
**Microbiologie de la chaîne
alimentaire — Méthode horizontale
de détection des entérotoxines
staphylococciques par test immuno-
enzymatique dans les aliments**

*Microbiology of the food chain — Horizontal method for the
immunoenzymatic detection of staphylococcal enterotoxins in
foodstuffs*

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai



Sample Document

get full document from standards.iteh.ai



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs	2
6 Matériel	2
7 Échantillonnage	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Préparation de la prise d'essai	3
8.2 Conservation de l'échantillon pour essai	4
8.3 Extraction	4
8.4 Concentration de l'extrait (obligatoire pour le lait et les produits laitiers)	5
8.5 Récupération de l'extrait concentré	5
8.6 Conservation et étapes à suivre avant la détection	6
8.7 Détection	6
8.8 Critères de performance	6
9 Contrôle de la qualité	7
10 Expression des résultats	7
11 Confirmation	7
12 Caractéristiques de performance de la méthode	7
13 Rapport d'essai	9
Annexe A (informative) Résultats des études interlaboratoires: 2013	10
Annexe B (informative) Résultats des études interlaboratoires: 2014	14
Annexe C (informative) Note concernant les interférences	20
Bibliographie	21

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, *Analyses 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).

Introduction

Les entérotoxines staphylococciques (ES) sont des protéines qui peuvent être produites dans les aliments par certaines souches de staphylocoques à coagulase positive (SCP), essentiellement *Staphylococcus aureus*. Ces ES sont des toxines stables à la chaleur et aux acides pouvant provoquer des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales et des diarrhées en cas d'ingestion. En raison de leur stabilité, les ES peuvent être présentes même lorsque des staphylocoques à coagulase positive ne peuvent pas être détectés. Les ES représentent une famille de plus de 20 protéines monomériques globulaires structurellement liées de masse moléculaire de 19 kDa à 30 kDa^[1]. Ces protéines sont relativement stables dans des conditions environnementales changeantes, comme le traitement thermique, la congélation et les variations de pH; en outre, elles sont résistantes à la digestion protéolytique. Typiquement, et selon la sensibilité des personnes concernées, une quantité d'entérotoxines de l'ordre des nanogrammes (ng) peut provoquer une intoxication avec les symptômes décrits ci-dessus. Compte tenu de leur pouvoir pathogène pour l'homme, l'Union européenne a adopté une législation afin d'améliorer la protection des consommateurs en définissant des critères microbiologiques pour les aliments, comme le dénombrement des SCP et la détection des ES^[2].

Plusieurs méthodes ont été développées pour détecter et/ou quantifier les ES. Certaines de ces méthodes sont de type immuno-enzymatique (EIA). D'autres méthodes sont basées sur une analyse chimique par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) pour détecter et quantifier les ES. Ces dernières méthodes étant en cours de développement, les méthodes EIA ont été choisies comme point de départ pour la normalisation d'une méthode de détection des ES.

Le but est de détecter les ES au moyen de trousse de diagnostic disponibles dans le commerce. Le présent document décrit le protocole permettant d'extraire les ES à partir d'échantillons alimentaires. En outre, les critères de performance de ces trousse ont été évalués avant utilisation sur cinq types de matrices alimentaires, sur la base des critères fournis dans le présent document.

Les taux de réponse issus de différentes toxi-infections alimentaires à staphylocoques ont été modélisés en fonction des doses ingérées.^[3] Pour cela, des données tirées de la littérature ainsi que des données fournies par le Laboratoire de Référence de l'Union européenne pour les SCP ont été utilisées.

La méthodologie de «benchmark dose» de l'Agence de protection environnementale des États-Unis (US EPA) a été appliquée à cet ensemble de données et a servi à établir la Bench Mark Dose (BMD).^[4] La BMD est définie comme la dose d'un danger (entérotoxine staphylococcique) susceptible de déclencher des symptômes dans un pourcentage donné de la population exposée. La limite inférieure de la BMD (BMDL) est la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % (ou 90 %) de la BMD. Cette valeur a été utilisée pour fixer la valeur acceptable du niveau de détection relatif 50 (LOD₅₀) des diverses trousse de détection des ES disponibles dans le commerce.

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale de détection des entérotoxines staphylococciques par test immuno-enzymatique dans les aliments

1 Domaine d'application

Le présent document décrit une méthode de recherche pour la détection des entérotoxines staphylococciques SEA, SEB, SEC, SED et SEE dans les aliments. Elle se compose de deux étapes principales: a) une extraction suivie d'une concentration basée sur le principe de la dialyse; et b) une détection immuno-enzymatique au moyen de trousse de détection disponibles dans le commerce.

Le présent document s'applique à la recherche des entérotoxines staphylococciques SEA à SEE dans les produits destinés à la consommation humaine.

D'autres entérotoxines staphylococciques, telles que les types SEG, SEH, SEI, SER, SES et SET, peuvent également provoquer des intoxications alimentaires. En raison de l'absence de trousse de détection disponibles dans le commerce, le présent document ne s'applique qu'aux types SEA à SEE, mais peut s'appliquer à d'autres types de toxines, sous réserve de validation de la méthode.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte 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 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

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:

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

3.1

entérotoxine staphylococcique A, B, C, D, E SEA, SEB, SEC, SED, SEE

exoprotéine SEA, SEB, SEC, SED et SEE produite par des souches entérotoxigènes de staphylocoques à coagulase positive, essentiellement *Staphylococcus aureus*, de masse moléculaire comprise entre 19 kDa et 30 kDa

3.2

spécificité SP

nombre d'échantillons trouvés négatifs divisé par le nombre total d'échantillons blancs soumis à essai