NORME INTERNATIONALE

ISO 16140-5

Première édition
2020-07

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes —

Partie 5: Protocole pour la validation interlaboratoires de méthodes non commerciales par plan factoriel

Microbiology of the food chain — Method validation —

Part 5: Protocol for factorial interlaboratory validation for non-proprietary methods

Numéro de référence
ISO 16140-5:2020(F)

© ISO 2020



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2020

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 **1**

3 Termes et définitions **2**

4 Principes généraux pour la validation interlaboratoires de méthodes non commerciales par plan factoriel **3**
4.1 Généralités 3
4.2 Validation par rapport à une méthode de référence 3
4.3 Validation sans méthode de référence 3

5 Méthodes qualitatives — Protocole technique de validation interlaboratoires par plan factoriel **4**
5.1 Étude de validation interne 4
5.2 Étude de validation interlaboratoires par rapport à une méthode de référence 4
5.2.1 Considérations générales 4
5.2.2 Protocole de mesure 4
5.2.3 Sélection des facteurs à étudier 6
5.2.4 Plan d'expérience 6
5.3 Calculs et résumé des données 7
5.4 Interprétation des données 9
5.4.1 Étude de méthodes appariées 9
5.4.2 Étude de méthodes non appariées 9
5.4.3 Analyse des effets factoriels en fonction du RLOD 10

6 Méthodes quantitatives — Protocole technique de validation interlaboratoires par plan factoriel **10**
6.1 Étude de validation interne 10
6.2 Étude de validation interlaboratoires par rapport à une méthode de référence 10
6.2.1 Considérations générales 10
6.2.2 Protocole de mesure 11
6.2.3 Plan d'expérience 12
6.3 Calculs, résumé et interprétation des données 12
6.3.1 Résumé des résultats d'essai 12
6.3.2 Données de fidélité 13
6.3.3 Profil d'exactitude 15
6.4 Étude de validation interlaboratoires sans méthode de référence 15

Annexe A (informative) **Liste des facteurs et niveaux de facteurs relatifs à la validation par plan factoriel** **16**

Annexe B (informative) **Exemple d'étude factorielle interlaboratoires applicable à une méthode quantitative** **18**

Annexe C (informative) **Exemple d'étude factorielle interlaboratoires applicable à une méthode qualitative** **30**

Bibliographie **38**

© ISO 2020 – Tous droits réservés

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, 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 16140 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.

© ISO 2020 – Tous droits réservés

Introduction

0.1 Série ISO 16140

La série ISO 16140 a été étendue en réponse à la nécessité de disposer de différents protocoles pour la validation ou la vérification des méthodes d'essai. Elle succède à l'ISO 16140:2003. La série ISO 16140 comprend six parties ayant le titre général, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes:*

— *Partie 1: Vocabulaire;*

— *Partie 2: Protocole pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) par rapport à une méthode de référence;*

— *Partie 3: Protocole pour la vérification de méthodes de référence et de méthodes alternatives validées dans un seul laboratoire;*

— *Partie 4: Protocole pour la validation de méthodes dans un seul laboratoire;*

— *Partie 5: Protocole pour la validation interlaboratoires de méthodes non commerciales par plan factoriel;*

— *Partie 6: Protocole pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) pour la confirmation microbiologique et le typage.*

L'ISO 17468 est une Norme internationale étroitement liée, qui établit les règles techniques pour le développement et la validation de méthodes normalisées.

En général, deux étapes sont nécessaires avant de pouvoir utiliser une méthode en laboratoire.

— La première étape est la validation de la méthode. Celle-ci est effectuée à l'aide d'une étude dans un seul laboratoire suivie d'une étude interlaboratoires (voir l'ISO 16140-2, l'ISO 16140-6, et le présent document). Dans le cas où une méthode est validée dans un seul laboratoire (voir l'ISO 16140-4), aucune étude interlaboratoires n'est effectuée.

— La deuxième étape est la vérification des méthodes, au cours de laquelle un laboratoire prouve qu'il peut effectuer une méthode validée de manière satisfaisante. Celle-ci est décrite dans l'ISO 16140-3. La vérification est uniquement applicable aux méthodes qui ont été validées à l'aide d'une étude interlaboratoires.

On distingue en général deux types de méthodes: les méthodes de référence et les méthodes alternatives.

Une méthode de référence est définie dans l'ISO 16140-1:2016, 2.59, comme étant une «méthode reconnue internationalement et largement acceptée». La note à l'article clarifie que «ces normes sont des normes ISO et des normes publiées conjointement par l'ISO et le CEN ou d'autres normes régionales/nationales de niveau équivalent».

Dans la série ISO 16140, les méthodes de référence comprennent les méthodes de référence normalisées (ISO et CEN) telles que définies dans l'ISO 17468:2016, 3.5, en tant que «méthode de référence décrite dans une norme».

Une méthode alternative (méthode soumise à validation) est définie dans l'ISO 16140-1:2016, 2.4, en tant que «méthode d'analyse permettant de détecter ou de quantifier, pour une catégorie de produits donnée, le même analyte que celui détecté ou quantifié avec la méthode de référence correspondante». La note à l'article clarifie que: «La méthode peut être commerciale. L'adjectif «alternatif» se réfère à la totalité du «mode opératoire d'analyse et du système réactionnel». Ce terme recouvre tous les éléments nécessaires à la mise en œuvre de la méthode, qu'ils soient matériels ou autres.»

L'ISO 16140-4 traite de la validation dans un seul laboratoire. Par conséquent, les résultats sont uniquement valides pour le laboratoire effectuant l'étude. Dans ce cas, aucune vérification (comme décrit dans l'ISO 16140-3) n'est applicable. Le présent document, l'ISO 16140-5, décrit les protocoles

© ISO 2020 – Tous droits réservés

applicables aux méthodes non commerciales dans lesquelles une validation plus rapide est nécessaire ou dans lesquelles la méthode à valider est hautement spécialisée, et le nombre de laboratoires participants requis par l'ISO 16140-2 ne peut pas être atteint. L'ISO 16140-4 et le présent document peuvent être utilisés pour la validation avec méthode de référence. L'ISO 16140-4 (pour les méthodes qualitatives et quantitatives) et le présent document (pour les méthodes quantitatives uniquement) peuvent également être utilisés pour la validation sans méthode de référence.

Le logigramme de la Figure 1 donne une vue d'ensemble des relations entre les différentes parties susmentionnées. Il aide également l'utilisateur à choisir la partie appropriée de la série ISO 16140, en tenant compte de l'objectif de l'étude et des remarques énoncées ci-dessus.

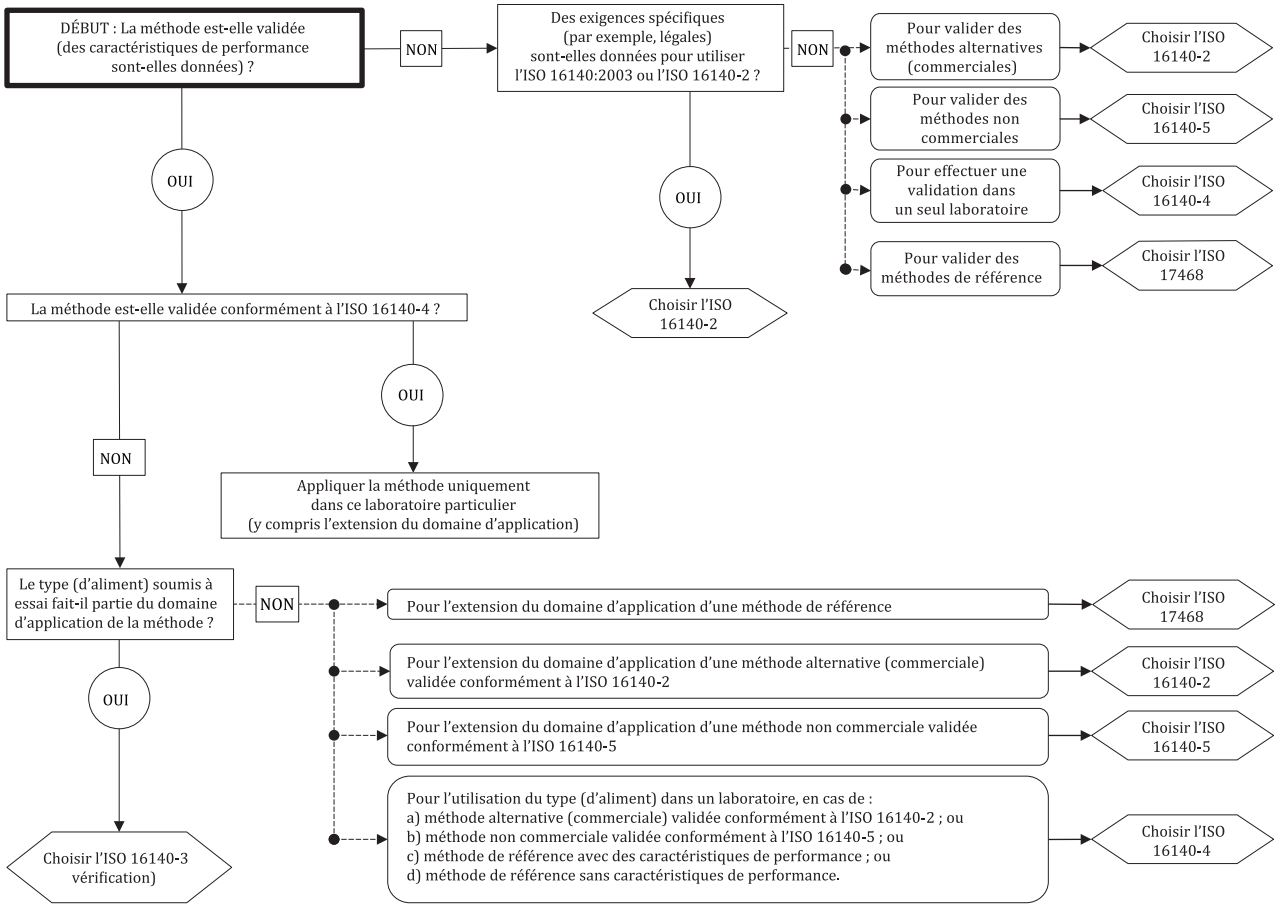


Figure 1 — Logigramme relatif à l'application de la série ISO 16140

NOTE Dans le présent document, les termes «catégorie», «type» et/ou «élément» sont parfois associés au terme «(aliment)» pour une meilleure compréhension. Cependant, le terme «(aliment)» peut être remplacé par «(aliment pour animaux)» et par les autres secteurs de la chaîne alimentaire tels que mentionnés à l'Article 1.

L'ISO 16140-6 est quelque peu différente des autres parties de la série ISO 16140 car elle concerne une situation très spécifique dans laquelle seul le mode opératoire de confirmation d'une méthode doit être validé [par exemple, la confirmation biochimique des *Enterobacteriaceae* (voir l'ISO 21528-2)]. Le mode opératoire de confirmation modifie un résultat suspecté (présomptif) en un résultat positif confirmé. La validation des méthodes alternatives de typage (par exemple, sérotypage de *Salmonella*) est également couverte par l'ISO 16140-6. L'étude de validation de l'ISO 16140-6 définit clairement la ou les gélose(s) sélective(s) à partir de laquelle/desquelles les souches peuvent être confirmées en utilisant la méthode alternative de confirmation. Lorsque la méthode alternative de confirmation est validée, elle ne peut être appliquée que si les souches sont cultivées sur une gélose utilisée et jugée acceptable lors de l'étude de validation. La Figure 2 illustre les situations dans lesquelles une méthode alternative de confirmation validée conformément à l'ISO 16140-6 peut être appliquée (voir le texte dans les cases).

© ISO 2020 – Tous droits réservés

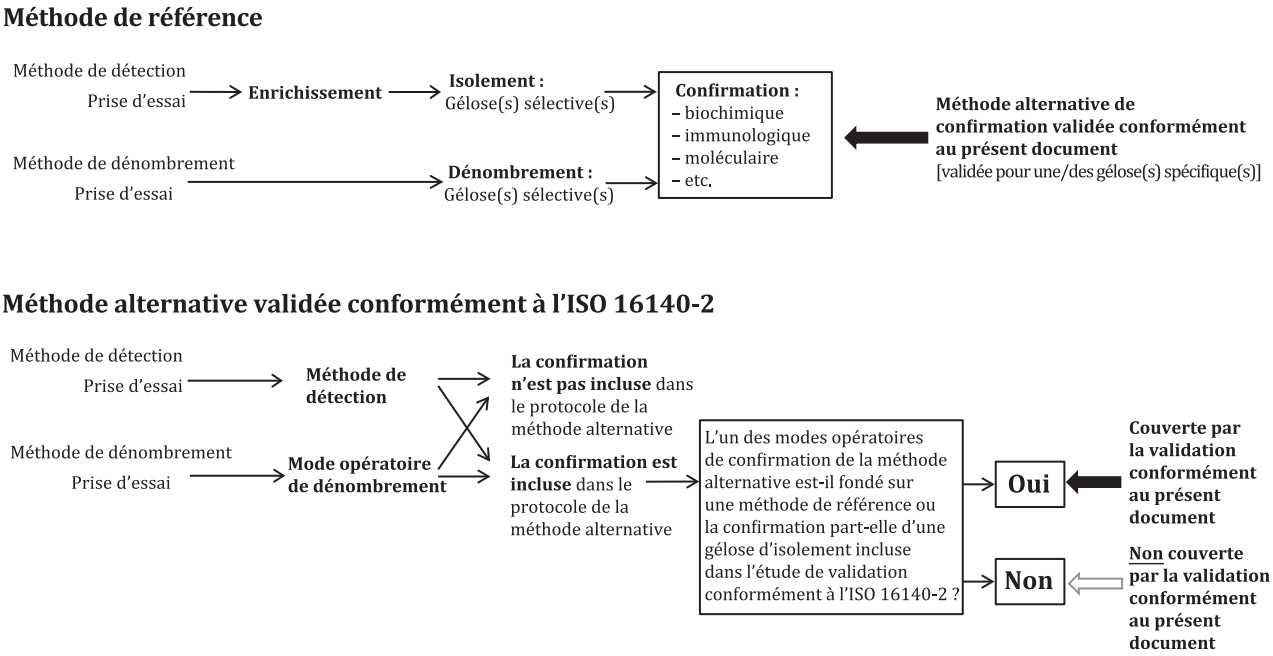


Figure 2 — Utilisation de méthodes alternatives de confirmation (voir ISO 16140-6)

EXEMPLE Un exemple d'application d'une méthode alternative de confirmation validée est donné ci-après.

Une méthode alternative de confirmation fondée sur un ELISA a été validée (conformément à l'ISO 16140-6) pour remplacer la confirmation biochimique de *Salmonella* tel qu'il est décrit dans l'ISO 6579-1. Lors de l'étude de validation, la gélose XLD (gélose obligatoire conformément à l'ISO 6579-1) ainsi que la gélose BGA et une gélose chromogène spécifiée (deux géloses facultatives pour le deuxième ensemencement conformément à l'ISO 6579-1) ont été utilisées pour commencer la confirmation. La méthode de confirmation validée peut être utilisée pour remplacer la confirmation biochimique dans les conditions suivantes:

— par des laboratoires utilisant l'ISO 6579-1; ou

— par des laboratoires utilisant une méthode alternative validée de l'ISO 16140-2 faisant référence à l'ISO 6579-1 pour la confirmation; ou

— par des laboratoires utilisant une méthode alternative validée de l'ISO 16140-2 qui commence la confirmation à partir de la gélose XLD et/ou la gélose BGA et/ou la gélose chromogène spécifiée.

La méthode de confirmation validée ne peut pas être utilisée dans les conditions suivantes:

— par des laboratoires utilisant une méthode alternative validée selon l'ISO 16140-2 faisant uniquement référence à des géloses autres que celles incluses dans la validation pour commencer la confirmation (par exemple, la gélose Hektoen et la gélose SS uniquement); ou

— par des laboratoires utilisant une méthode alternative validée de l'ISO 16140-2 faisant uniquement référence à un mode opératoire de confirmation ne nécessitant pas d'isolement sur gélose.

0.2 Protocoles de validation dans la série ISO 16140

Une étude de validation interlaboratoires, conformément à l'ISO 16140-2, requiert au moins huit laboratoires pour les méthodes quantitatives et dix laboratoires pour les méthodes qualitatives.

Le présent document fournit un protocole applicable au cas particulier dans lequel le nombre de laboratoires requis lors d'une validation interlaboratoires d'une méthode selon l'ISO 16140-2 ne peut pas être atteint. Le protocole comprend une validation des méthodes fondée sur au moins quatre laboratoires. Il s'applique, par exemple, dans les cas où il est urgent de disposer d'une méthode validée mais où la réalisation des études internes et interlaboratoires selon l'ISO 16140-2 prend trop de

© ISO 2020 – Tous droits réservés

temps. Le présent document concerne également le problème de validation des méthodes hautement spécialisées, pour lesquelles seuls quelques laboratoires peuvent être disponibles pour une étude de validation. Le présent document ne peut être utilisé que pour des méthodes non commerciales. Le Tableau 1 donne une vue d'ensemble des différents protocoles.

Tableau 1 — Vue d'ensemble des différents protocoles de validation décrits dans la série ISO 16140

Nombre de laboratoires participants	Avec la méthode de référence	Sans la méthode de référence
1	ISO 16140-4	ISO 16140-4
4 à 7 (méthode quantitative)/ 4 à 9 (méthode qualitative)	Le présent document: pour les méthodes non commerciales uniquement	Le présent document: pour les méthodes quantitatives non commerciales uniquement
≥ 8 (méthode quantitative)/ ≥ 10 (méthode qualitative)	ISO 16140-2: pour la partie de l'étude interlaboratoires	Non applicable

Pour réduire le nombre de laboratoires requis à un minimum de quatre tout en conservant la validation applicable à tous les laboratoires, le protocole repose sur un plan d'expérience factoriel. Dans le plan factoriel, plusieurs facteurs tels que le technicien ou le milieu de culture sont simultanément modifiés et la méthode est utilisée dans une gamme de différentes configurations de facteurs. Cette approche permet d'analyser plus en détails les paramètres de fidélité de la méthode tout en ayant recours à un nombre moins élevé de laboratoires et d'essais.

© ISO 2020 – Tous droits réservés

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes —

Partie 5:
Protocole pour la validation interlaboratoires de méthodes non commerciales par plan factoriel

1 Domaine d'application

Le présent document établit les principes généraux ainsi que les protocoles techniques (fondé sur des études factorielles orthogonales) de validation de méthodes non commerciales, dans le domaine de la microbiologie de la chaîne alimentaire.

Le présent document est applicable à la validation de méthodes utilisées pour l'analyse (détection ou quantification) de micro-organismes présents dans:

— les produits destinés à la consommation humaine;

— les produits destinés à l'alimentation animale;

— les échantillons environnementaux dans les domaines de la production et de la manutention de produits alimentaires;

— les échantillons au stade de la production primaire.

Le présent document est notamment applicable aux bactéries et aux champignons. Certains articles peuvent être applicables à d'autres (micro-)organismes ou à leurs métabolites, qui doivent être déterminés au cas par cas.

Le présent document spécifie des protocoles pour la validation de méthodes quantitatives et qualitatives par rapport à une méthode de référence. Il établit également un protocole pour la validation de méthodes quantitatives sans méthode de référence. Les méthodes qualitatives ne peuvent pas être validées sans méthode de référence conformément au présent document.

NOTE L'ISO 16140-2 spécifie le principe général et le protocole technique pour la validation de méthodes alternatives, majoritairement commerciales, par rapport à une méthode de référence.

Le présent document est uniquement applicable à la validation de méthodes dont les paramètres pertinents sont intégralement spécifiés (notamment les tolérances sur les températures et les spécifications sur les milieux de culture) et qui ont déjà été optimisées.

Les méthodes qui ont été validées conformément au présent document peuvent être utilisées par les laboratoires de la population de laboratoires spécifiée.

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 des aliments — Exigences générales et recommandations*

© ISO 2020 – Tous droits réservés

ISO 16140-1:2016, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes — Partie 1: Vocabulaire*

ISO 16140-2:2016, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes — Partie 2: Protocole pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) par rapport à une méthode de référence*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et les définitions de l'ISO 16140-1 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/

3.1
facteur
paramètre qualitatif ou quantitatif de la méthode, qui peut être modifié à deux niveaux ou plus, dans les limites de la méthode spécifiée

EXEMPLE Technicien.

Note 1 à l'article: à l'article Dans le présent document, seuls les facteurs conformes au protocole de la méthode sont pris en compte.

3.2
niveau de facteur
valeur des *facteurs* (3.1) du plan d'expérience

EXEMPLE Technicien «a», technicien «b», etc.

Note 1 à l'article: à l'article Dans le présent document, chaque facteur est modifié à deux niveaux de facteurs: «a» et «b».

Note 2 à l'article: à l'article Cette définition repose sur la façon dont l'ISO 3534-3:2013, 3.1.12, définit le «niveau de facteur». Dans l'ISO 3534-3:2013, 3.1.12, la définition est plus générale, mais la signification statistique est la même.

3.3
plan orthogonal
plan factoriel, dans lequel pour chaque paire de *facteurs* (3.1), chaque combinaison de *niveaux de facteur* (3.2) apparaît autant de fois parmi les niveaux de facteur possibles

Note 1 à l'article: à l'article Cette définition repose sur la façon dont l'ISO 3534-3:2013, 3.1.31, définit l'«arrangement orthogonal», mais pour le «plan orthogonal», une définition plus générale et plus théorique est utilisée.

3.4
valeur de référence
<une méthode de référence est disponible> niveau de concentration estimé obtenu avec la méthode de référence

3.5
valeur de référence
<aucune méthode de référence n'est disponible, pour les échantillons artificiellement contaminés uniquement> niveau de concentration estimé obtenu à partir du niveau de concentration de l'inoculum

© ISO 2020 – Tous droits réservés

3.6
configuration
combinaison de *niveaux de facteurs* (3.2)

EXEMPLE Technicien «a» + milieu de culture «b» + température «a» + etc.

Note 1 à l'article: à l'article Ces conditions peuvent être décrites par la combinaison des niveaux de facteurs modifiés lors de l'étude.

4 Principes généraux pour la validation interlaboratoires de méthodes non commerciales par plan factoriel

4.1 Généralités

Le présent document utilise un protocole reposant sur des études orthogonales factorielles. Une haute certitude est obtenue pour les paramètres de validation des méthodes déterminés, en ciblant des facteurs appropriés (par exemple, technicien, milieu de culture, préparation des échantillons, température, durée de l'essai) et susceptibles d'influencer le résultat d'essai. Cela permet de réduire le nombre de laboratoires requis à un minimum de quatre. Les concepts généraux et considérations donnés dans l'ISO 16140-2 doivent s'appliquer, sauf s'ils sont explicitement exclus. La validation peut être effectuée par rapport à une méthode de référence ou, dans le cas d'une méthode quantitative, sans méthode de référence.

Le résultat de l'étude de validation s'applique à:

— tout laboratoire: si les quatre laboratoires peuvent être considérés comme un «échantillon aléatoire» de laboratoires indépendants provenant de différents organismes;

— tous les laboratoires d'un organisme: si les quatre laboratoires peuvent être considérés comme un «échantillon aléatoire» de laboratoires sur différents sites d'un organisme.

4.2 Validation par rapport à une méthode de référence

Le protocole de validation comprend deux étapes:

— une étude de validation interne de la méthode non commerciale par rapport à la méthode de référence réalisée dans le laboratoire organisateur (voir l'ISO 16140-1:2016, 2.45);

— une étude interlaboratoires de la méthode non commerciale par rapport à la méthode de référence réalisée dans des laboratoires différents.

Le protocole technique pour la réalisation de l'étude de validation interne et de l'étude interlaboratoires est donné dans les Articles 5 et 6, en fonction de la nature qualitative ou quantitative de la méthode d'essai.

Il convient que les facteurs choisis pour l'étude factorielle interlaboratoires soient pertinents et appliqués à la méthode de référence et à la méthode alternative.

4.3 Validation sans méthode de référence

Le protocole de validation s'applique uniquement à la validation de méthodes quantitatives. Il comprend deux étapes:

— une étude de validation interne de la méthode non commerciale par rapport à la valeur de référence, réalisée dans le laboratoire organisateur;

— une étude interlaboratoires de la méthode non commerciale par rapport à la valeur de référence, réalisée dans des laboratoires différents.

© ISO 2020 – Tous droits réservés