
**Microbiologie des aliments — Protocole
pour la validation des méthodes
alternatives**

AMENDEMENT 1

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the
validation of alternative methods*
AMENDMENT 1
(standards.iteh.ai)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9708df8d-89c4-4608-83be-96c64b4d7427/iso-16140-2003-amd-1-2011>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 16140:2003/Amd 1:2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9708df8d-89c4-4608-83be-96c64b4d7427/iso-16140-2003-amd-1-2011)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9708df8d-89c4-4608-83be-96c64b4d7427/iso-16140-2003-amd-1-2011>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2011

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 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 | iv |
| 6.3 Étude interlaboratoires | 2 |
| 6.3.1 Généralités | 2 |
| 6.3.2 Termes et définitions | 2 |
| 6.3.3 Protocole de mesure et échantillons..... | 4 |
| 6.3.4 Détermination des caractéristiques de justesse et de fidélité..... | 5 |
| 6.3.5 Contrôle de la cohérence des résultats de mesurage..... | 7 |
| 6.3.6 Comparaison des caractéristiques de justesse et de fidélité de la méthode de référence et de la méthode alternative | 8 |
| Annexe Q (normative) Calcul de l'estimateur d'échelle Q_n de Rousseeuw | 10 |
| Annexe V (informative) Indicateurs pour les statistiques h et k robustes de Mandel..... | 12 |
| Annexe W (informative) Exemple: Détermination de <i>E. coli</i>..... | 13 |
| Ajouts à la Bibliographie | 19 |

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 16140:2003/Amd 1:2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9708df8d-89c4-4608-83be-96c64b4d7427/iso-16140-2003-amd-1-2011)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9708df8d-89c4-4608-83be-96c64b4d7427/iso-16140-2003-amd-1-2011>

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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

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.

L'Amendement 1 à l'ISO 16140:2003 a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 16140:2003/Amd 1:2011
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9708df8d-89c4-4608-83be-96c64b4d7427/iso-16140-2003-amd-1-2011>

Microbiologie des aliments — Protocole pour la validation des méthodes alternatives

AMENDEMENT 1

Page 30, 6.3

Remplacer le texte existant par le texte commençant en page 2.

Page 71, Annexe Q

Remplacer le texte existant par le texte commençant en page 10.

Page 85, Bibliographie

Insérer les Annexes V et W commençant en page 12, avant la Bibliographie.

Les ajouts faits à la Bibliographie sont indiqués en page 19.

6.3 Étude interlaboratoires

6.3.1 Généralités

Une étude interlaboratoires a pour objectif de **déterminer les caractéristiques de performances comparatives** (caractéristiques de justesse et de fidélité) de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence.

Les lignes directrices et les exigences relatives à l'organisation, à la distribution et à la gestion de l'étude interlaboratoires sont indiquées en Annexe H ainsi que dans l'ISO 5725-2.

Au moins huit laboratoires doivent participer à une étude interlaboratoires.

Le laboratoire organisateur est chargé de préparer le protocole d'essai et une fiche de données (voir ci-dessous) à utiliser par chacun des laboratoires pour reporter tous les résultats de mesurage et les conditions expérimentales critiques (voir H.3).

L'analyste de chaque laboratoire participant doit faire la preuve de ses compétences quant à l'utilisation de la méthode alternative et de la méthode de référence pour pouvoir participer à l'étude.

En microbiologie, les données { y } des mesurages répétés ne présentent pas toujours une distribution statistique normale (distribution gaussienne). Il convient par conséquent de vérifier la normalité de la distribution de ces données si plus de 30 valeurs sont disponibles pour le même niveau. Pour obtenir une distribution plus symétrique, utiliser les logarithmes des dénombrements.

Les données obtenues à partir des études interlaboratoires contiennent souvent des valeurs aberrantes, c'est-à-dire des valeurs de mesurage qui s'écartent tellement d'autres mesurages comparables qu'elles sont considérées comme incohérentes. Si ces valeurs sont retenues dans la série de données, les caractéristiques de justesse et de fidélité (moyennes, écarts-types, etc.) obtenues avec des méthodes d'analyse statistique classiques ne sont pas fiables. Par conséquent, l'ISO 5725-2 comprend des **essais relatifs aux valeurs aberrantes** (Cochran, Grubbs) qui permettent de détecter puis d'exclure les valeurs aberrantes et d'obtenir des caractéristiques de justesse et de fidélité fiables. Cela engendre souvent des désaccords quant aux valeurs aberrantes qu'il convient d'exclure ou de retenir dans l'analyse statistique. Afin d'éviter ces désaccords, des **estimations robustes** des caractéristiques de justesse et de fidélité sont utilisées dans la présente Norme internationale. Comme elles sont insensibles aux valeurs extrêmes, elles utilisent toujours l'intégralité de la série de données obtenues à partir de l'étude interlaboratoires.

Pour chaque valeur extrême, il convient néanmoins de vérifier qu'il n'y a pas d'erreur d'écriture lors de la retranscription du résultat de mesurage ou d'erreur de calcul, que le mesurage a été correctement réalisé et que le bon échantillon a été analysé. Il convient si possible de remplacer ces valeurs par les valeurs correctes. **Les autres résultats de mesurage extrêmes ou laboratoires présentant des valeurs extrêmes ne sont pas exclus de l'analyse statistique, à moins que l'exclusion ne soit fondée sur des raisons microbiologiques justifiées.**

6.3.2 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

6.3.2.1 exactitude

étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai ou résultat de mesurage et la valeur vraie

NOTE 1 Dans la pratique, la valeur de référence acceptée remplace la valeur vraie.

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.1]

NOTE 2 L'exactitude correspond à une combinaison de la justesse et de la fidélité.

6.3.2.2**justesse**

étroitesse de l'accord entre l'espérance mathématique d'un résultat d'essai ou d'un résultat de mesurage et la valeur vraie

NOTE 1 La mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de biais.

NOTE 2 Dans la pratique, la valeur de référence acceptée remplace la valeur vraie.

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.3]

6.3.2.3**fidélité**

étroitesse d'accord entre des résultats d'essai/de mesurage indépendants obtenus dans des conditions stipulées

NOTE Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Les conditions de répétabilité et de reproductibilité sont des ensembles particuliers de conditions extrêmes stipulées.

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.4]

6.3.2.4**répétabilité**

fidélité dans des conditions de répétabilité

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.5]

6.3.2.5**conditions de répétabilité**

conditions où les résultats d'essai/de mesurage indépendants sont obtenus par la même méthode sur des éléments d'essai/de mesurage identiques sur la même installation d'essai ou de mesure, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.6]

6.3.2.6**écart-type de répétabilité**

écart-type des résultats d'essai ou résultats de mesurage obtenus dans des conditions de répétabilité

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.7]

6.3.2.7**limite de répétabilité**

r

valeur inférieure ou égale à laquelle la différence absolue entre deux résultats de mesurage obtenus dans des conditions de répétabilité est attendue avec une probabilité de 95 %

NOTE Adapté de l'ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.9.

6.3.2.8**reproductibilité**

fidélité dans des conditions de reproductibilité

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.10]

6.3.2.9

conditions de reproductibilité

conditions où les résultats d'essai/de mesurage indépendants sont obtenus par la même méthode sur des éléments d'essai/de mesurage identiques sur différentes installations d'essai ou de mesure avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.11]

6.3.2.10

écart-type de reproductibilité

écart-type des résultats d'essai ou résultats de mesurage obtenus dans des conditions de reproductibilité

[ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.12]

6.3.2.11

limite de reproductibilité

R

valeur inférieure ou égale à laquelle la différence absolue entre deux résultats de mesurage obtenus dans des conditions de reproductibilité est attendue avec une probabilité de 95 %

NOTE Adapté de l'ISO 3534-2:2006^[13], 3.3.14.

6.3.3 Protocole de mesure et échantillons

Le protocole est le suivant.

- Utiliser une matrice alimentaire appropriée (voir l'Annexe B).
- Il convient que les concentrations en analyte soient choisies pour couvrir au minimum les niveaux inférieur, moyen et supérieur de tout le domaine de la méthode alternative. Le laboratoire organisateur doit démontrer que les échantillons sont homogènes (Référence [14]). Il convient également d'inclure un contrôle négatif.
- L'échantillon d'aliment peut être artificiellement contaminé avec l'analyte cible.
- Pour comparer la méthode alternative à la méthode de référence, les mêmes échantillons doivent être utilisés avec chaque méthode. Quatre sous-échantillons de chaque niveau (ou deux aliquotes, mesurées chacune avec les deux méthodes) sont préparés pour chaque laboratoire. Ils sont codés à l'aveugle mais étiquetés de façon que deux soient mesurés avec la méthode de référence et deux autres avec la méthode alternative.
- Les échantillons liquides (par opposition aux échantillons solides) sont garantis d'une meilleure homogénéité s'ils sont préparés et répartis sans modification du contenu microbiologique et utilisés correctement. Dans des cas particuliers, il peut s'avérer nécessaire de subdiviser les échantillons juste avant de procéder au mesurage avec les deux méthodes.
- Les mesurages doivent être effectués par chaque laboratoire participant et par le laboratoire organisateur à une date stipulée en utilisant des lots courants de milieux et de kits.
- Les règles d'arrondi des résultats doivent être définies par le laboratoire organisateur.
- Pour chaque niveau *j*, les résultats de l'étude interlaboratoires doivent être présentés comme illustré dans le Tableau 9.

Tableau 9 — Présentation des résultats de l'étude interlaboratoires au niveau j

| Laboratoire i | Méthode de référence (codée) | | Méthode alternative (codée) | |
|--------------------|------------------------------|------------|-----------------------------|------------|
| | Duplicat 1 | Duplicat 2 | Duplicat 1 | Duplicat 2 |
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| ... | | | | |
| p | | | | |

6.3.4 Détermination des caractéristiques de justesse et de fidélité

6.3.4.1 Généralités

Pour chaque niveau j , les caractéristiques de justesse et de fidélité suivantes sont déterminées:

- la médiane des moyennes obtenues dans les laboratoires pour les résultats de mesurage de la méthode de référence et de la méthode alternative (pour l'estimation du biais);
- l'écart-type de répétabilité de la méthode de référence et de la méthode alternative basé sur le calcul de l'estimateur Q_n de Rousseeuw (voir l'Annexe Q);
- l'écart-type de reproductibilité de la méthode de référence et de la méthode alternative basé sur l'estimateur Q_n de Rousseeuw (voir l'Annexe Q).

6.3.4.2 Calculs

Pour chaque niveau j , effectuer les calculs conformément aux étapes suivantes. Dans le texte suivant, l'indice j est omis.

Étape 1. À l'aide des résultats de mesurage obtenus pour la méthode de référence (colonnes 2 et 3 du Tableau 9), préparer le Tableau 10 pour chaque niveau j .

Tableau 10 — Résultats de mesurage, moyennes et écarts au niveau j
(pour la méthode de référence ou pour la méthode alternative)

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-------------|----------|----------|-------------|--------------------|----------|
| Laboratoire | Mesurage | | Moyenne | Écart à la moyenne | |
| 1 | y_{11} | y_{12} | \bar{y}_1 | d_{11} | d_{12} |
| 2 | y_{21} | y_{22} | \bar{y}_2 | d_{21} | d_{22} |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... |
| i | y_{i1} | y_{i2} | \bar{y}_i | d_{i1} | d_{i2} |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... |
| p | y_{p1} | y_{p2} | \bar{y}_p | d_{p1} | d_{p2} |

Dans le Tableau 10,

$$\bar{y}_i = \frac{y_{i1} + y_{i2}}{2}$$

est la moyenne des deux mesurages dans le laboratoire i et

$$d_{i1} = y_{i1} - \bar{y}_i = \frac{(y_{i1} - y_{i2})}{2}$$

$$d_{i2} = y_{i2} - \bar{y}_i = \frac{(y_{i2} - y_{i1})}{2}$$

sont les écarts de ces deux mesurages par rapport à leur moyenne.

Étape 2. Utiliser les écarts des colonnes 5 et 6 du Tableau 10 comme une série de $n = 2p$ valeurs et calculer l'estimateur d'échelle de Rousseeuw avec correction du biais Q_{intra} :

$$Q_{\text{intra}} = c_n Q_n \text{ avec } n = 2p$$

comme décrit à l'Annexe Q.

Étape 3. Calculer l'estimateur d'échelle de Rousseeuw avec correction du biais Q_{inter} :

$$Q_{\text{inter}} = c_n Q_n \text{ avec } n = p$$

des moyennes de laboratoire de la colonne 4 du Tableau 10 comme décrit à l'Annexe Q.

Étape 4. Calculer la médiane m des moyennes obtenues par les laboratoires pour les résultats de la méthode de référence (colonne 4 du Tableau 10).

Étape 5. Calculer l'écart-type de répétabilité s_r :

$$s_r = \sqrt{2} Q_{\text{intra}}$$

Calculer le coefficient de variation¹⁾ de la répétabilité, $C_{V,r}$:

$$C_{V,r} = \frac{s_r}{m}$$

Calculer la limite de répétabilité r :

$$r = 2,8s_r$$

Étape 6. Calculer l'écart-type interlaboratoires s_L :

$$s_L = \sqrt{Q_{\text{inter}}^2 - Q_{\text{intra}}^2}$$

ou 0, si $Q_{\text{inter}}^2 - Q_{\text{intra}}^2 \leq 0$.

1) Le terme «écart-type relatif» précédemment utilisé dans l'ISO 16140:2003 pour «coefficient de variation», est rendu obsolète par l'ISO 3534-1:2006, 2.38, Note 2. Dans le présent amendement, le symbole C_V est utilisé à la place de RSD .

Calculer l'écart-type de reproductibilité s_R :

$$s_R = \sqrt{s_L^2 + s_r^2}$$

Calculer le coefficient de variation¹⁾ de la reproductibilité, $C_{V,R}$:

$$C_{V,R} = \frac{s_R}{m}$$

Calculer la limite de reproductibilité R :

$$R = 2,8s_R$$

Étape 7. Répéter les étapes 1 à 6 pour la méthode alternative.

Après avoir effectué les calculs des étapes 1 à 7 pour chaque niveau j , combiner les résultats des déterminations pour tous les q niveaux, comme dans le Tableau 11.

Une relation fonctionnelle peut exister entre l'écart-type de répétabilité ou l'écart-type de reproductibilité et le niveau médian m . Des méthodes permettant de l'établir sont indiquées dans l'ISO 5725-2.

Tableau 11 — Résultats de l'analyse statistique

| Niveau | Méthode de référence | | | Méthode alternative | | |
|--------|----------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------|----------------------------|--------------------------------|
| | médiane | écart-type de répétabilité | écart-type de reproductibilité | médiane | écart-type de répétabilité | écart-type de reproductibilité |
| 1 | $m_{1,ref}$ | $s_{r1,ref}$ | $s_{R1,ref}$ | $m_{1,alt}$ | $s_{r1,alt}$ | $s_{R1,alt}$ |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |
| j | $m_{j,ref}$ | $s_{rj,ref}$ | $s_{Rj,ref}$ | $m_{j,alt}$ | $s_{rj,alt}$ | $s_{Rj,alt}$ |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |
| q | $m_{q,ref}$ | $s_{rq,ref}$ | $s_{Rq,ref}$ | $m_{q,alt}$ | $s_{rq,alt}$ | $s_{Rq,alt}$ |

6.3.5 Contrôle de la cohérence des résultats de mesurage

Deux techniques graphiques de cohérence sont appliquées pour identifier les résultats de mesurage ou les laboratoires incohérents par rapport aux autres résultats de mesurage ou laboratoires: les statistiques h et k de Mandel dans une version robustifiée.

6.3.5.1 Pour la méthode de référence, calculer la statistique de cohérence interlaboratoires de Mandel h_{ij} , pour chacun des p laboratoires, $i = 1 \dots p$, et pour chacun des q niveaux $j = 1 \dots q$ en divisant la moyenne \bar{y}_{ij} (colonne 4 du Tableau 10 pour chaque niveau j) moins la médiane m_j (colonne 2 du Tableau 11) pour ce niveau j par l'estimateur d'échelle de Rousseeuw avec correction du biais $Q_{inter,j}$ pour ce niveau j (comme déterminé à l'Étape 3),

$$h_{ij} = \frac{\bar{y}_{ij} - m_j}{Q_{inter,j}}$$

Tracer les valeurs $p \times q$ (h_{ij}) de façon séquentielle dans l'ordre suivant: laboratoire 1, niveaux 1 ... q , laboratoire 2, niveaux 1 ... q , ... jusqu'au laboratoire p , niveaux 1 ... q (voir la Figure W.1).

Ajouter les indicateurs pour la statistique h de Mandel aux seuils de signification de 5 % et de 1 % (Tableau V.1) sous forme de lignes horizontales à ce tracé. En cas de cohérence interlaboratoires, on s'attend à ce que seuls 5 % ou 1 %, respectivement, des valeurs h_{ij} se trouvent au-dessus de ces lignes horizontales.