



gembloux
faculté universitaire
des sciences agronomiques

Validation de méthodes analytiques

Quelques définitions

Stéphanie Heuskin, Christelle Marlet

UNITE de CHIMIE ANALYTIQUE

Prof. Georges C. LOGNAY

Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux

Les critères de validation

- Critères usuels

- Spécificité-sélectivité
- Fonction de réponse = courbe de calibration
- Linéarité
- Intervalle de mesure
- Fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire, reproductibilité)
- Justesse (trueness)
- Exactitude
- Seuil de quantification (LOQ)
- Seuil de détection (LOD)

La spécificité

➤ *Spécificité (angl : specificity)* : la spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'évaluation univoque de la substance à analyser, en présence des composés susceptibles de l'accompagner. Ces composés comprennent typiquement, les impuretés, les produits de dégradation, la matrice, etc.

Ce critère est absolu : la méthode est spécifique ou non.

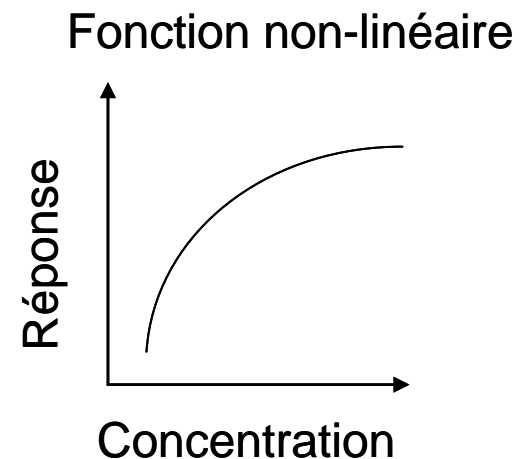
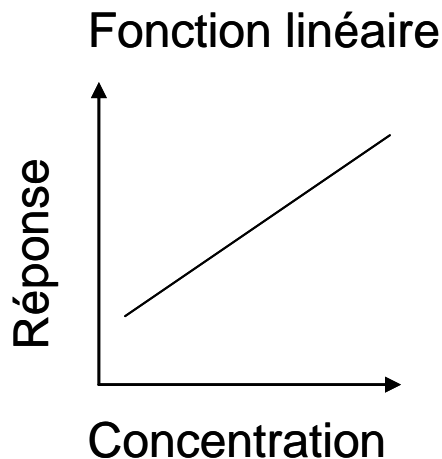
La sélectivité

➤ Sélectivité (angl : selectivity) : la sélectivité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents. Propriété d'une procédure d'analyse de convenir exclusivement à la caractéristique de l'analyte, avec la garantie que le résultat de l'analyse ne provient que de l'analyte.

Critère graduel : il peut être amélioré. Les techniques chromatographiques sont sélectives plutôt que spécifiques.

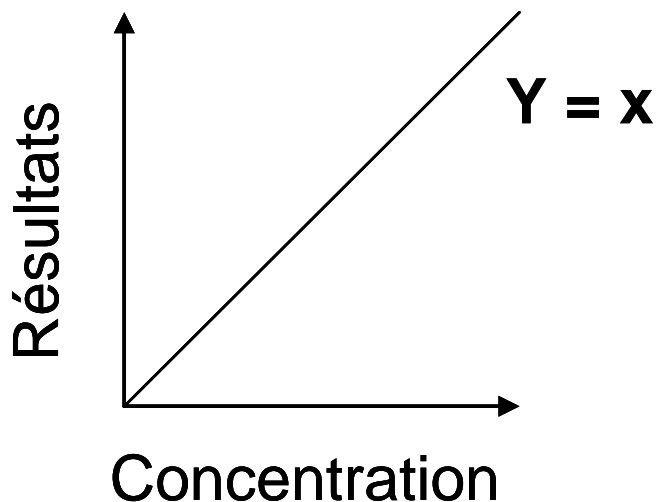
La fonction de réponse

- Fonction de réponse, courbe de calibration (angl : calibration curve) : La fonction de réponse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existant entre la réponse (signal du détecteur, aire de pic, ratio d'aires si SI,...) et la concentration en substance à examiner dans l'échantillon. Cette courbe de calibration ne doit pas obligatoirement être une droite.



La linéarité

- Linéarité (angl : linearity) : la linéarité d'une procédure analytique est sa capacité, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance présente dans l'échantillon.



Concentration = quantité introduite
(quantité pesée) dans la solution de
référence

Résultats = quantité mesurée par la
courbe de calibration (fonction de
réponse)

L'intervalle de dosage

- *Intervalle de dosage (angl : range)* : l'intervalle de dosage d'une procédure d'analyse est la région entre les niveaux supérieurs et inférieurs (ces valeurs incluses) pour lequel il a été démontré que la procédure est appropriée quant à sa fidélité, sa justesse, son exactitude et sa linéarité, en utilisant la méthode décrite.

La fidélité

➤ *Fidélité (angl : Precision)* : mesure la dispersion des résultats, les écarts des résultats par rapport à la moyenne. **Erreur aléatoire.**

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène (résultats d'essai indépendants) dans des conditions prescrites.

- ➔ 3 niveaux :
- répétabilité
 - fidélité intermédiaire (intra-laboratoire)
 - reproductibilité (inter-laboratoire)

La répétabilité

- Répétabilité (angl : repeatability) : Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essai identiques, dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps.

La fidélité intermédiaire

- *Fidélité intermédiaire (angl : intermediate precision)* : Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essai identiques, dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné (pas obligatoirement des jours consécutifs).

La reproductibilité

- Reproductibilité (angl : reproducibility) : Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essai identiques, dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents.

La justesse

- Justesse (angl : Trueness) : est mesurée par le biais (ou le taux de recouvrement = recovery) entre la valeur supposée « vraie » et la moyenne des résultats. La méthode est juste si la moyenne des résultats est proche de la valeur « vraie ». **Erreur systématique.**

Biais = Moyenne des résultats (M) – Valeur « vraie » (μ)

Biais relatif (%) = $((M-\mu)/\mu)*100$ = Recovery (%) -100

Recovery (%) = $(M/\mu)*100$

L'exactitude

- Exactitude (angl : accuracy) : se mesure par l'écart des résultats par rapport à la valeur « vraie ». Combinaison de la fidélité et de la justesse. **Erreur totale.**

Ce n'est pas parce qu'on a une méthode fidèle et juste qu'elle est d'office exacte. Il faut donc vérifier l'exactitude au final. Dans de nombreuses normes, il existe une confusion entre exactitude et justesse.

Erreur totale = Biais + Ecart-type

Erreur totale = Erreur systématique + Erreur aléatoire

Exactitude = Justesse + Fidélité

La robustesse

- Robustesse : regarder les performances de la méthode en faisant varier différents paramètres analytiques de la méthode (split ratio...). Etude à part entière qui nécessite la mise en œuvre de plans expérimentaux (Packett-Burman). Critère plus complet que la reproductibilité. Idéalement, il faut faire cette étude en fin de validation.

La limite de détection

- *Limite de détection (LOD)* : la limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte, dans les conditions expérimentales décrites de la procédure.

La limite de quantification

- Limite de quantification (LOQ) : La limite de quantification est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude (justesse + fidélité) définie. La limite de quantification n'a de sens que si son exactitude a été démontrée → LOQ + estimation de l'exactitude associée.