivité et d'exclusivité est donné dans le [Tableau E.4](#).

Dans l'étude d'inclusivité, des souches cibles pures devant être détectées par la méthode ont été soumises à essai. Pour cette étude interlaboratoires, le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium a été la seule souche cible considérée.

Dans l'étude d'exclusivité, des souches pures non cibles, qui ne devraient pas être détectées par la méthode mais qui peuvent potentiellement présenter une réactivité croisée, ont été soumises à essai. Pour cette étude interlaboratoires, des sérotypes de *Salmonella* autres que le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium, notamment *Salmonella* Typhimurium (biphasique) et d'autres *Enterobacteriaceae* ont été considérés comme souches non cibles.

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit préciser au moins ce qui suit:

- la méthode d'essai utilisée, avec référence au présent document, c'est-à-dire à l'ISO 6579-4;
- toutes les conditions opératoires non spécifiées dans le présent document, ou considérées comme facultatives ou informatives (notamment aux annexes informatives), ainsi que les détails de tout incident survenu pouvant avoir influé sur le ou les résultats d'essai;