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

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

Microbiology of the food chain — Method validation —

*Part 3: Protocol for the verification of reference methods and
validated alternative methods in a single laboratory*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48baa79a-a57f-4d5a-b73f-fda5fd4254e2/iso-16140-3-2021>



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

[ISO 16140-3:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48baa79a-a57f-4d5a-b73f-fda5fd4254e2/iso-16140-3-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48baa79a-a57f-4d5a-b73f-fda5fd4254e2/iso-16140-3-2021>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2021

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.....	v
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principes généraux de vérification des méthodes qualitatives (recherche) et des méthodes quantitatives	5
4.1 Généralités.....	5
4.2 Vérification de la mise en œuvre.....	5
4.3 Vérification des matrices (d'aliments).....	6
4.4 Exigences relatives à la vérification de la mise en œuvre et à la vérification des matrices (d'aliments).....	6
4.5 Caractéristiques de performance.....	10
5 Méthodes qualitatives — Protocole technique de vérification	10
5.1 Détermination de la LOD ₅₀ estimée (eLOD ₅₀).....	10
5.2 Protocole d'étude.....	10
5.3 Sélection des matrices (d'aliments).....	12
5.4 Contamination artificielle.....	12
5.4.1 Sélection des souches.....	12
5.4.2 Ensemencement des prises d'essai.....	12
5.5 Évaluation des résultats.....	14
5.5.1 Détermination de la eLOD ₅₀ à l'aide du protocole 1.....	14
5.5.2 Détermination de la eLOD ₅₀ à l'aide du protocole 2.....	16
5.5.3 Utilisation du protocole 3.....	18
5.6 Limites d'acceptabilité.....	18
5.7 Analyse des causes.....	19
6 Méthodes quantitatives — Protocole technique de vérification	20
6.1 Détermination de l'écart-type de reproductibilité intralaboratoire.....	20
6.1.1 Généralités.....	20
6.1.2 Protocole d'étude.....	20
6.1.3 Sélection de la matrice (d'aliment).....	22
6.1.4 Contamination naturelle.....	22
6.1.5 Contamination artificielle.....	22
6.1.6 Évaluation des résultats.....	24
6.1.7 Limite d'acceptabilité.....	24
6.1.8 Analyse des causes.....	26
6.2 Détermination du biais estimé (eBiais).....	26
6.2.1 Généralités.....	26
6.2.2 Protocole d'étude.....	26
6.2.3 Sélection des matrices (d'aliments).....	27
6.2.4 Contamination artificielle.....	27
6.2.5 Évaluation des résultats.....	28
6.2.6 Limite d'acceptabilité.....	28
6.2.7 Analyse des causes.....	29
7 Méthodes alternatives validées de confirmation et de typage — Protocole technique de vérification	30
7.1 Généralités.....	30
7.2 Vérification de la mise en œuvre.....	30
7.3 Protocole d'étude.....	30
7.3.1 Généralités.....	30
7.3.2 Sélection des souches.....	31
7.4 Évaluation des résultats.....	31

ISO 16140-3:2021(F)

7.5	Limite d'acceptabilité.....	31
7.6	Analyse des causes.....	32
8	Résumé des limites d'acceptabilité applicables à la vérification des méthodes validées.....	32
Annexe A	(informative) Classification des catégories (d'aliments) et suggestions de combinaisons cibles pour les études de vérification.....	33
Annexe B	(informative) Recommandations sur la façon de choisir une matrice (d'aliment) difficile ou des matrices (d'aliments) difficiles (challenging) pour la vérification des matrices (d'aliments).....	49
Annexe C	(informative) Vérification de la méthode qualitative — Exemple.....	52
Annexe D	(informative) Vérification de la méthode quantitative — Exemple.....	61
Annexe E	(informative) Vérification de la méthode alternative validée de confirmation ou de typage — Exemple.....	66
Annexe F	(normative) Protocole pour la vérification dans un seul laboratoire de méthodes de référence non validées.....	70
Bibliographie	79

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

[ISO 16140-3:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48baa79a-a57f-4d5a-b73f-fda5fd4254e2/iso-16140-3-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48baa79a-a57f-4d5a-b73f-fda5fd4254e2/iso-16140-3-2021>

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 signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute autre 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 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 sur la 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/members.html.

Introduction

0.1 La série ISO 16140

La série ISO 16140 a été élaborée en réponse à la nécessité de disposer de différentes techniques de validation ou de 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 dans un seul laboratoire de méthodes de référence et de méthodes alternatives validées;*
- *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 unique laboratoire (voir l'ISO 16140-4), aucune étude interlaboratoires n'est effectuée. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/481ba79a-a57f-4d5a-b73f-fd5614351e2/iso-16140-3-2021>
- La deuxième étape est la vérification des méthodes, au cours de laquelle un laboratoire prouve qu'il peut mettre en œuvre une méthode validée de manière satisfaisante. Celle-ci est décrite dans le présent document (c'est-à-dire, 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 qu'«il s'agit des normes ISO et des normes publiées conjointement par l'ISO et le CEN ou d'autres normes régionales/nationales de statut 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 dans le laboratoire effectuant l'étude. Dans ce cas, aucune vérification (comme décrit dans le présent document) n'est requise. 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. L'ISO 16140-4 et l'ISO 16140-5 peuvent être utilisées pour la validation comparativement à une méthode de référence. L'ISO 16140-4 (méthodes qualitatives et quantitatives) et l'ISO 16140-5 (méthodes quantitatives uniquement) peuvent également être utilisées pour la validation sans méthode de référence.

Le logigramme de la [Figure 1](#) donne un aperçu 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.

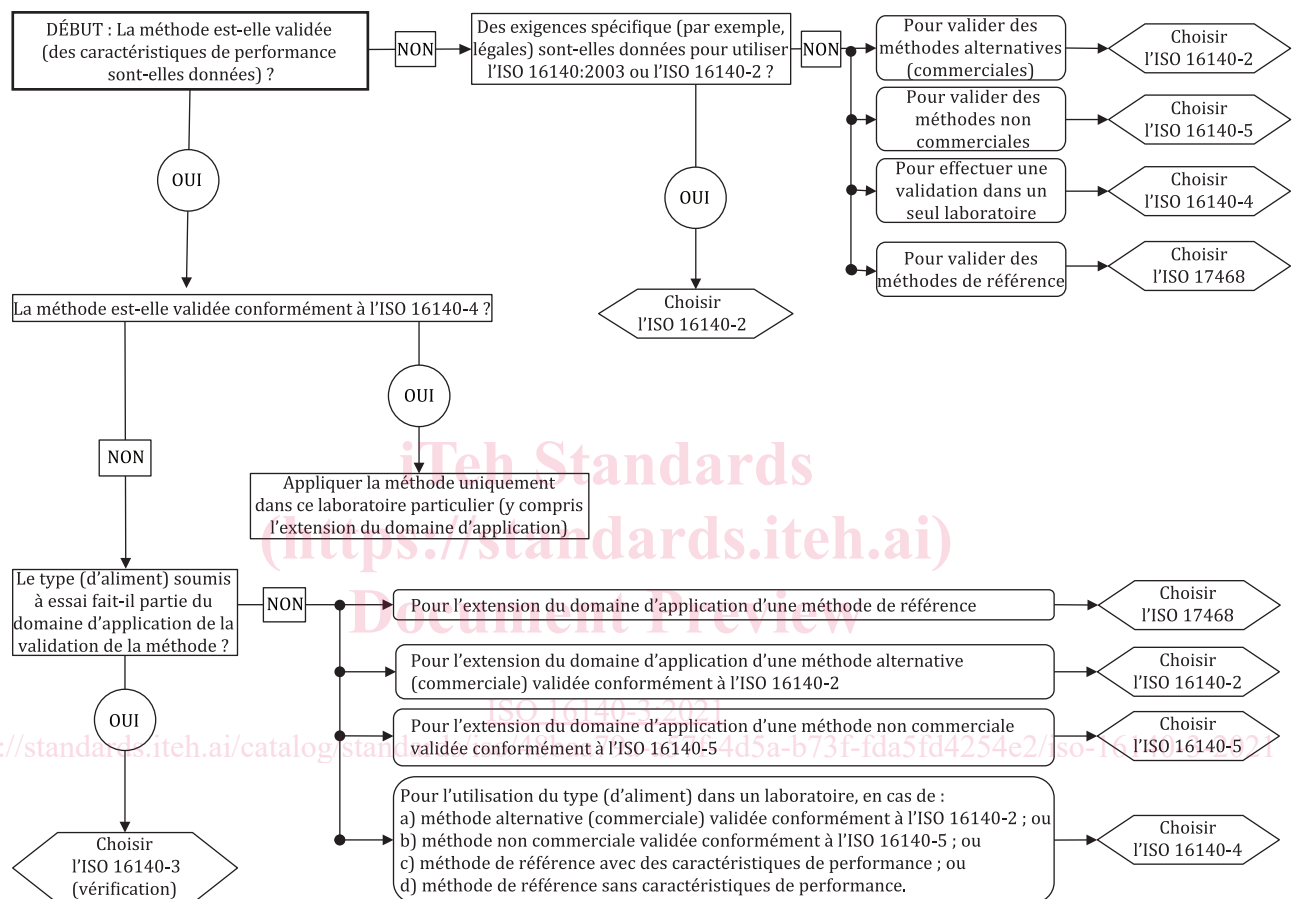


Figure 1 — Logigramme relatif à l'application de la série ISO 16140

NOTE 1 Dans le présent document, les termes «catégorie», «type» et/ou «matrice» 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 domaines de la chaîne alimentaire tels que mentionnés à l'[Article 1](#).

NOTE 2 Le principe général de la vérification des méthodes est que la méthode à vérifier (méthode alternative ou de référence) doit être validée. Cependant, certaines méthodes de référence (y compris les normes ISO ou CEN) ne sont pas encore (entièrement) validées. Pour la vérification de ces méthodes, les protocoles sont décrits à l'[Annexe E](#).

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 de typage alternatives (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 est validée,