

# La normalisation dans les laboratoires : le cas de la validation des méthodes d'analyse

Max Feinberg

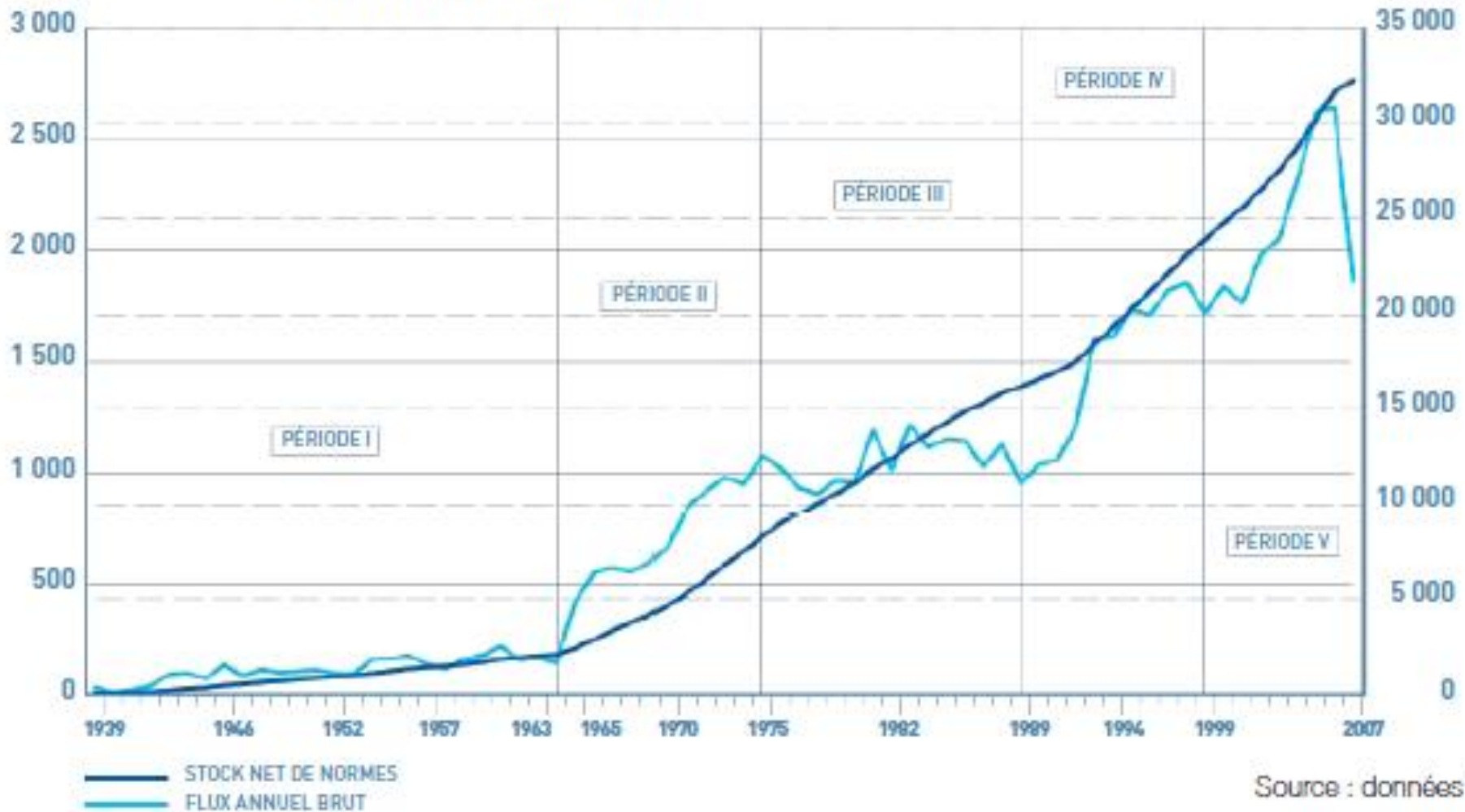
[feinberg.max@9business.fr](mailto:feinberg.max@9business.fr)







**GRAPHIQUE 1 / ÉVOLUTION DU NOMBRE DE NORMES PUBLIÉES**  
(flux bruts et stock net)



## Le « boom » de normalisation

## ● Décret de 2009 (Afnor)

- ... document de référence élaboré de manière consensuelle ..., portant sur des règles, des caractéristiques, des recommandations ..., relatives à des produits, des services, des méthodes, des processus ou des organisations.

## ● Directive Européenne 1983/189

- Spécification technique approuvée par un organisme à activité normative ... dont l'observation n'est pas obligatoire.

## ● « Standard » = norme, seuil, limite, étalon,...



# Qu'est-ce qu'une norme ?

norme française

**NF ISO 21748**

Decembre 2010

Indice de classement : **X 06-067**

ICS : 17.020

## **Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de la justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure**

E : Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation

D : Leitfaden zur Anwendung von Schätzwerten der Wiederholbarkeit, der Vergleichspräzision und der Genauigkeit im Rahmen der Bewertung der MeBunsicherheit

### ***Norme française homologuée***

par décision du Directeur Général d'AFNOR le 24 novembre 2010 pour prendre effet le 24 décembre 2010.

Remplace le fascicule de documentation **FD ISO/TS 21748**, de juin 2004.

### ***Correspondance***

Le présent document reproduit intégralement la Norme internationale ISO 21748:2010.



# PROJET DE NORME INTERNATIONALE ISO/DIS 14470

ISO/TC 34

Secrétariat: AFNOR

Début de vote:  
2010-03-05

Vote clos le:  
2010-08-05

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

## **Irradiation des aliments — Exigences pour l'élaboration, la validation et le contrôle de routine du processus d'irradiation ionisante utilisé dans le traitement des aliments**

*Food irradiation — Requirements for the development, validation and routine control of the ionizing radiation process used for the treatment of food*

ICS 67.020

Qu'est-ce la normalisation « sensu stricto » ?

## Organisation de la normalisation

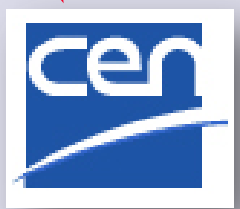




Observateur



Membre



# Une hiérarchie

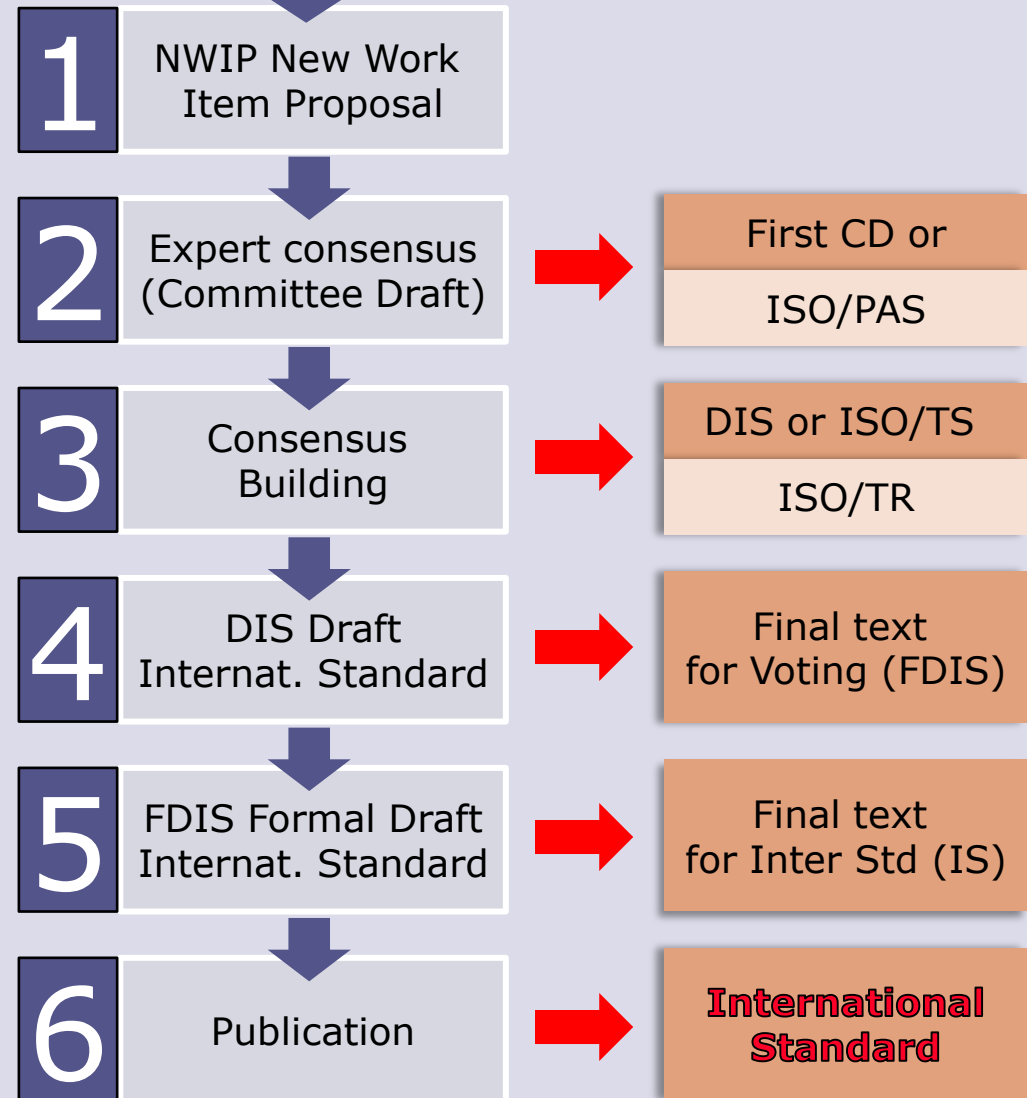
- **Très nombreux comités techniques en fonction des domaines d'activité (normes verticales) mais aussi horizontaux (statistiques, qualité, environnement).**
- **Subdivisés en sous-comités, groupes de travail, etc.**
- **Limite à la durée des travaux.**
- **Souvent associées à des organismes certificateurs (Certification Afnor).**



## **Une structure complexe**

# Technical Committee Route

- ISO Standard.
- ISO/PAS Publicly Available Specification.
- ISO/TS Technical Specification.
- ISO/TR Technical Report.
- ISO Guide.



Des procédures

- **TC 174**      **Fruit and vegetable juice (dormant).**
- **TC 194**      **Utensils in contact with food.**
- **TC 275**      **Food analysis - Horizontal methods.**
  - WG0      General considerations .
  - WG2      Sweeteners.
  - WG5      Biotoxins .
  - WG6      Microbiology of the food chain.
  - WG9      Vitamins and Carotenoids.
  - WG10      Elements and their chemical species.
  - WG11      Genetically modified foodstuffs.
  - WG12      Food allergens.
  - WG13      Process contaminants.
- **TC 302**      **Milk and milk products.**
- **TC 307**      **Oilseeds, vegetable and animal fats and oils and their by-products.**
- **TC 327**      **Animal feeding stuffs.**
- **TC 338**      **Cereals and cereal products.**



## **CEN Technical Committees for Food**

Norme	Document	 International Organization for Standardization		
Aliments ionisés	ISO 14470	TC34/WG10	TC275/WG8	V03B/GM8
Validation des kits micro.	ISO 16140-n	TC34/SC9		V08B/GM6
Analyse inter-laboratoires	ISO 15725-n	TC69/SC6		X06E
Multi-pesticides	NF EN 12393-n		TC275/WG13	V03B/GM13
Validation des méthodes	NF V03-110			V03B GT Validation



## Exemples d'élaboration de normes

- **Démarche volontaire gérée par les acteurs économiques.**
  - Associations à but non lucratif.
  - Adhésion libre.
- **Déboucher sur un consensus.**
  - Procédure contradictoire mais non démocratique.
  - Obtenir un avantage concurrentiel (lobbying).
- **Révision régulière.**
- **Tenir compte de la réglementation.**
  - Rôle des pouvoirs publics.



## Points clés de la normalisation

- **Démarche réglementaire gérée par les Pouvoirs publics.**

- Rôle des ministères et traités internationaux.

- **Pas de « normes ».**

- Spécifications d'application obligatoire regroupées dans des monographies (Pharmacopée et Codex).

- **Procédures par étapes.**

- Comités d'experts désignés.
- Représentants de l'État et membres internationaux.

**À RETENIR**  
Spécification : « une ou plusieurs procédure(s) analytiques(s) associée(s) à des limites d'acceptation ».



**Et pour la pharmacie ?**

## ● **Commission nationale de pharmacopée.**

- Gérée par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS).
- Possibilité de proposition : Société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP).

## ● **European Pharmacopoeia.**

- Gérée par European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM) rattaché au Conseil de l'Europe.
- P4 Procedure.



# **Situation en France**





## ● **US Pharmacopeia.**

- Pharmacopeial Forum (PF) Online
- <http://www.usppf.com/pf/login>
- Food Chemicals Codex

## ● **Commission Codex Alimentarius (FAO and WHO).**

- Develop food standards, guidelines and codes of practice.
- Codex Methods of Analysis and Sampling (CCMAS).

## ● **International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH).**



# États-Unis et International

## Assurance Qualité

- Accréditation
- Normes (NIG)

## Réglementation

- Règlements
- Normes sanitaires



## Client

- Prix
- Rapidité

## Modes opératoires

- Améliorations techniques
- Normes (méthodes)

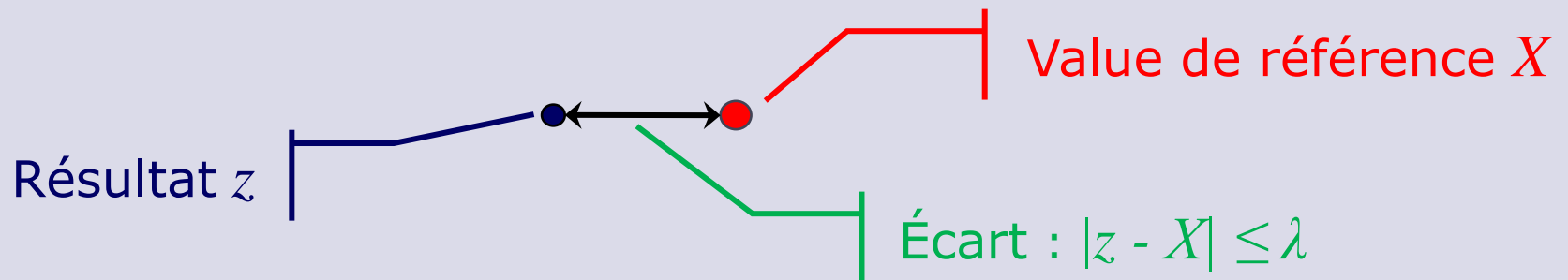
Et l'analyste au milieu de tout ça ?

**Norme NF V03-110 pour la validation des méthodes**

# **Exemple d'élaboration d'une norme**

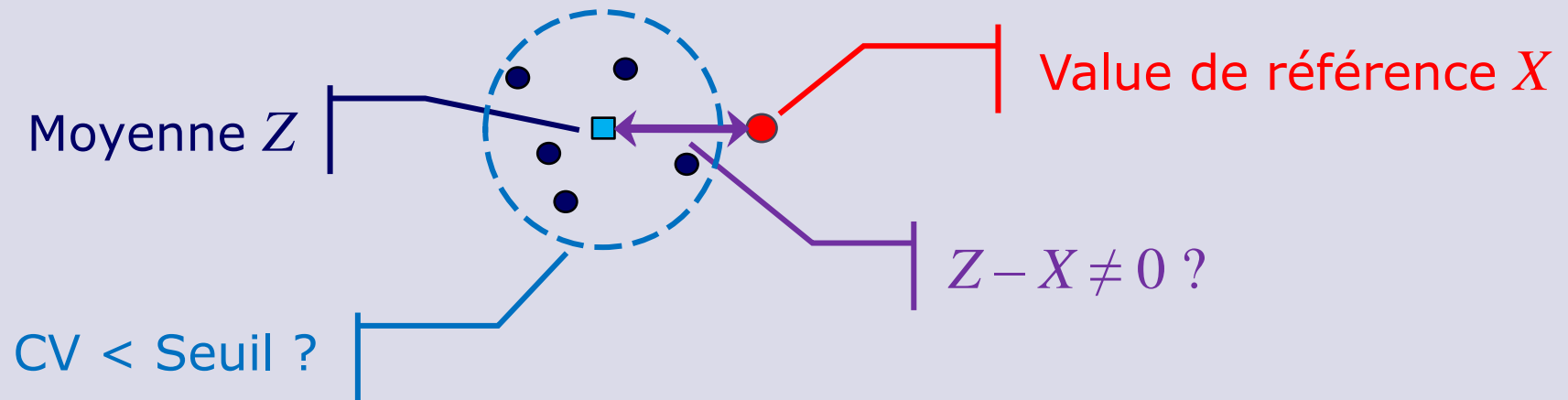


- Pourquoi valider une méthode ?
- Garantir l'utilisateur qu'il aura un résultat « aussi près que possible » de la valeur (vraie) de référence de son échantillon.



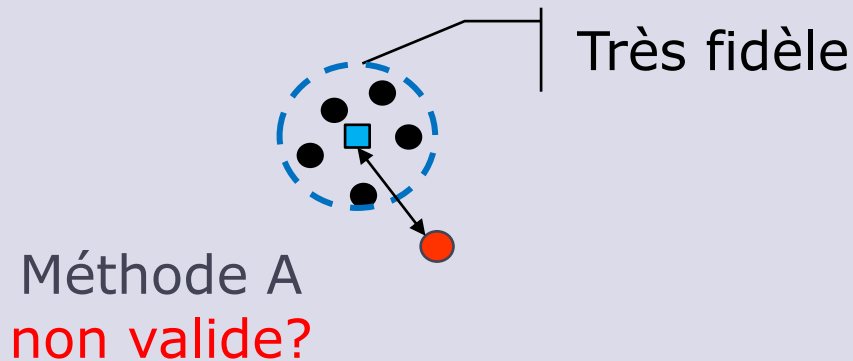
Que demande l'utilisateur final ?

- Il faut faire des répétitions et vérifier si la moyenne est statistiquement différente de la valeur de référence.

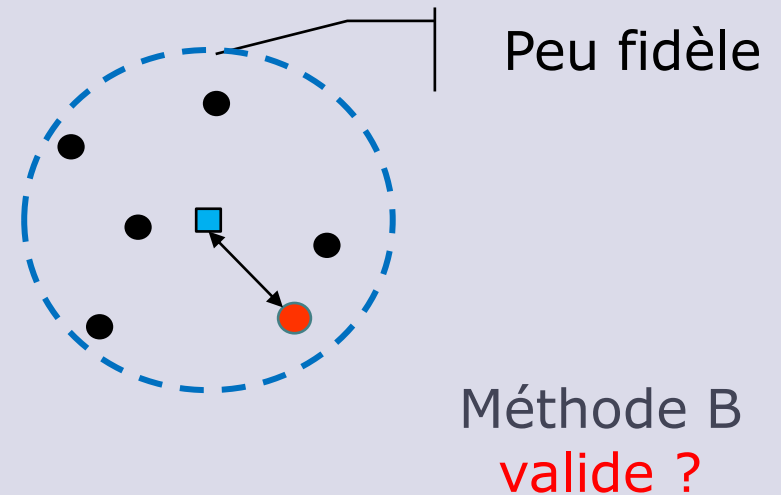


La fidélité se mesure avec un écart-type de  $S_F$  de répétabilité ou de reproductibilité.

Que propose le statisticien ?



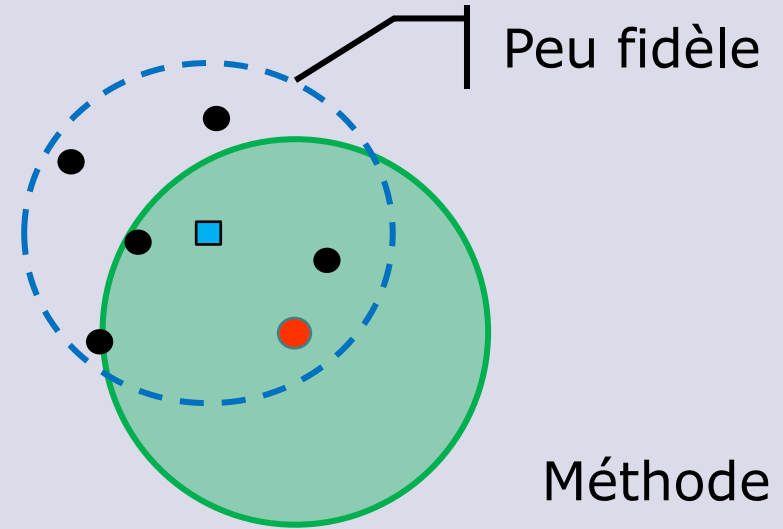
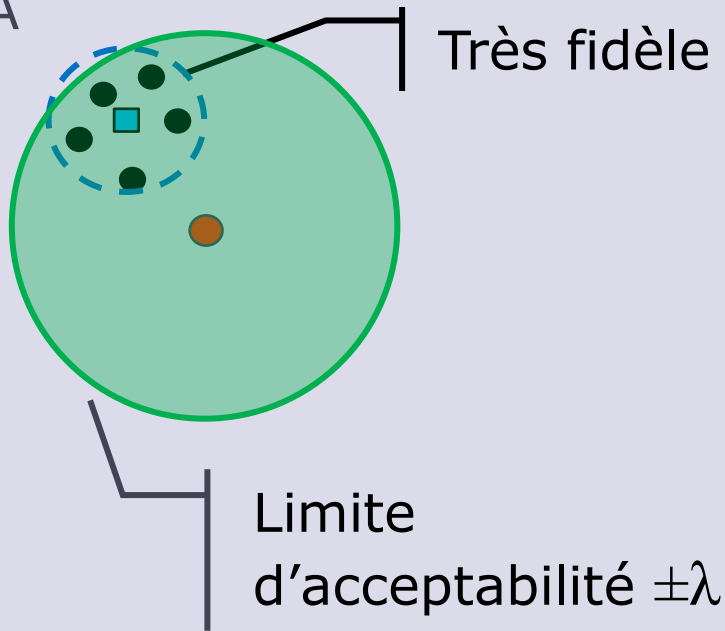
$$C_{obs} = \frac{|Z - X|}{S_F} \leq 2$$



La stratégie qui revient à « tester » si la méthode donne un écart moyen qui ne diffère pas de zéro est inadaptée (test de l'hypothèse nulle).

## Faire un test d'hypothèse

Methode A  
valide ?

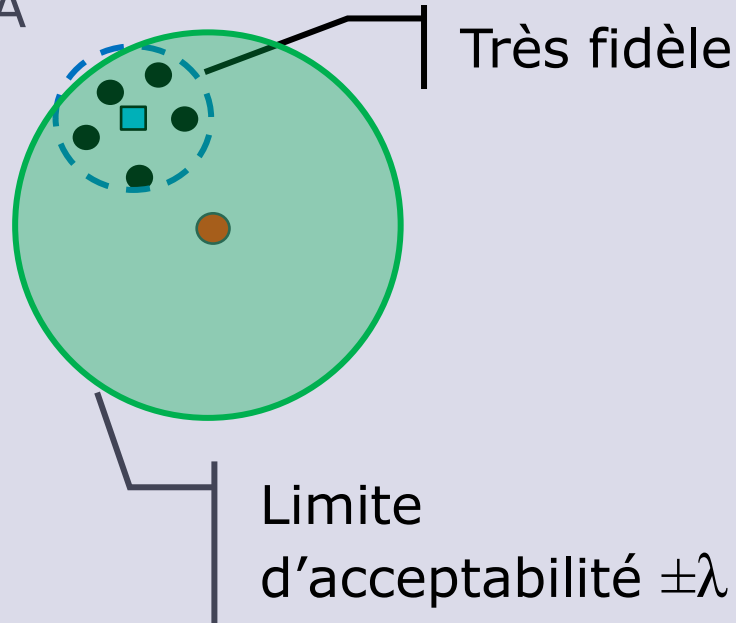


Méthode B  
non valide ?

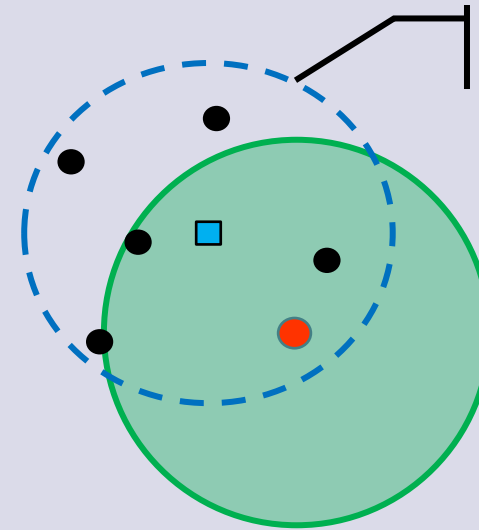
La limite d'acceptabilité représente « l'usage déterminé » de la méthode.

Tenir compte de l'objectif de la méthode

Méthode A



Peu fidèle



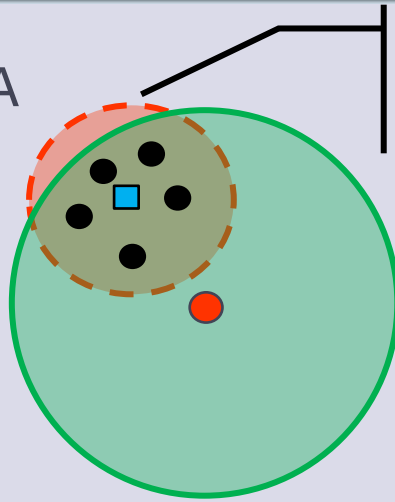
Méthode B

Calculer un intervalle dans lequel se trouvera une proportion connue ( $\beta$ ) de futures mesures (intervalle de tolérance/prédiction).

**Introduire l'intervalle de tolérance**

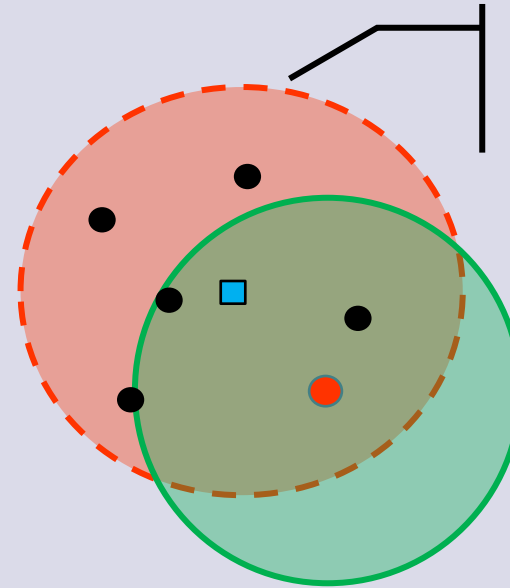


Méthode A



Intervalle de  
tolérance 80%

Intervalle de  
tolérance 80%

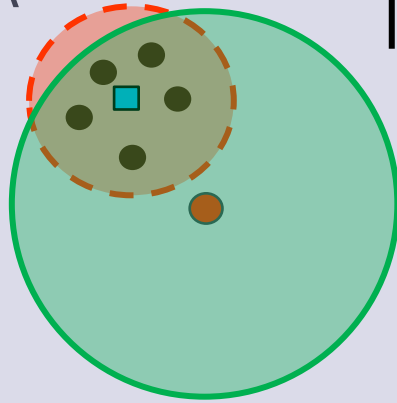


Méthode B

Calculer un intervalle dans lequel se trouvera une proportion connue ( $\beta$ ) de futures mesures (intervalle de tolérance/prédiction).

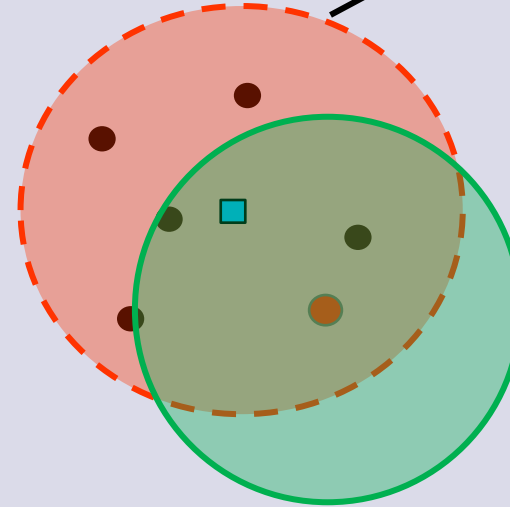
## Introduire l'intervalle de tolérance

Méthode A



Intervalle de tolérance

Intervalle de tolérance



Méthode B

Vérifier si l'intervalle de tolérance est contenu dans la zone d'acceptabilité (profil d'exactitude)

Règle de décision

- **2001. Publications de B. Boulanger et al.**
- **2002-2006. Travaux d'une Commission SFSTP.**
- **2005. Saisie de la Commission générale des méthodes d'analyse (Afnor CGMA ou V03B).**
  - Démarrage de la révision de la norme V03-110.
  - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude.
- **2010. Publication du texte final.**



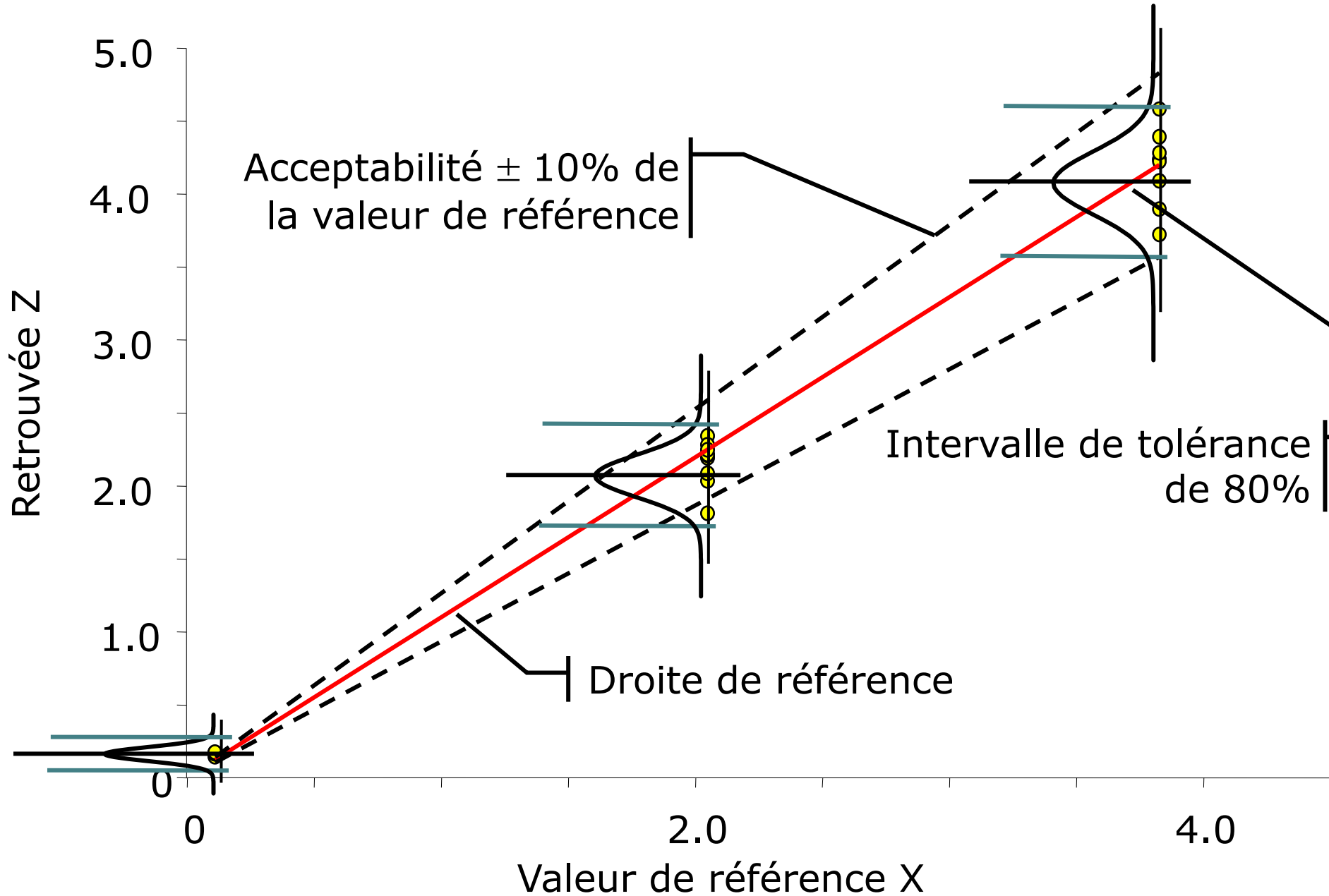
## Démarche de normalisation

Caractérisation

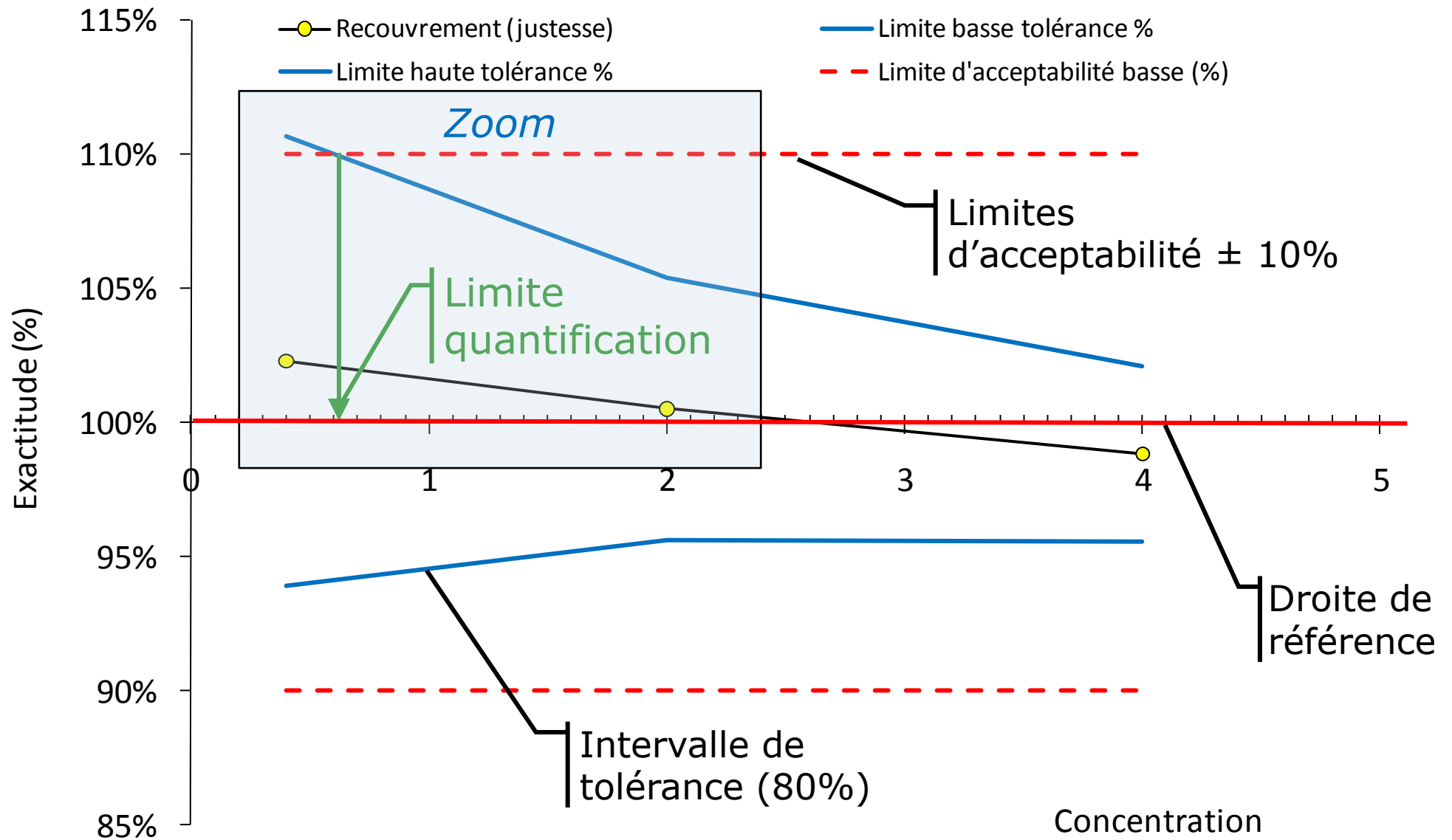
- 1) Définition de la quantité mesurée.
- 2) Définition des objectifs de la validation.
  - Choix du domaine et des limites d'acceptabilité.
- 3) Sélection des matériaux de validation.
  - Choix des matrices et des valeurs de référence.
- 4) Plan d'étalonnage (optionnel).
- 5) Plan de validation (3×3×2).
- 6) Réalisation des essais.
- 7) Calcul des concentrations prédites inverses (optionnel).
  - Modèles d'étalonnage et concentrations retrouvées.
- 8) Calcul des critères de validation par niveau.
  - Justesse, fidélité et intervalles de tolérance.
- 9) Construction du profil d'exactitude.
- 10) Interprétation du profil.

Validation sensu stricto

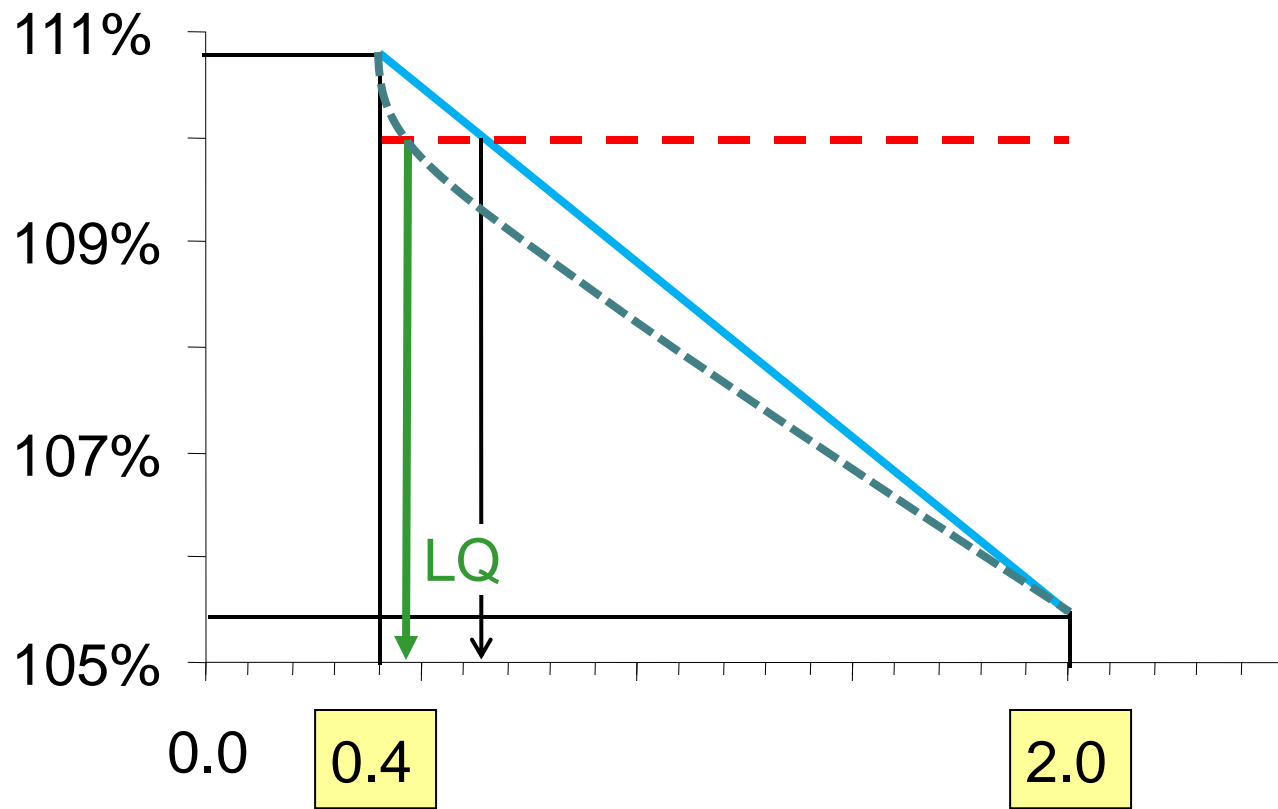
## Les 10 étapes de la V03-110



## Profil d'exactitude



## Profil d'exactitude (en %)



## Limite de quantification

---

norme française

**NF V 03-110**

Mai 2010

Indice de classement : V 03-110

---

ICS : 67.050

Analyse des produits agricoles et alimentaires

**Protocole de caractérisation en vue  
de la validation d'une méthode d'analyse  
quantitative par construction du profil  
d'exactitude**

- E : Analysis of agri-foodstuffs — Protocol of characterization for the validation of a quantitative method of analysis by construction of an accuracy profile
- D : Analyse von landwirtschaftlichen Produkten und Nahrungsmitteln — Kennzeichnungsprotokoll zur Anerkennung eines quantitativen Analyseverfahrens durch Aufbau des Genauigkeitsprofils

---

***Norme française homologuée***

par décision du Directeur Général d'AFNOR le 28 avril 2010 pour prendre effet le 28 mai 2010.  
Remplace la norme homologuée NF V 03-110, de décembre 1998.



- **Publications (env. 50 exemples publiés).**

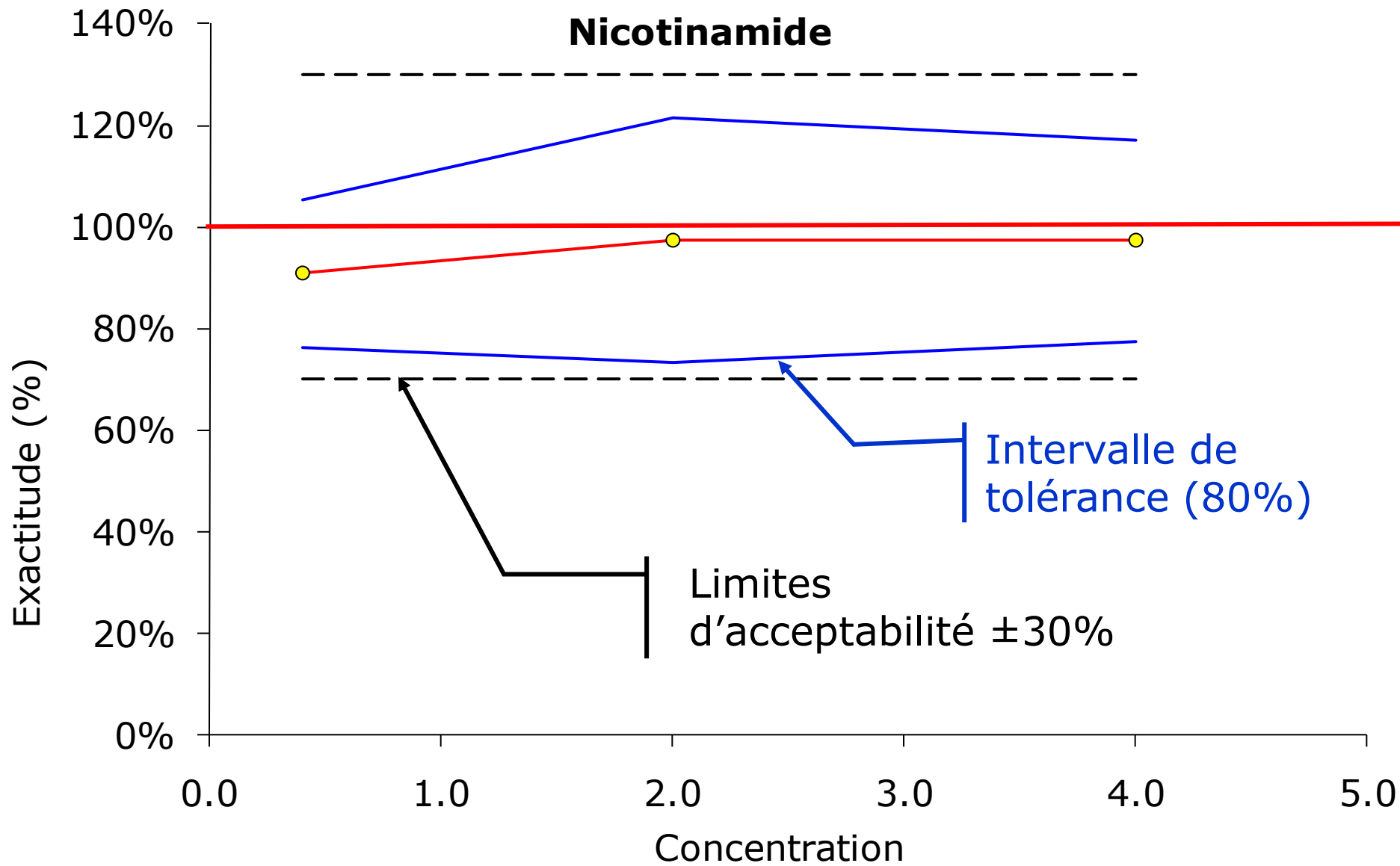
- Vitamine B3 (PP) dans le lait.
- Acrylamide dans le sérum de porc.

- **En cours de normalisation.**

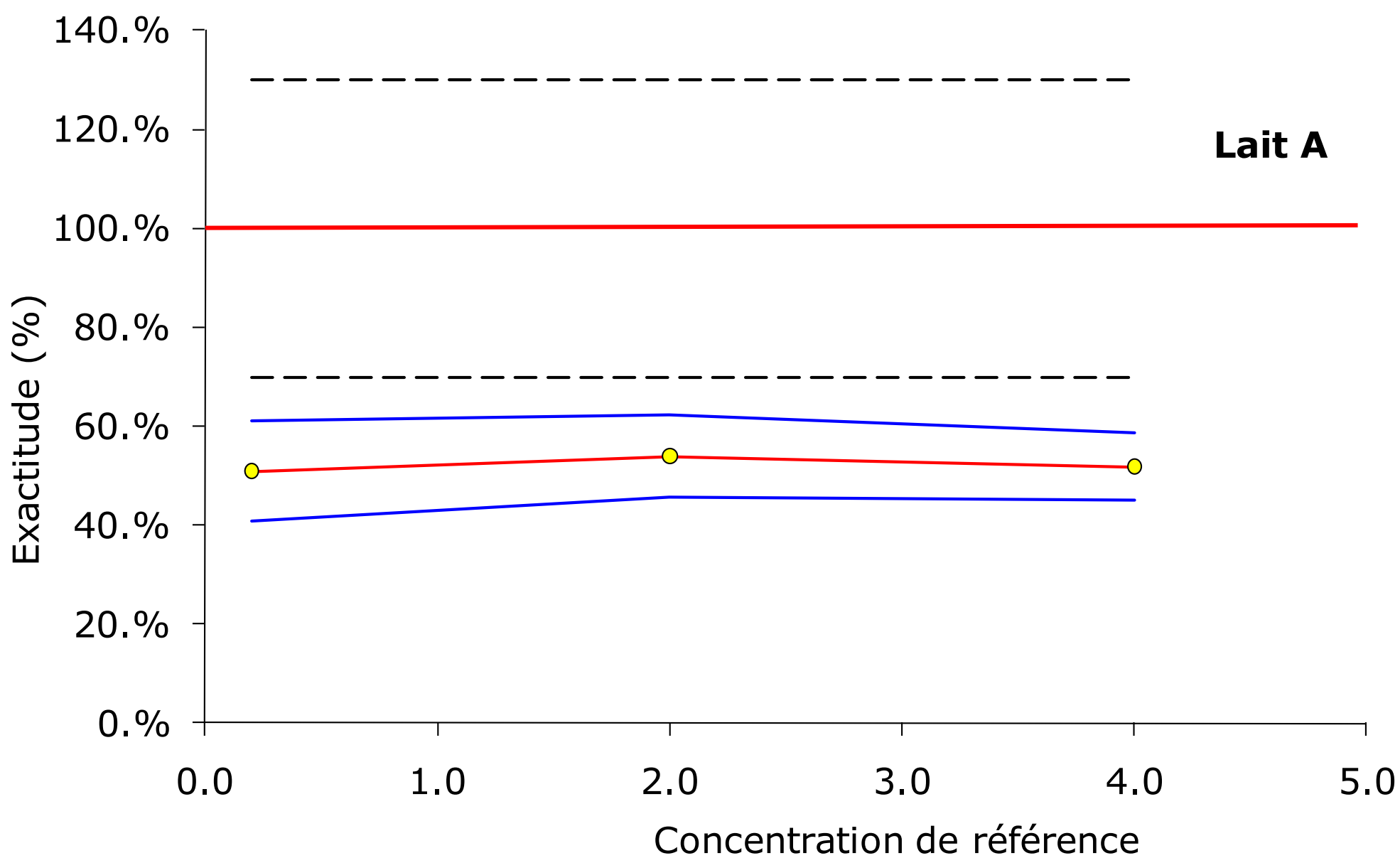
- ISO 16140-Part 2: Protocol for the validation of alternative methods against a reference method (CD).
- ISO 17994: Criteria for establishing equivalence between microbiological methods (NWIP).



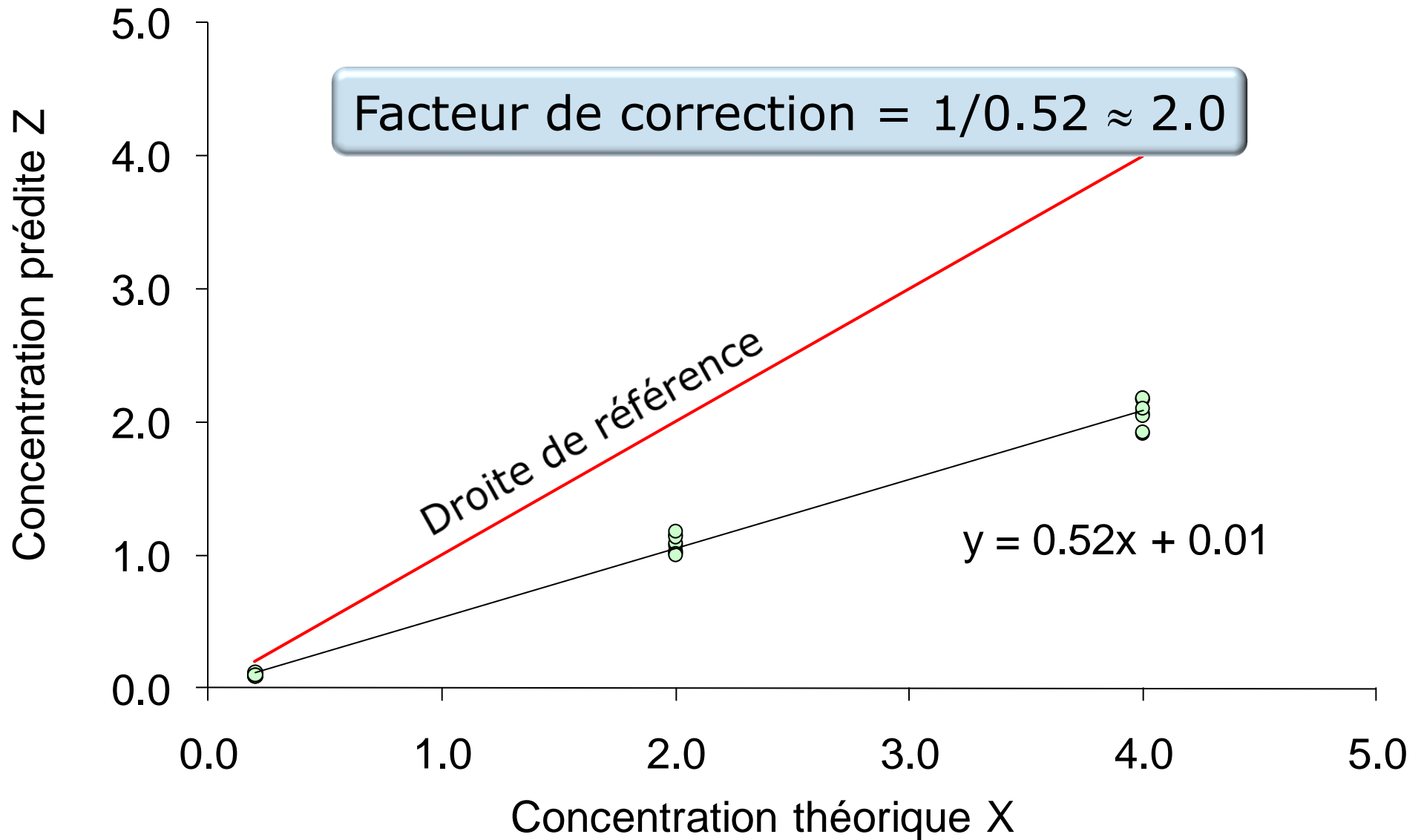
## Quelques exemples d'application



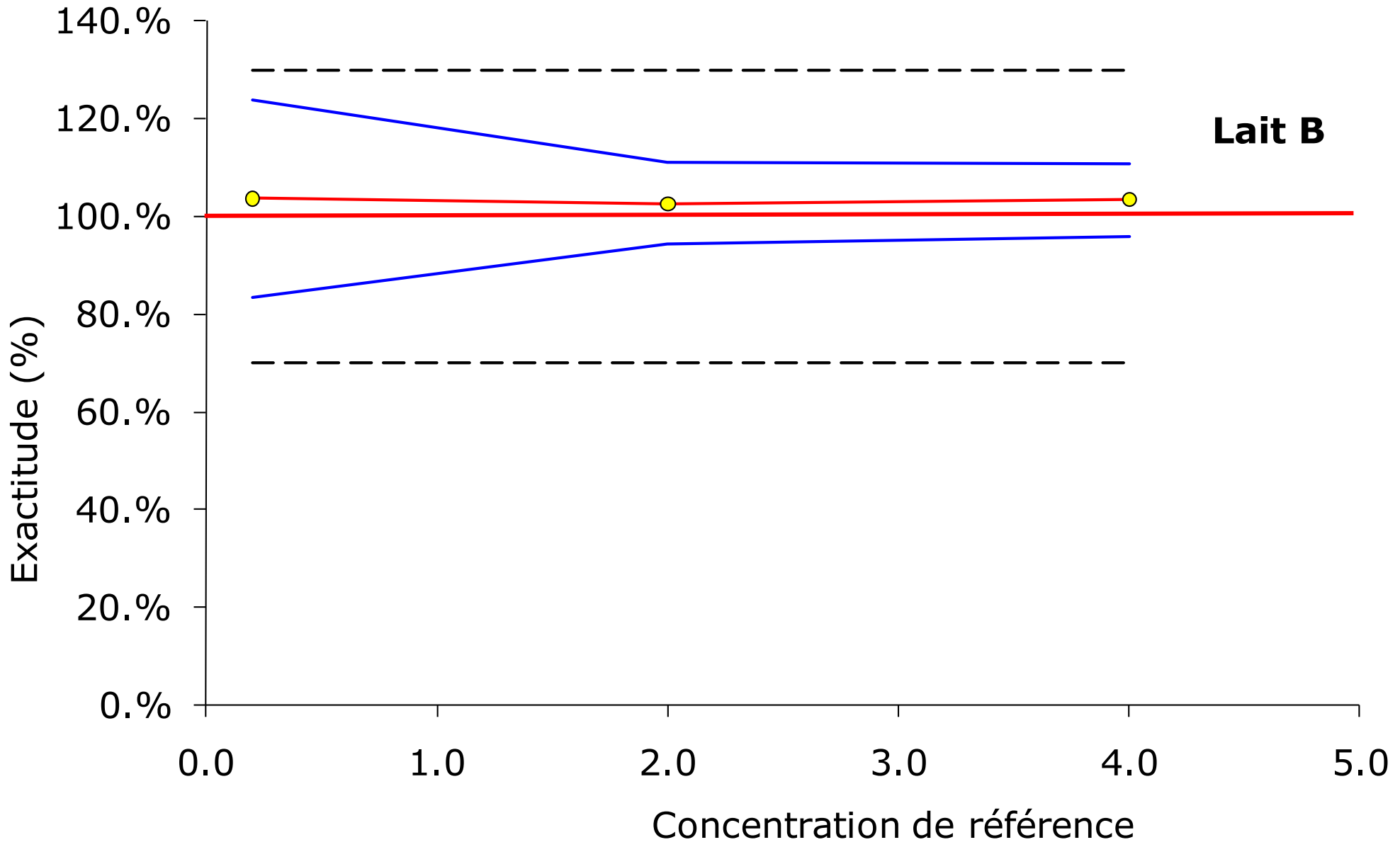
## Profil d'exactitude du nicotinamide



## Profil de l'acide nicotinique (lait A)

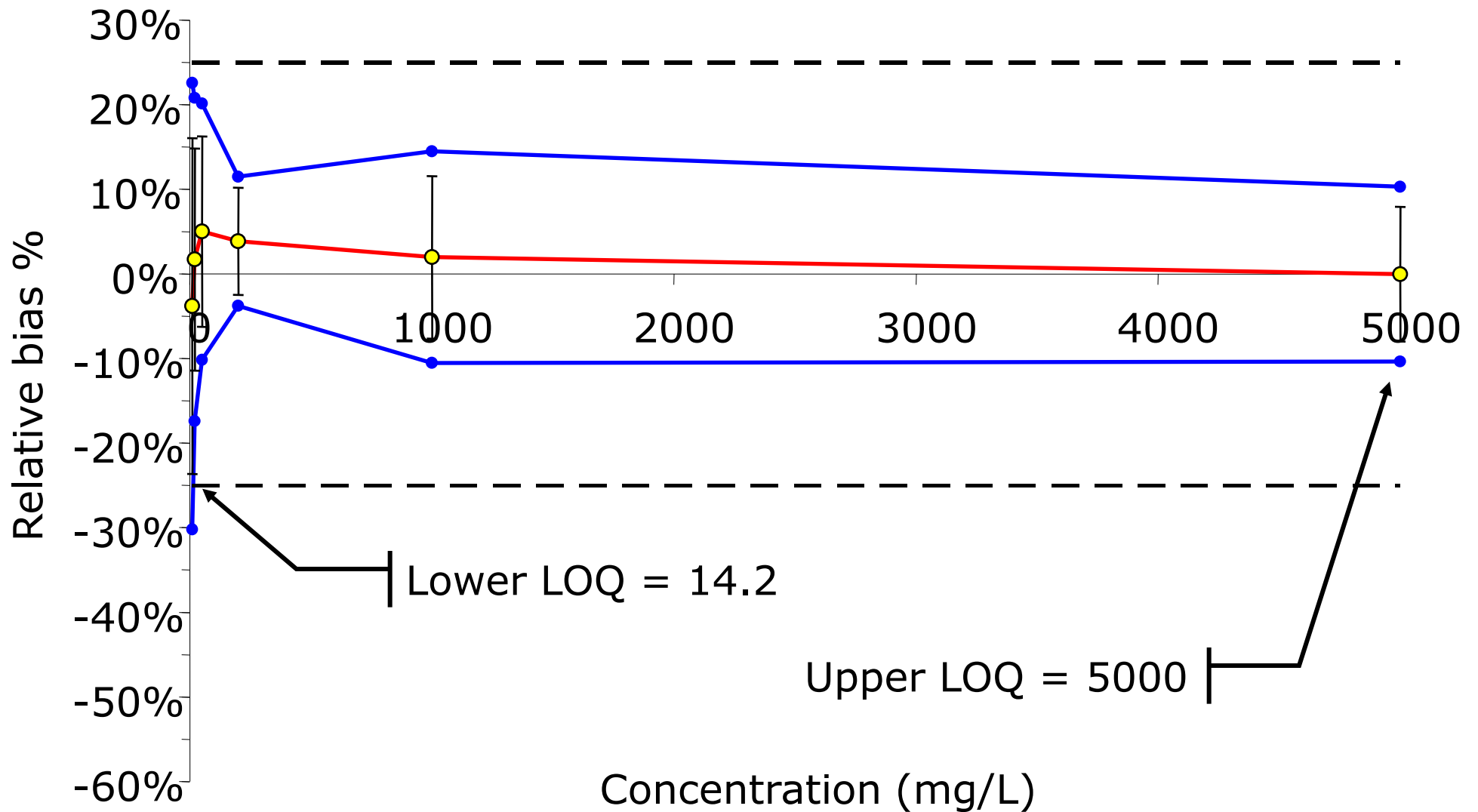


**Facteur de correction(lait A)**

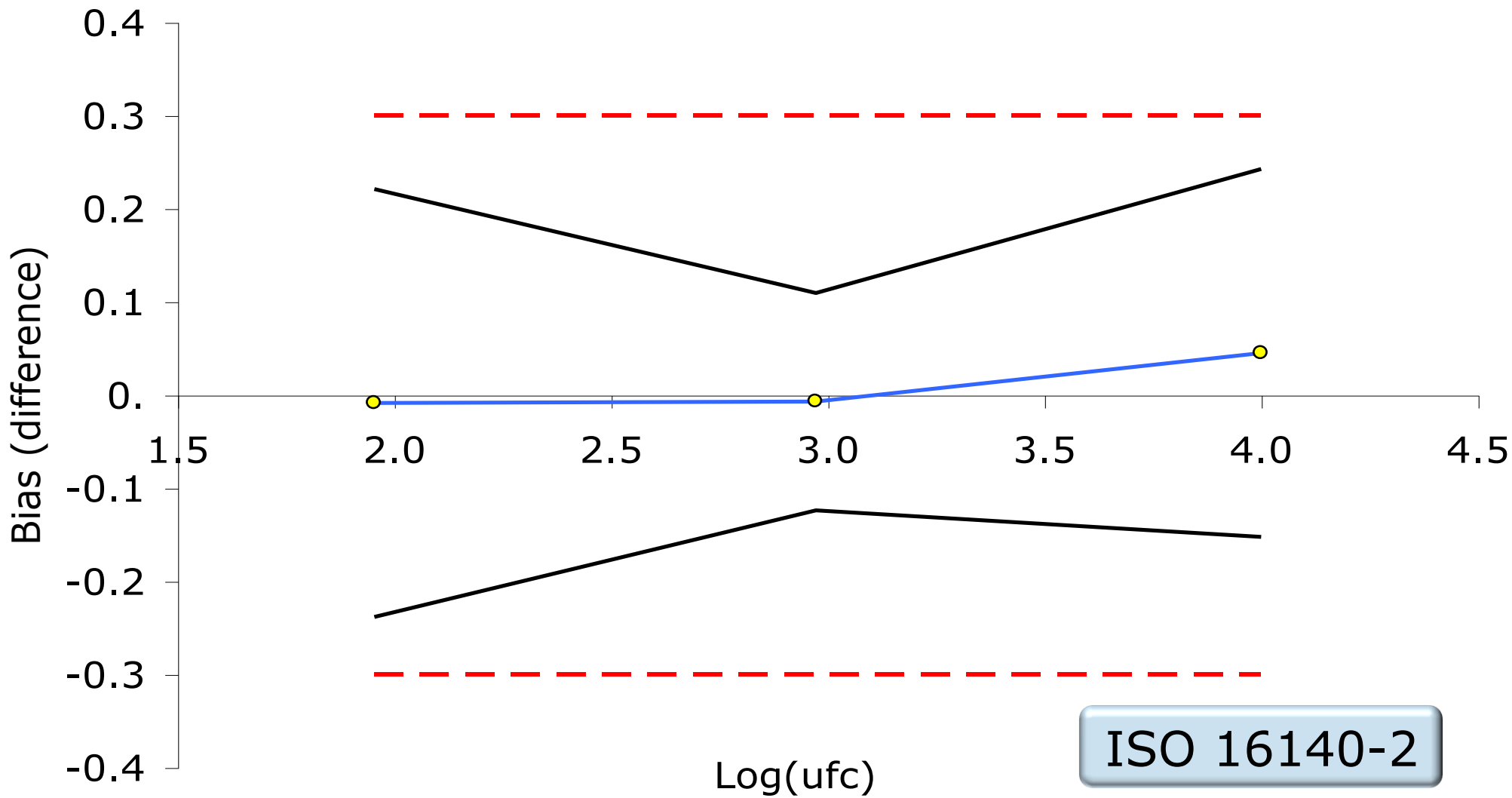


**Lait B**

**Profil de l'acide nicotinique (lait B)**



## Profil de l'acrylamide dans le sérum



# Kit pour Entérobactéries ( $\log_{10}$ )

# Conclusions





- **La normalisation est en plein essor.**
  - Mondialisation et « dérégulation ».
- **Elle suit des règles très formelles.**
- **Pour les chercheurs, un endroit privilégié.**
  - Pour appliquer les résultats de la recherche.
  - Pour construire des relations universitaires/industriels.
  - Pour initier un débat contradictoire (mais pas uniquement scientifique).
- **Et la pharmacie...**



## Messages à emporter

## ● La V03-110 : un mode d'emploi très détaillé.

### ● Atouts.

- Approche globale combinant justesse et fidélité.
- Prise de décision à partir d'une illustration graphique.
- Adaptée aux domaines d'application larges.
- Outil de diagnostic (facteurs de correction).

### ● Inconvénients.

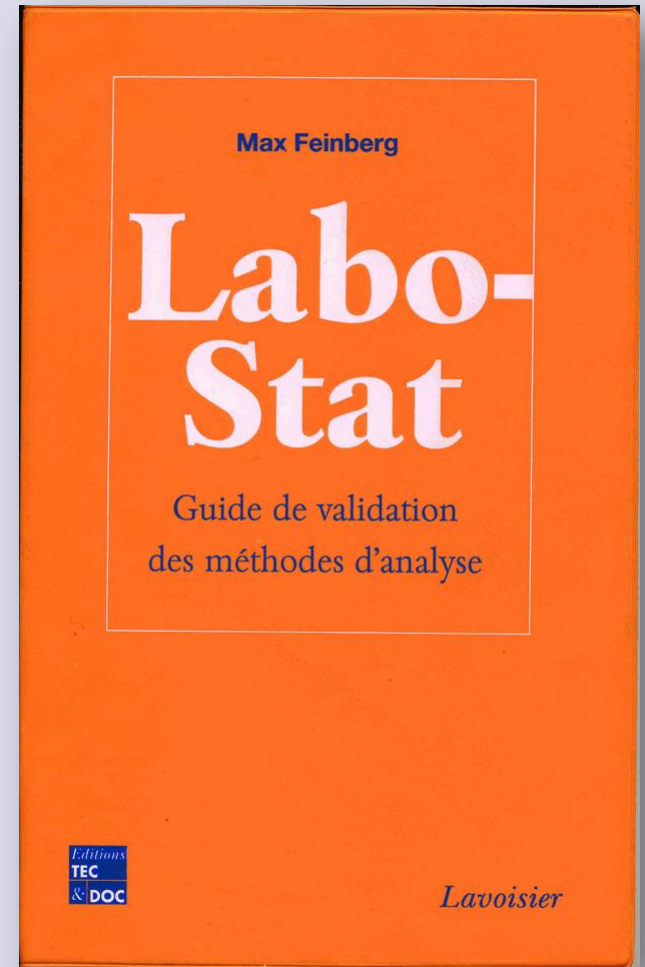
- [Fixer les valeurs de référence].
- Définir des limites d'acceptabilité.
- Signification de la proportion  $\beta$ .

 **En ce qui concerne la validation**

● **Hubert P et alt. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***

- Part 1. (2004) 36, 579–586.
- Part 2. (2007) 45, 70–81.
- Part 3. (2007) 45, 82–96.
- Part 4. (2008) 48, 760–771.

● **Feinberg M.**  
***Labo-Stat : Guide de validation des méthodes*, Lavoisier Tec&Doc, 2009**



**Pour en savoir plus**