

---

---

**Microbiologie de la chaîne  
alimentaire — Validation des  
méthodes —**

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

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

*Microbiology of the food chain — Method validation —  
Part 4: Protocol for method validation in a single laboratory*

[ISO 16140-4:2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-e67d75df8683/iso-16140-4-2020)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-  
e67d75df8683/iso-16140-4-2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-e67d75df8683/iso-16140-4-2020)



**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 16140-4:2020

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-e67d75df8683/iso-16140-4-2020>



**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](mailto:copyright@iso.org)

Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	v
Introduction.....	vi
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>2</b>
<b>4</b> <b>Principes généraux de la validation dans un seul laboratoire de méthodes de détECTION et de quantification</b> .....	<b>4</b>
4.1    Généralités.....	4
4.2    Principes de l'approche factorielle.....	5
4.3    Principes de l'approche conventionnelle.....	6
<b>5</b> <b>Protocole technique de validation — Approche factorielle</b> .....	<b>8</b>
5.1    Méthodes qualitatives.....	8
5.1.1    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire par rapport à une méthode de référence.....	8
5.1.2    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire sans méthode de référence.....	15
5.2    Méthodes quantitatives.....	18
5.2.1    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire par rapport à une méthode de référence.....	18
5.2.2    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire sans méthode de référence.....	21
<b>6</b> <b>Protocole technique de validation — Approche conventionnelle</b> .....	<b>22</b>
6.1    Méthodes qualitatives.....	22
6.1.1    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire par rapport à une méthode de référence.....	22
6.1.2    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire sans méthode de référence.....	23
6.2    Méthodes quantitatives.....	24
6.2.1    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire par rapport à une méthode de référence.....	24
6.2.2    Étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire sans méthode de référence.....	26
<b>7</b> <b>Résumé des limites d'acceptabilité</b> .....	<b>28</b>
<b>Annexe A (informative) Liste des facteurs et niveaux de facteurs relatifs à la validation de la méthode factorielle</b> .....	<b>30</b>
<b>Annexe B (informative) Calcul de la reproductibilité interne applicable aux méthodes qualitatives d'après l'étude LOD<sub>50</sub> décrite en 6.1.2.3</b> .....	<b>32</b>
<b>Annexe C (informative) Exemple d'étude factorielle de validation de méthodes dans un seul laboratoire pour une méthode quantitative par rapport à une méthode de référence</b> .....	<b>33</b>
<b>Annexe D (informative) Exemple d'étude factorielle de validation de méthodes dans un seul laboratoire pour une méthode qualitative par rapport à une méthode de référence</b> .....	<b>39</b>
<b>Annexe E (informative) Exemple d'étude factorielle de validation de méthodes dans seul un laboratoire pour la variabilité du LOD<sub>50</sub> d'une méthode qualitative sans méthode de référence</b> .....	<b>43</b>
<b>Annexe F (informative) Détermination de la fidélité en cas d'échantillons artificiellement contaminés instables</b> .....	<b>46</b>
<b>Annexe G (informative) Protocole pour la validation dans un seul laboratoire de méthodes alternatives pour la confirmation microbiologique et le typage</b> .....	<b>48</b>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 16140-4:2020

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-e67d75df8683/iso-16140-4-2020>

## 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](http://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](http://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](http://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](http://www.iso.org/fr/members.html).

## 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 16140-5 et l'ISO 16140-6). Dans le cas où une méthode est validée dans un seul laboratoire (comme décrit dans le présent document), 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.»

Le présent document, 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. L'ISO 16140-5 décrit les protocoles 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. Le présent document et l'ISO 16140-5 peuvent être utilisés pour la validation avec méthode de référence. Le présent document (pour les méthodes qualitatives et quantitatives) et l'ISO 16140-5 (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.

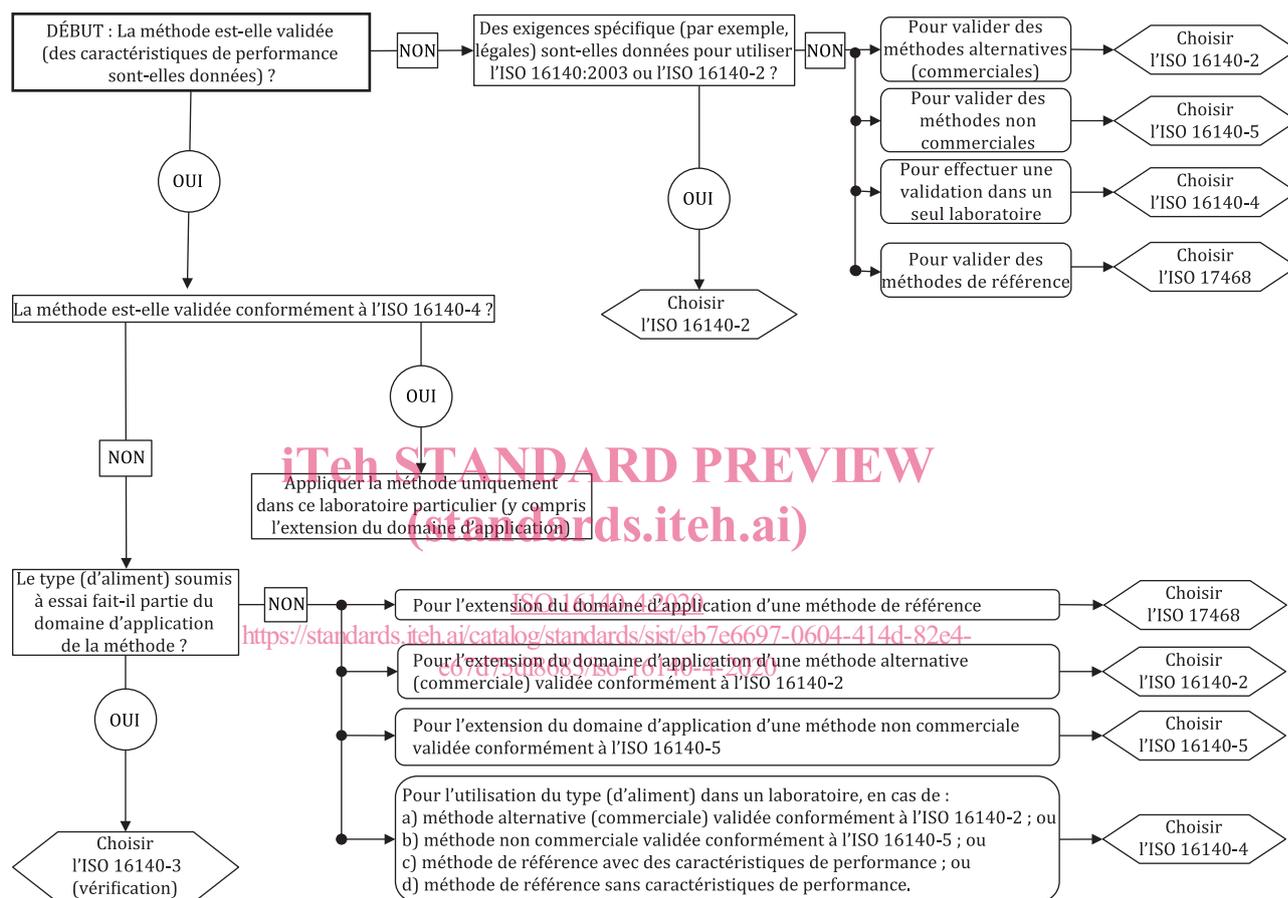
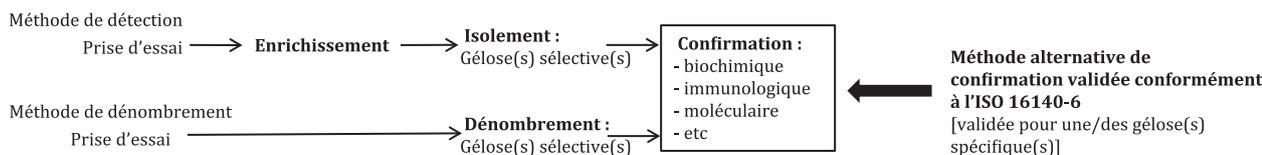


Figure 1 — Logigramme relatif à l'application de la série ISO 16140

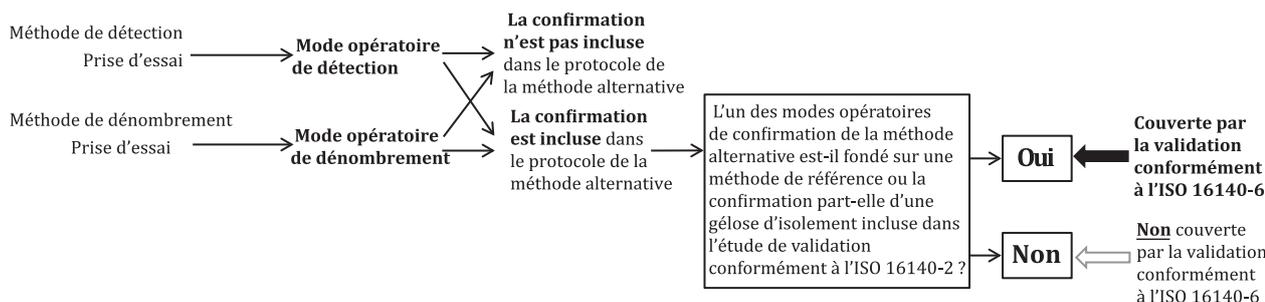
NOTE Dans le présent document, les termes «catégorie», «type» et/ou «élément» sont parfois associés au terme «(aliment)» pour une meilleure compréhension. Cependant, le terme «(aliment)» peut être remplacé par «(aliment pour animaux)» et par les autres secteurs de la chaîne alimentaire tels que mentionnés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

**Méthode de référence**



**Méthode alternative validée conformément à l'ISO 16140-2**



**Figure 2 — Utilisation de méthodes alternatives de confirmation (voir l'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 avec 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. L'ISO 16140-5 est destinée à être utilisée lors d'études interlaboratoires comprenant quatre à sept laboratoires pour les méthodes quantitatives et quatre à neuf laboratoires pour les méthodes qualitatives. L'ISO 16140-5 ne peut être utilisée 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 méthode de référence	Sans méthode de référence
1	Le présent document: — factorielle (voir en <a href="#">5.1.1</a> et <a href="#">5.2.1</a> ), ou — conventionnelle (voir en <a href="#">6.1.1</a> et <a href="#">6.2.1</a> )	Le présent document: — factorielle (voir en <a href="#">5.1.2</a> et <a href="#">5.2.2</a> ) ou — conventionnelle (voir en <a href="#">6.1.2</a> et <a href="#">6.2.2</a> )
4 à 7 (méthode quantitative)/ 4 à 9 (méthode qualitative)	ISO 16140-5: pour les méthodes non commerciales uniquement	ISO 16140-5: 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

L'objectif du présent document est d'évaluer la performance des méthodes de détection ou de quantification dans un seul laboratoire, généralement dans plusieurs catégories (d'aliments) et types (d'aliments). La validation dans un seul laboratoire des méthodes alternatives pour la confirmation microbiologique et le typage peut également être effectuée dans certaines conditions: les principes généraux sont les mêmes que ceux décrits dans l'ISO 16140-6 pour la validation des méthodes alternatives (commerciales) pour la confirmation microbiologique et le typage (excepté qu'il n'y a pas d'étude interlaboratoires). Des informations plus détaillées sont données à l'[Annexe G](#).

Les protocoles du présent document valident la méthode uniquement pour le laboratoire concerné. Ces protocoles ne permettent pas sa généralisation à d'autres laboratoires. Cependant, il est possible de l'étendre à d'autres laboratoires si le présent document est utilisé comme première phase de validation d'une méthode de référence, qui doit être suivie d'une étude interlaboratoires telle que décrite dans l'ISO 17468.

#### ISO 16140-4:2020

Si une méthode de référence est disponible, la validation d'une méthode est effectuée en comparant la méthode alternative avec la méthode de référence. Cela permet d'inclure dans le processus de validation les échantillons naturellement contaminés et donne ainsi une image plus réaliste de la performance de la méthode. Si aucune méthode de référence n'est disponible, le processus de validation repose uniquement sur des échantillons dont les niveaux de contamination sont connus. Le présent document décrit les protocoles applicables dans les deux cas.

Les principes généraux applicables aux validations dans un seul laboratoire des méthodes de détection et de quantification sont les mêmes que ceux décrits dans l'ISO 16140-2 pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) par rapport à une méthode de référence. Le présent document ne peut pas être utilisé sans l'ISO 16140-1 ou l'ISO 16140-2, car de nombreuses définitions et de nombreux modes opératoires sont donnés dans ces Normes internationales. Outre les paramètres de validation décrits dans l'ISO 16140-2, le présent document spécifie le calcul de la répétabilité interne et de la reproductibilité interne. Il est inutile de calculer ces paramètres si une étude interlaboratoires doit être effectuée après la validation dans un seul laboratoire (c'est-à-dire, si la validation dans un seul laboratoire n'est que la première phase de la validation). La fiabilité des paramètres de performance obtenus avec le présent document est comparable à l'ISO 16140-2. Cela signifie également que la charge de travail associée aux protocoles techniques du laboratoire est comparable à l'étude comparative des méthodes de l'ISO 16140-2.

Le présent document fournit deux stratégies de validation dans un seul laboratoire des méthodes de détection et de quantification. La première stratégie repose sur une approche factorielle alors que la seconde stratégie utilise l'approche conventionnelle extraite des protocoles de l'ISO 16140-2. En outre, les protocoles de détermination de la reproductibilité interne pour les méthodes quantitatives sont décrits.

Les avantages de l'utilisation d'une approche factorielle par rapport à l'approche conventionnelle sont qu'elle tient compte des conditions spécifiques que le laboratoire rencontre pendant les essais de routine et qu'elle fournit plus d'informations sur les facteurs (techniciens, milieux de culture, etc.) variant dans le laboratoire pour des matrices (d'aliments) appropriées, tout en utilisant moins d'échantillons pour

évaluer la performance de la méthode. L'approche factorielle permet d'évaluer la fidélité des méthodes quantitatives. Elle permet d'obtenir des paramètres de validation des méthodes dans un seul laboratoire fiables et représentatifs, notamment l'écart-type de reproductibilité interne, les valeurs LOD<sub>50</sub> ou RLOD, car elle fournit des informations sur la variabilité de ces valeurs dans différentes conditions de mesure. L'approche factorielle requiert moins de résultats d'essai pour obtenir des niveaux de fiabilité similaires ou supérieurs à ceux obtenus avec l'approche conventionnelle.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 16140-4:2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-e67d75df8683/iso-16140-4-2020)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/eb7e6697-0604-414d-82e4-e67d75df8683/iso-16140-4-2020>

# Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes —

## Partie 4:

# Protocole pour la validation de méthodes dans un seul laboratoire

## 1 Domaine d'application

Le présent document établit les principes généraux ainsi que les protocoles techniques pour la validation dans un seul laboratoire des méthodes applicables à la microbiologie de la chaîne alimentaire. Les protocoles du présent document valident la méthode uniquement pour le laboratoire effectuant l'étude.

Le présent document est applicable à la validation dans un seul laboratoire 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;
- méthodes de confirmation ou de typage de micro-organismes. Cette validation remplacera uniquement le mode opératoire de confirmation ou de typage d'une méthode spécifiée (voir l'[Annexe G](#)).

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.

La validation dans un seul laboratoire est requise si une validation interlaboratoires conformément à l'ISO 16140-2 n'est pas appropriée. Les applications possibles sont les suivantes:

- validation d'une méthode interne;
- étude d'évaluation de méthode lors du processus de validation d'une méthode de référence conformément à l'ISO 17468;
- extension du domaine d'application d'une méthode validée de l'ISO 16140-2, par exemple extension de catégorie ou taille de la prise d'essai;
- modifications de méthodes existantes.

La validation dans un seul laboratoire est la deuxième étape de la normalisation d'une méthode de référence (voir l'ISO 17468). Elle est uniquement applicable aux méthodes qui sont intégralement spécifiées par rapport à tous les paramètres pertinents (notamment les tolérances sur les températures et les spécifications sur les milieux de culture) et qui ont déjà été optimisées.

## 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 6887 (toutes les parties), *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

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

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

#### bloc

groupe de configurations (3.12) qui doivent être effectuées en parallèle ou dans un court laps de temps, et qui sont utilisées pour les mêmes échantillons

EXEMPLE Bloc = configurations effectuées en parallèle =

technicien «a» + milieu de culture «b» + température «a» + condition d'incubation «a»

et

technicien «b» + milieu de culture «a» + température «b» + condition d'incubation «b».

Note 1 à l'article: à l'article Cette définition repose sur la façon dont l'ISO 3534-3:2013, 3.1.25, définit le «bloc». Dans l'ISO 3534-3:2013, 3.1.25, la définition est plus générale car elle définit un bloc comme un groupement d'unités expérimentales qui sont homogènes dans un certain sens. La signification statistique est la même.

### 3.2

#### 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.

### 3.3

#### niveau de facteur

valeur des facteurs (3.2) 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.

### 3.4 répétabilité interne

fidélité de mesure dans un ensemble de conditions de répétabilité interne dans un laboratoire spécifique

Note 1 à l'article: à l'article Les conditions de répétabilité interne comprennent le même mode opératoire de mesure, les mêmes techniciens, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement, le même lieu, et des mesurages répétés sur des objets identiques ou similaires sur une courte période de temps dans un laboratoire particulier.

### 3.5 reproductibilité interne

fidélité de mesure dans un ensemble de conditions de reproductibilité interne dans un laboratoire spécifique

Note 1 à l'article: à l'article Les conditions de reproductibilité interne comprennent différents techniciens, différentes conditions de fonctionnement et des mesurages répétés sur des objets identiques ou similaires sur une plus longue période de temps dans un laboratoire particulier.

### 3.6 niveau de détection

**LOD<sub>x</sub>**  
<méthodes qualitatives> concentration en analyte mesurée, obtenue par un mode opératoire de mesure donné, dont la *probabilité de détection* (3.9) est *x*

EXEMPLE LOD<sub>50</sub> est le niveau de détection auquel 50 % des essais donnent un résultat positif.

Note 1 à l'article: à l'article Le terme «niveau de détection» est utilisé pour les méthodes qualitatives en microbiologie sur la base d'analyses de réplicats avec trois différents niveaux de contamination de l'analyte cible dans une matrice soumise à essai. Les réplicats sont analysés et le nombre de résultats positifs est consigné (par exemple, 20 %, 70 % et 100 %) respectivement à chaque niveau de contamination. Ces données sont ensuite utilisées pour déterminer le nombre de cellules qui donnerait 50 % de résultats positifs avec un modèle linéaire généralisé (voir l'ISO 16140-2). Cela diffère du mode opératoire utilisé pour les méthodes chimiques et physiques pour lesquelles une «limite de détection» est définie comme la quantité minimale d'un analyte qui peut être distinguée de l'absence de cet analyte avec un niveau de confiance déclaré.

[SOURCE: ISO 16140-1:2016, 2.35, modifiée — La Note 1 à l'article a été légèrement modifiée.]

### 3.7 limite de quantification

**LOQ**  
limite de détermination  
<méthodes quantitatives> plus faible concentration en analyte pouvant être quantifiée avec un niveau acceptable de fidélité et de justesse dans les conditions de l'essai

[SOURCE: ISO 16140-1:2016, 2.36]

### 3.8 plan orthogonal

plan factoriel, dans lequel pour chaque paire de *facteurs* (3.2), chaque combinaison de *niveaux de facteur* (3.3) 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.

### 3.9 probabilité de détection POD

proportion de résultats analytiques positifs pour une méthode qualitative sur une matrice donnée à une concentration en analyte ou à un niveau d'analyte donné

Note 1 à l'article: à l'article Pour les méthodes qualitatives, la POD représente la probabilité de détection.

[SOURCE: ISO 16140-1:2016, 2.53, modifiée — La Note 1 à l'article a été ajoutée.]

### 3.10 niveau de détection relatif RLOD

niveau de détection (3.6) à  $P = 0,50$  ( $LOD_{50}$ ) de la méthode alternative (commerciale) divisé par le niveau de détection à  $P = 0,50$  ( $LOD_{50}$ ) de la méthode de référence

Note 1 à l'article: à l'article Pour les besoins de l'acceptation de la méthode alternative, le RLOD obtenu est comparé avec la limite d'acceptabilité pour vérifier sa conformité.

[SOURCE: ISO 16140-1:2016, 2.61]

### 3.11 validation de méthodes dans un seul laboratoire validation de méthodes internes

établissement des caractéristiques de performance d'une méthode pour un laboratoire particulier dans lequel la validation est effectuée

### 3.12 configuration

combinaison de niveaux de facteurs (3.3)

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 de la validation dans un seul laboratoire de méthodes de détection et de quantification

### 4.1 Généralités

Une étude de validation dans un seul laboratoire de méthodes de détection ou de quantification est la première étape dans le cadre d'une validation générale de méthodes et est nécessaire pour évaluer la performance de la méthode sur plusieurs types (d'aliments) et éléments (d'aliments). Dans le cadre d'une validation générale de méthodes, la seconde étape est une étude interlaboratoires visant à évaluer la performance de la méthode dans les laboratoires.

Une étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire sert à démontrer la performance de la méthode dans le laboratoire qui a réalisé l'étude. Les résultats sont valides uniquement pour ce laboratoire particulier.

NOTE L'Annexe G énonce les principes généraux applicables à la validation dans un seul laboratoire de méthodes alternatives pour la confirmation microbiologique et le typage.

Le présent document décrit deux approches applicables à la validation de méthodes dans un seul laboratoire:

- une approche factorielle, avec:
  - caractéristiques de performance extraites de l'ISO 16140-2;

- plan d'étude factoriel orthogonal (voir l'ISO 3534-3);
- davantage de configurations de routine couvertes et moins d'essais que l'approche conventionnelle;
- approche conventionnelle, avec:
  - caractéristiques de la performance extraites de l'ISO 16140-2;
  - mode opératoire par étapes;
  - plan d'étude extrait de l'ISO 16140-2.

Les protocoles de validation dépendent de la nature qualitative ou quantitative de la méthode, et du fait qu'une approche factorielle ou conventionnelle est choisie. L'approche de validation par plan factoriel dans un seul laboratoire ne peut être utilisée que pour une méthode intégralement développée et optimisée. Une approche conventionnelle étudie la méthode au niveau d'une configuration spécifique (c'est-à-dire un groupe de conditions spécifiques sous lesquelles la méthode est effectuée). Les principales différences applicables à l'approche de validation dans un seul laboratoire abordée par le présent document sont le nombre d'éléments (d'aliments) différents et le nombre d'essais requis pour prouver que la méthode fonctionne correctement. Il est possible de valider des méthodes, avec et sans méthode de référence, à l'aide des protocoles décrits.

Le domaine d'application du protocole de validation doit être déterminé au début du processus, par exemple: validation de méthodes internes, deuxième étape du processus de validation conformément à l'ISO 17468, extension du domaine d'application d'une méthode validée de l'ISO 16140-2, modification de méthodes existantes.

Pour les méthodes comprenant une étape de détection par PCR, une évaluation des caractéristiques de performance pour l'étape de détection par PCR est décrite dans l'ISO 22118. Il convient de commencer par une évaluation des paramètres de performance pertinents de l'étape de PCR (selon l'ISO 22118), puis de poursuivre par une validation du mode opératoire d'analyse complet (par exemple, selon le présent document) pour s'assurer que l'organisme cible présent dans les échantillons soumis à essai est détecté avec fiabilité.

Le choix des catégories (d'aliments) et des types (d'aliments) utilisés dans l'étude de validation doit être effectué conformément à l'ISO 16140-2:2016, 5.1.3.1. Lors de l'étude de validation de méthodes dans un seul laboratoire, il est recommandé de tenir compte également de chaque catégorie (d'aliment) correspondant à la méthode d'essai. Des recommandations sur le choix des catégories (d'aliments) et des types (d'aliments) sont données dans l'ISO 16140-2:2016, Annexe A.

Le domaine d'application de l'étude de validation, les résultats (tableaux et calculs) des différentes parties et l'interprétation des résultats, y compris des résultats divergents, doivent être inclus dans un rapport d'étude de validation.

## 4.2 Principes de l'approche factorielle

Dans une approche factorielle, une variation systématique des facteurs est utilisée pour étudier la performance de la méthode dans une gamme définie de conditions généralement rencontrées lors de l'application de routine de la méthode. Les facteurs types sont le technicien ou la conservation des échantillons, qui peuvent même varier dans un seul et même laboratoire utilisant un mode opératoire particulier. En étudiant la méthode sous différentes conditions en même temps, l'approche factorielle permet de généraliser la validation à des conditions généralement rencontrées en laboratoire et n'est pas simplement limitée à une seule condition.

Il est nécessaire de choisir quatre facteurs principaux supposés refléter la variation type des conditions rencontrées lors de l'application de routine de la méthode. Il est recommandé d'effectuer une analyse de risque du flux analytique pour choisir les facteurs. Des exemples de facteurs sont donnés à l'[Annexe A](#).

La variation systématique des facteurs assure que leur impact combiné sur les paramètres de performance généraux, notamment la fidélité et la sensibilité, peut être déduit. Cela est l'inverse