



Validation de méthodes pour les *Méthodes et procédés canadiens d'essai des semences* et de méthodes internes mises au point aux fins de la classification des semences

Section de la science et de la technologie des semences, Laboratoire de Saskatoon, Agence canadienne d'inspection des aliments
Courriel : ssts@inspection.gc.ca

1. Généralités

Les méthodes d'essais et d'analyses utilisées pour évaluer la qualité des semences doivent être fiables et reproductibles de sorte que toute décision basée sur leurs résultats puisse être prise en toute confiance. Les méthodes d'essais et d'analyses normalisées figurant dans les *Méthodes et procédés canadiens d'essai des semences* (ci-après appelées M. et P.) sont utilisées pour s'assurer que les différents laboratoires accrédités au Canada obtiennent des résultats uniformes dans leurs essais de semences. L'apparition de nouvelles applications technologiques, de nouveaux besoins ou de nouveaux développements justifie parfois la mise au point de méthodes internes dans les laboratoires, comme la modification d'une méthode normalisée, pour la classification de lots de semence en application du *Règlement sur les semences*. Qu'il s'agisse d'une proposition d'ajout d'une nouvelle méthode aux M. et P. ou d'une méthode interne mise au point par un laboratoire pour son propre usage, les nouvelles méthodes proposées doivent faire l'objet d'une évaluation scientifique pour garantir leur fiabilité, leur équivalence ou leur amélioration. La validation d'une méthode est un processus fondé sur des résultats probants et son but est de réaliser une évaluation officielle, laquelle permet d'apporter une modification à des méthodes existantes, d'ajouter de nouvelles méthodes, de mettre au point des méthodes internes, de comparer l'équivalence de méthodes d'essais et d'analyses et de supprimer des méthodes sous-optimales pour la réalisation d'essais de semences qui visent à évaluer la qualité des semences à des fins de classification.

Portée :

- Apport de modifications à des méthodes figurant dans les *Méthodes et procédés canadiens d'essai des semences* (M. et P.).
- Mise au point de méthodes internes dans les laboratoires canadiens accrédités pour leurs propres usages en lien avec les essais de semences prescrits dans le *Règlement sur les semences*.

Objectifs :

- Préciser les exigences relatives à la validation de méthodes
- Illustrer le processus de validation de méthodes
- Fournir des lignes directrices pour mener à bien la validation de méthodes

Définitions

Validation d'une méthode :

La validation est définie par les normes ISO comme la *confirmation par examen et par apport de preuves tangibles que les exigences pour un usage spécifié ont été satisfaites* (ISTA, 2007). Le Conseil canadien des normes (CCN) définit la validation d'une méthode comme la *confirmation*



de la conformité des capacités et des caractéristiques de performance d'une méthode aux exigences spécifiées, et de son adéquation à l'usage et à l'application prévus (CCN, 2021).

La validation d'une méthode peut être interprétée comme un processus visant à 1) définir son usage prévu ou les spécifications et les exigences de la méthode et 2) à évaluer les performances de la méthode, par exemple, sa précision, sa reproductibilité, sa répétabilité et ses limites de détection.

Vérification d'une méthode

Le processus visant à confirmer la capacité du laboratoire d'appliquer une méthode préalablement validée qui répond aux exigences en la matière et aux besoins du laboratoire (CCN, 2021). Lorsque l'usage prévu est le même que celui de la méthode normalisée, les méthodes modifiées peuvent consister en un ou plusieurs écarts mineurs par rapport à une méthode de référence normalisée ou à une procédure prescriptive pour une utilisation continue.

Méthode interne mise au point par un laboratoire

Une méthode interne contient une combinaison de variables non prescrites dans les M. et P., mais qui ont été mises au point dans un ou plusieurs laboratoires accrédités pour les adapter à leur situation particulière ou à leur propre usage. Une méthode interne ne peut pas être utilisée aux fins de la classification de semences à moins qu'elle ait été vérifiée ou validée. La méthode interne est jugée capable de satisfaire aux exigences d'analyse si les résultats de la méthode interne validée sont équivalents aux résultats de la méthode normalisée qui figure dans les M. et P. canadiens.

2. Catégories de validation de méthodes et exigences en la matière

La validation de méthodes aux fins des M. et P. canadiennes devrait se traduire par l'acceptation de méthodes d'essai nouvelles ou améliorées pour qu'elles puissent être ajoutées aux M. et P.

- Comparer différentes méthodes normalisées pour supprimer une(des) méthode(s) d'essai des M. et P.
- Remplacer une(des) méthode(s) normalisée(s) actuelle(s) des M. et P. par une nouvelle méthode
- Ajouter une nouvelle méthode aux méthodes normalisées qui figurent dans les M. et P.

La validation de méthodes internes mises au point par un laboratoire vise à valider que des méthodes non normalisées mises au point par des laboratoires accrédités individuels peuvent être utilisées aux fins de la classification des semences et répondre à des besoins particuliers de ces laboratoires.

Qu'importe la catégorie de validation, l'obligation de suivre le processus doit être respectée avant que la méthode soit utilisée comme méthode d'essai accréditée.

- a. Sélection et mise au point d'une méthode;
- b. Validation de la méthode, comme précisé à la section 3;
- c. Soumission du rapport de validation de la méthode (voir la section 3);
- d. Examen de l'étude de validation par la SSTS et par les examinateurs désignés
- e. Approbation :



- € Acceptation finale de la méthode validée à l'interne qui sera utilisée pour la réalisation des essais accrédités par les laboratoires ayant validé la méthode.
 - € Une proposition de règle sera soumise à travers le processus de proposition pour les M. et P. afin qu'elle soit acceptée dans les M. et P.
- f. Le laboratoire doit conserver le plan des essais et le rapport d'étude de validation qui ont été approuvés dans ses dossiers aussi longtemps que la méthode est utilisée et qu'elle fait l'objet d'audit.

3. Lignes directrices pour la validation de méthodes

3.1 La validation d'une méthode d'essai aux fins des essais visant à évaluer la qualité des semences comporte deux grandes étapes :

- a. L'établissement des exigences ou des spécifications de la méthode et la détermination des paramètres de performance acceptables dans un seul laboratoire;
- b. La démonstration d'une performance acceptable dans le cadre d'une étude collaborative entre laboratoires (multilaboratoires) ou d'une validation par des pairs.

L'étape b n'est pas requise pour les méthodes qui ont été mises au point à l'interne par un laboratoire si ces méthodes sont limitées à l'usage propre du laboratoire et ne sont pas destinées à modifier les M. et P.

3.2 Types d'études collaboratives entre laboratoires

- a. Études collaboratives multilaboratoires

Un essai comparatif est effectué par au moins six laboratoires durant le processus de validation de la méthode pour caractériser la performance de la méthode d'essai. Les laboratoires participants doivent être expérimentés et accrédités pour l'analyse de récoltes ou de méthodes, p. ex., des laboratoires d'analyse qui sont accrédités pour la portée des essais. Il faudrait de préférence que six échantillons représentant trois niveaux de la composante de qualité soient évalués. Chaque échantillon doit être mélangé et divisé de manière à obtenir la quantité d'échantillons exigé dans le plan des essais. Les échantillons doivent faire l'objet d'un essai d'homogénéité qui doit être réussi avant d'être distribués. Ceci est généralement utilisé pour valider les résultats d'essais exprimés en pourcentage, comme le pourcentage de germination ou de pureté, où la valeur connue est une estimation.

- b. Études de validation par des pairs

Un essai comparatif est réalisé par au moins deux laboratoires collaborateurs durant le processus de validation de la méthode afin de caractériser les performances de la méthode d'essai. Le nombre d'échantillons est déterminé par les allégations de performance, mais doit inclure des échantillons de caractéristiques connues qui ont été choisis par l'organisateur des essais. La sélection de la validation par les pairs est basée sur les spécifications de la performance de la méthode et les besoins d'évaluation de la méthode. Lorsque la variation entre les laboratoires n'est pas un facteur important pour la



performance ou les spécifications de la méthode, la validation par les pairs est normalement utilisée.

3.3 Procédures de validation d'une méthode (voir le diagramme des étapes à l'Annexe I)

a. Notification

Le laboratoire demandeur, c.-à-d., le demandeur, notifie la SSTS (par courriel : ssts@inspection.gc.ca) qu'il prévoit soumettre une demande de validation d'une méthode d'essai, en particulier lorsque le demandeur désire obtenir de l'aide ou des suggestions de la SSTS concernant l'élaboration du plan des essais.

b. Soumission du plan des essais

Le demandeur soumet le plan des essais en utilisant l'**Annexe II : Demande de validation d'une méthode** à ssts@inspection.gc.ca. Toutes les sections de l'annexe doivent être remplies et commentées, et suffisamment détaillées aux fins de l'évaluation.

c. Examen du plan des essais

La SSTS assigne des examinateurs à l'examen du plan des essais, en utilisant l'**Annexe IV intitulée Instruction aux examinateurs – Plan des essais**. La SSTS conclura l'examen du plan des essais par l'une des deux réponses suivantes :

- € Le plan des essais est approuvé
- € Le plan des essais doit être modifié. Le demandeur incorpore les commentaires des examinateurs dans le plan des essais à des fins d'évaluation ultérieure. Ce processus sera répété jusqu'à ce que le plan des essais soit approuvé.
- € Le plan des essais est rejeté et le processus de validation s'arrête

d. Effectuer l'étude de validation et collecter des données

Lorsque le plan des essais est approuvé, le demandeur doit désigner un organisateur des essais comme personne de contact qui sera responsable de :

- Appel à des laboratoires participants. La lettre d'appel doit fournir suffisamment d'informations pour qu'un laboratoire puisse décider de participer ou non, comme les objectifs, le calendrier des essais, la charge de travail, l'équipement nécessaire aux essais et les exigences.
- Préparer et distribuer des échantillons de semences
- Fournir des documents de soutien aux participants, comme des instructions relatives aux essais avec un échéancier pour la soumission des données et des feuilles d'enregistrement des données.

Les participants doivent s'engager à fournir les données brutes à l'organisateur des essais à la date établie.



Le demandeur, ainsi que les laboratoires participants, effectue une étude de validation conformément à la méthode d'essai qui est illustrée dans le plan des essais. Toute modification du plan des essais doit être approuvée par voie de soumission d'une nouvelle demande.

e. Rédaction du rapport de validation

Après avoir vérifié et analysé les données, l'organisateur des essais produira un rapport de validation en utilisant l'**Annexe III Rapport technique de validation**. Le rapport de validation doit être mis à la disposition de tous les laboratoires participants à des fins de commentaires. Les participants renvoient leurs commentaires à l'organisateur des essais dans un délai d'un mois. Avec les commentaires reçus, l'organisateur des essais finalisera le rapport et le soumettra à la SSTS à des fins d'examen.

f. Examen du rapport de validation

La SSTS assigne des examinateurs à l'examen du rapport de validation, en utilisant l'**Annexe V : Instruction aux examinateurs – rapport technique de validation**. Le rapport technique de validation sera déterminé comme suit :

- € Rapport de validation approuvé
- € Rapport de validation devant être révisé. Par exemple, une analyse plus approfondie des données est nécessaire ou la conclusion n'est pas bien étayée par les données obtenues. Le demandeur intègre les commentaires des examinateurs dans le rapport de validation à des fins d'évaluation ultérieure. Ce processus sera répété jusqu'à ce que le rapport de validation soit approuvé.
- € Rapport de validation rejeté et cessation du processus de validation

Le comité des M. et P. de la SSTS examinera les commentaires et les recommandations des examens techniques et rendra une décision finale. L'organisateur des essais sera informé de la décision du comité par le chef de section de la SSTS.

4. Modification d'une méthode avec l'étude de validation

Modification d'une méthode aux fins des M. et P. :

Après avoir terminé une étude de validation, le demandeur prépare une proposition de modification des M. et P. qu'il soumet avec des données probantes pour étayer l'étude de validation conformément aux procédures prévues pour la modification des M. et P.

Mise au point d'une méthode interne

Le rapport de validation de la méthode qui a été approuvé autorisera l'utilisation de la méthode mise au point à l'interne dans les laboratoires demandeurs pour la classification des semences. La demande de validation d'une méthode (Annexe II) et le rapport technique de validation



(Annexe III) doivent être conservés dans les dossiers à des fins d'audits aussi longtemps que la méthode est utilisée.

5. Références :

Association internationale d'essais de semences (ISTA), 2007, ISTA Method Validation for Seed Testing, V.1

Conseil canadien des normes (CCN), 2021, Exigences et lignes directrices – Vérification et validation des méthodes dans les laboratoires d'essais

Tableau des révisions

Version	Date de la version	Révision et objectif	Auteur
V 1.0	10/2022	Fournir un processus normalisé et des lignes directrices pour la validation de méthodes pour les essais et les analyses de semences conformément au <i>Règlement sur les semences</i>	R. Wang L. Ren J. Maruschak

Liste des annexes

Annexe I : Diagramme des étapes du processus général de validation des méthodes

Annexe II : Demande de validation d'une méthode

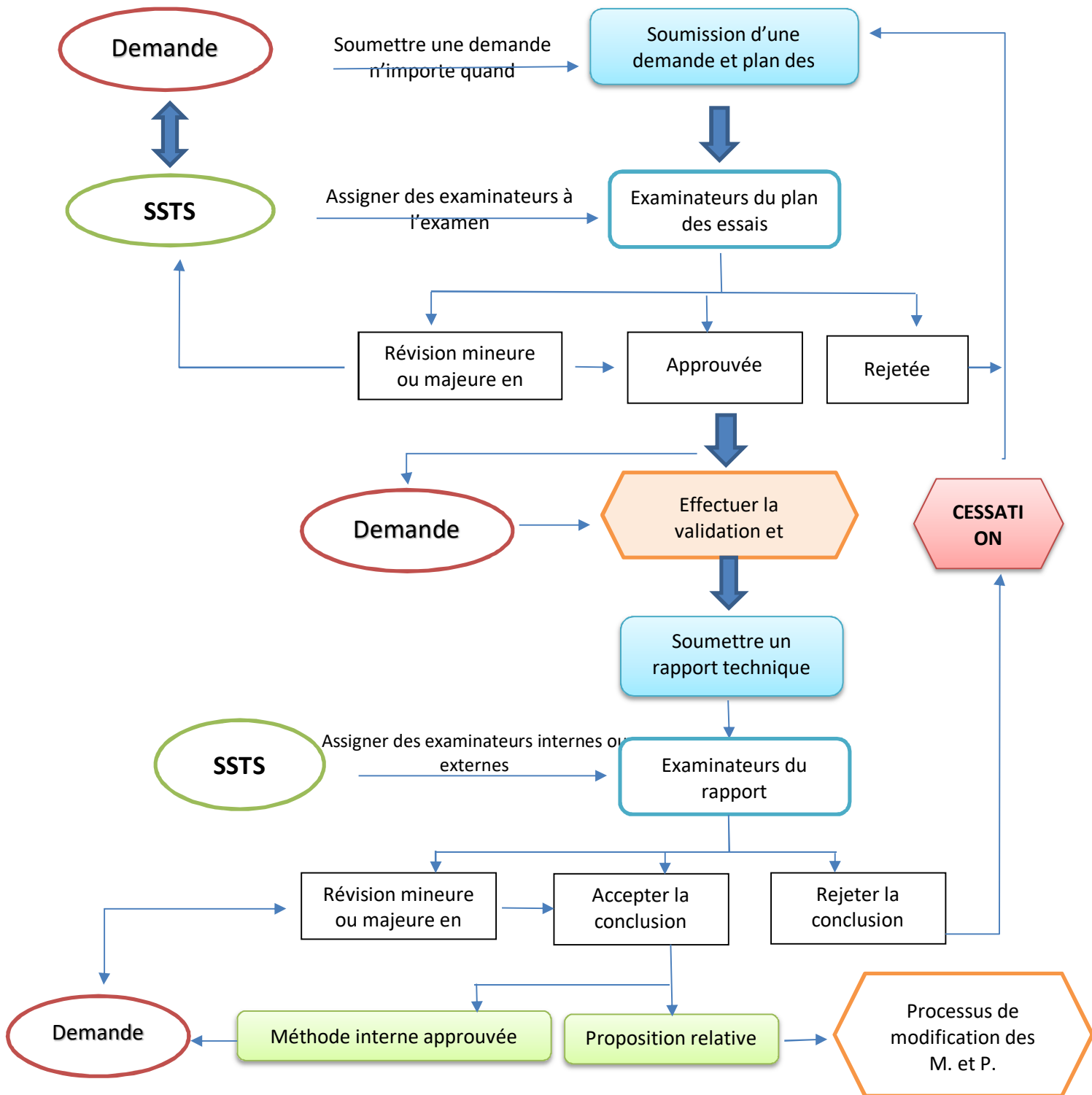
Annexe III : Rapport technique de validation

Annexe IV : Instruction aux examinateurs – Plan des essais

Annexe V : Instruction aux examinateurs – Rapport technique de validation



Annexe I : Diagramme des processus de soumission d'une demande de validation d'une méthode et de sa validation





Annexe II : Demande de validation d'une méthode et plan des essais

Titre :

Demandeur (nom du laboratoire demandeur) :

Nom de l'organisateur des essais (personne-ressource) :

Adresse électronique :

Date de la soumission :		
Nom de l'examineur :		
Date de retour de l'examen :		

La méthode décrite dans le plan des essais doit être considérée comme (cochez l'énoncé pertinent) :

Une modification à apporter aux M. et P.

L'ajout d'une nouvelle méthode (p. ex., nouvelles cultures ajoutées aux M. et P.)

Une méthode de remplacement (p. ex., le prérefroidissement remplace l'utilisation du KNO_3 pour la levée de la dormance)

L'ajout d'options à une méthode (p. ex., ajout d'un milieu de culture organique à un milieu de germination)

La suppression d'options dans une méthode (p. ex., supprimer une température dans une méthode d'essai de germination)

Autres, veuillez préciser

Méthode mise au point à l'interne pour l'usage propre du laboratoire

Nouvelle méthode (p. ex., nouvelle méthode à ajouter aux M. et P., comme l'emploi de semis automatique au lieu de semis effectué par l'analyste)

Autres, veuillez préciser



1. Contexte

Aperçu

- 1) les besoins, les changements ou les spécifications de la méthode,
- 2) l'utilisation prévue ou le champ d'application, y compris s'il s'agit d'une méthode interne ou de l'apport d'une modification aux M. et P.,
- 3) la description des écarts par rapport à la méthode normalisée, le cas échéant.

2. Objectifs

Décrire le but de l'étude et les résultats attendus

3. Conception de l'étude de validation :

Le schéma de la méthode d'essai est le suivant :

- a. Espèces ou plantes cultivées visées
- b. Portée de l'étude
- c. Organisateur de l'étude et besoins de participants
- d. Indicateurs de performance
- e. Étude multilaboratoires nécessaire ou non (ce n'est généralement pas nécessaire dans le cas d'une méthode interne pour l'usage propre du laboratoire). Préciser les exigences relatives à une étude effectuée par plusieurs laboratoires, comme la qualification des laboratoires participants, le nombre de laboratoires participants nécessaires, etc.

4. Matériel et méthodes :

- a. Matériel utilisé pour l'étude, p. ex.,
 - la qualité des échantillons est indiquée par la plage des pourcentages de germination,
 - la quantité d'échantillons est indiquée par le nombre de lots qui seront utilisés
 - préparation des échantillons et essai d'homogénéité
- b. Détails complets des méthodes d'essai à suivre
- c. Analyse de données aux fins des indicateurs de performance de la méthode

5. Feuille de collecte de données et instruction (le cas échéant) :

Selon les objectifs, la conception de l'étude et l'application prévue de la méthode validée, veuillez préciser les données à collecter dans un formulaire. Voici un exemple de validation d'un essai de germination



Noms des laboratoires :

Sortes de plantes cultivées :

Conditions d'un essai de germination générique :

Température (°C)	Milieu	Lumière	Prérefroidir à T°C et nombre de jours

Données relatives à la germination :

Lot de semence	Traitement	Rép.	Premier comptage			Premier comptage		
			Normal	Normal	Mort	Normal	Normal	Mort

6. Liste des documents de référence

- a. études préliminaires, si disponibles
- b. articles ou méthodes publiés
- c. autres documents explicatifs



Annexe III : Rapport technique de validation

Titre

Noms des auteurs

Nom du laboratoire et adresse :

Adresse électronique :

Date de la soumission :		
Nom de l'examineur :		
Date de retour de l'examen :		

La méthode décrite dans le plan des essais devrait être considérée comme (cochez l'énoncé pertinent) :

- une modification à apporter aux M. et P.
 - un ajout d'une nouvelle méthode (p. ex., nouvelles cultures ajoutées aux M. et P.)
 - le remplacement d'une méthode (p. ex., le prérefroidissement remplace l'utilisation du KNO_3 pour faire lever la dormance)
 - l'ajout d'options à une méthode (p. ex., ajout d'un milieu organique à une méthode de germination)
 - la suppression d'options dans une méthode (p. ex., la suppression d'une température dans une méthode d'essai de germination)
 - Autres, veuillez préciser

- Méthode mise au point à l'interne pour les besoins propres du laboratoire
 - Nouvelle méthode (p. ex., nouvelle pour la M. et P., comme un semis automatique au lieu d'un semis effectué par l'analyste)
 - Autres, veuillez préciser



1. Contexte

Aperçu 1) les besoins, les changements ou les spécifications de la méthode, 2) les portées de l'utilisation prévue ou du champ d'application, 3) décrire l'écart par rapport à la méthode normalisée, le cas échéant; 4) les participants (si plusieurs parties participent);

2. Objectifs

Décrire le but de l'étude et les résultats attendus

3. Matériel et méthodes :

- a. Résumé de la conception de l'étude
- b. Matériel utilisé pour l'étude p. ex.,
 - qualité de l'échantillon indiquée par la fourchette des pourcentages de germination,
 - quantité d'échantillons indiquée par le nombre de lots utilisés
 - préparation des échantillons
- c. Méthodes d'essai détaillées
- d. Approches d'analyse des données

4. Analyses des données et résultats :

Veillez préciser quelles données sont collectées à quelles fins ou évaluations ? Quel est le résultat de l'analyse des données?

Identification des paramètres suivants de l'étude proposée, le cas échéant :

- a) Exactitude.
- b) Précision (répétabilité et reproductibilité).
- c) Caractérisation/spécifications de la méthode proposée.
- d) Annexe des feuilles de collecte de données

5. Discussion et conclusion :

Discussion sur la performance de la méthode, y compris les commentaires des participants et la façon dont ils ont été traités. Un énoncé clair des conclusions de la validation et des recommandations d'actions.

6. Description de la méthode accréditée, le cas échéant :

Indiquez la méthode validée à l'interne ou la proposition de modification de la méthode pour les M. et P. aux fins d'essais officiels.

7. Remerciements :

8. Références



Canadian Food
Inspection Agency

Agence canadienne
d'inspection des aliments



Annexe IV : Instruction pour les examinateurs – Plan d'essai

Veillez examiner le projet de plan d'essai ci-joint en vous référant aux critères d'évaluation ci-dessous, en faisant des commentaires sur des feuilles supplémentaires, le cas échéant.

Titre du plan d'essai :

Nom du laboratoire demandeur :

Nom de l'organisateur du test :

Date de la soumission :

Nom de l'examineur :

La méthode décrite dans ce plan d'essai préliminaire doit être considérée comme :

- une modification pour les M. et P.
 - Ajouter une nouvelle méthode (p. ex., nouvelles cultures ajoutées aux M. et P.)
 - Remplacer une méthode (p. ex., le prérefroidissement remplace l'utilisation du KNO_3 pour la levée de la dormance)
 - Ajouter des options à une méthode (p. ex., ajouter un milieu organique à une méthode de germination)
 - Supprimer des options dans une méthode (p. ex., supprimer une température dans une méthode de germination)
 - Autres, veuillez préciser

- Méthode mise au point à l'interne pour les besoins propres du laboratoire
 - Nouvelle méthode (p. ex., nouvelle pour la M&P, comme un semis automatique au lieu d'un semis par l'analyste)
 - Autres, veuillez préciser



Critères d'évaluation (tous les aspects ne s'appliquent pas nécessairement) :

	Oui	Non	Commentaires
L'objectif de la méthode et la nécessité de la validation sont-ils expliqués de manière satisfaisante?			
La description de la méthode est-elle claire et sans ambiguïté?			
Les paramètres de précision, de répétabilité, de reproductibilité et d'incertitude de la méthode d'essai sont-ils identifiés?			
La méthode décrite permet-elle d'atteindre les objectifs de l'essai?			
Y a-t-il des omissions d'étapes ou de paramètres critiques qui ont été identifiés?			
Des laboratoires participants potentiels ont-ils été identifiés?			
Les feuilles d'enregistrement des données et les instructions pour les remplir étaient-elles incluses?			
Les commentaires de l'ancien plan d'essai ont-ils été pris en compte? (le cas échéant)			

Veuillez formuler tout commentaire additionnel sur une feuille séparée.

Recommandation (supprimer les énoncés inutiles).

- € Approuver le plan d'essai sans révision.
- € Approuver le plan d'essai après l'apport de révisions mineures.
- € Différer une décision en attendant l'apport de révisions majeures.
- € Rejeter le plan d'essai.



Annexe V : Instruction pour les examinateurs – Rapport de validation

Veillez examiner le rapport de validation ci-joint en vous référant aux critères d'évaluation ci-dessous, en faisant des commentaires sur des feuilles supplémentaires si nécessaire. Veillez indiquer tout aspect pour lequel vous ne vous sentez pas qualifié pour faire des commentaires.

Titre du rapport de validation :

Nom du demandeur :

Date de la soumission :

Nom de l'examineur :

La méthode décrite dans ce plan d'essai préliminaire doit être considérée comme :

- une modification à apporter aux M. et P.
 - une nouvelle méthode à ajouter aux M. et P. (p. ex., pour de nouvelles cultures ajoutées aux M. et P.)
 - le remplacement d'une méthode (p. ex., le prérefroidissement remplace l'utilisation du KNO_3 pour faire lever la dormance)
 - l'ajout d'options à une méthode (p. ex., ajout d'un milieu organique à une méthode de germination)
 - la suppression d'options dans une méthode (p. ex., la suppression d'une température dans une méthode d'essai de germination)
 - Autres, veuillez préciser

- Méthode mise au point à l'interne pour les besoins propres du laboratoire
 - Nouvelle méthode (p. ex., ajout d'une nouvelle méthode aux M. et P., comme un semis automatique au lieu d'un semis effectué par l'analyste)
 - Autres, veuillez préciser



Critères d'évaluation (tous les aspects ne s'appliquent pas nécessairement) :

	Oui	Non	Commentaires
Le titre est-il approprié?			
Le sommaire est-il clair/suffisant?			
La raison de l'étude est-elle clairement énoncée? (c'est-à-dire les objectifs, le but, les questions, les hypothèses que l'organisateur du test souhaite vérifier)			
La littérature ou les données précédentes ont-elles été examinées de manière adéquate?			
Les commentaires des participants ont-ils été rapportés ou traités?			
La conception de la validation était-elle appropriée?			
Les contrôles étaient-ils adéquats pour s'assurer de la répétabilité et de la reproductibilité des données rapportées?			
Du matériel de référence a-t-il été inclus et ses résultats ont-ils été rapportés?			
Des mesures ont-elles été prises pour assurer l'intégrité des données, c'est-à-dire <u>essai à l'aveugle/codage des échantillons</u> ?			
Des vérifications ont-elles été incluses pour s'assurer que chaque participant a suivi le protocole?			
Une analyse statistique a-t-elle été effectuée?			
Le choix de l'analyse statistique est-il approprié pour les données, et l'approche a-t-elle été justifiée?			
La conclusion est-elle claire et bien alignée sur les résultats?			
Les commentaires de l'ancien rapport de validation ont-ils été pris en compte? (le cas échéant)			

Veuillez formuler tout commentaire additionnel sur une feuille séparée.

Recommandation (supprimer les énoncés inutiles).

- € Approuver le rapport de validation sans révision.
- € Différer une décision, car plus d'informations sont nécessaires.
- € Rejeter le rapport de validation.