

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION GENERALE

I.1. CYCLE DE VIE D'UNE METHODE ANALYTIQUE	1
I.1.1. Sélection d'une méthode	2
I.1.2. Développement d'une méthode	3
I.1.2.1. Méthodologie des plans d'expériences	3
I.1.2.2. Modélisation	4
I.1.2.3. Optimisation	4
I.1.2.4. Optimisation simultanée de plusieurs réponses	6
I.1.3. Validation	7
I.1.4. Robustesse	11
I.1.5. Etude collaborative	13
I.2. INCERTITUDE	16
I.2.1. Généralités	16
I.2.2. Définition de l'incertitude	18
I.2.3. Composantes de l'incertitude	19
I.2.3.1. Incertitude type	19
I.2.3.2. Incertitude type composée	21
I.2.3.3. Incertitude élargie	21
I.2.4. Sources d'incertitude	22
I.2.4.1. Sources d'incertitude selon le type d'évaluation de L'incertitude	23
I.2.4.1.1. Evaluation du Type A	23
I.2.4.1.2. Evaluation du Type B	24
I.2.4.2. Sources d'incertitude selon l'erreur	24
I.2.4.2.1. Erreur et incertitude	24
I.2.4.2.2. L'échelle d'erreur	26
I.2.4.3. Sources d'incertitude dans l'analyse pharmaceutique	26
I.2.5. Approches pour l'estimation de l'incertitude	30
I.2.5.1. Approches intra-laboratoire	30

I.2.5.1.1. Approche ISO	30
I.2.5.1.2. Approche par la Validation	32
I.2.5.1.3. Approche par la Robustesse	33
I.2.5.2. Approche Inter-laboratoires	33
I.2.5.2.1 Approche CMA	33
I.2.5.3. Approches mixtes	34
I.2.5.3.1. Approche de Barwick et Ellison	34
I.2.5.3.2. Approche ISO/TS	35
I.2.6. Quantification de l'incertitude	36
I.2.6.1. Approche intra-laboratoire	36
I.2.6.1.1. Approche ISO	36
I.2.6.1.2. Approche basée sur l'évaluation de la précision	37
I.2.6.1.3. Approche basée sur les données de validation	40
I.2.6.1.4. Approche basée sur les données de robustesse	41
I.2.6.2. Approche inter-laboratoires	42
I.2.6.3. Approches mixtes	43
I.2.6.3.1. Approche proposée par Barwick et Ellison	43
I.2.6.3.2. Approche proposée par ISO/TS	44

II. BUTS DU TRAVAIL

III. MATERIELS ET METHODES

III.1. INTRODUCTION	49
III.2. CHIRALITE	51
III.2.1. Définition et principes	51
III.2.2. Intérêt de la chiralité	51
III.2.3. Chiralité et analyse	52
III.3. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE	55
III.3.1. Grandeurs chromatographiques	55
III.3.1.1. Grandeurs de rétention - Facteur de rétention	55
III.3.1.2. Sélectivité	55
III.3.1.3. Résolution	56

III.3.1.4. Efficacité	56
III.3.2. Produits chimiques et réactifs	57
III.3.3. Appareillage	57
III.3.4. Conditions chromatographiques	57
III.4. ELECTROPHORESE CAPILLAIRE	60
III.4.1. Grandeurs électrophorétiques	60
III.4.1.1. Temps de migration	60
III.4.1.2. Sélectivité	61
III.4.1.3. Résolution	61
III.4.1.4. Efficacité	62
III.4.2. Produits chimiques et réactifs	63
III.4.3. Appareillage	64
III.4.4. Conditions électrophorétiques	64
IV. CYCLE DE VIE D'UNE METHODE DE	
CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE	
IV.1. DEVELOPPEMENT	66
IV.1.1. Introduction	66
IV.1.2. Préparation des solutions	67
IV.1.3. Résultats et discussion	67
IV.1.3.1. Etude préliminaire univariée et sélection des facteurs	67
IV.1.3.2. Domaine expérimental et sélection des réponses	71
IV.1.3.3. Modélisation et plan d'expériences	73
IV.1.3.4. Evaluation des effets des facteurs	75
IV.1.3.5. Optimisation des conditions chromatographiques	80
IV.1.3.5.1. Sélection des réponses d'intérêt	80
IV.1.3.5.2. Fonction de désirabilité	81
IV.1.3.6. Application	88
IV.1.3.6.1. Evaluation de la capacité de la méthode pour l'usage requis	88
IV.1.3.6.2. Stabilité des composés	89
IV.1.4. Conclusion	90
IV.2. VALIDATION	91
IV.2.1. Introduction	91

IV.2.2. Préparation des solutions	92
IV.2.2.1. Solutions pour la validation de la méthode de CLHP	92
IV.2.2.1.1. Standards de calibration	92
IV.2.2.1.2. Standards de validation	93
IV.2.2.2. Solutions utilisées pour la détermination quantitative	93
IV.2.3. Résultats et discussion	94
IV.2.3.1. Stratégie du profil d'exactitude	94
IV.2.3.2. Critères de validation	95
IV.2.3.3. Validation de la méthode de dosage du R-timolol	95
IV.2.3.3.1. Sélectivité	95
IV.2.3.3.2. Analyse de la fonction de réponse et sélection du modèle de régression approprié	98
IV.2.3.3.3. Justesse	103
IV.2.3.3.4. Fidélité	103
IV.2.3.3.5. Exactitude	104
IV.2.3.3.6. Linéarité	105
IV.2.3.3.7. Limites de détection et de quantification	107
IV.2.3.4. Profil de risque	108
IV.2.3.5. Détermination quantitative des impuretés	110
IV.2.4. Conclusion	112
IV.3. ROBUSTESSE	113
IV.3.1. Introduction	113
IV.3.2. Préparation des solutions	113
IV.3.2.1. Solution utilisée pour le test d'adéquation	114
IV.3.2.2. Solutions utilisées pour la détermination quantitative	114
IV.3.2.2.1. Solution de référence	114
IV.3.2.2.2. Solutions à analyser	115
IV.3.3. Résultats et discussion	115
IV.3.3.1. Identification et sélection des facteurs	116
IV.3.3.2. Définition des niveaux des facteurs	117
IV.3.3.3. Sélection du plan expérimental	118
IV.3.3.4. Protocole expérimental	118
IV.3.3.5. Identification et sélection des réponses	121
IV.3.3.6. Résultats d'exécution des expériences	121

IV.3.3.6.1. Adéquation du système de CLHP et réponses qualitatives	121
IV.3.3.6.2. Réponses quantitatives	123
IV.3.3.7. Evaluation statistique des effets des facteurs	128
IV.3.4. Conclusion	130
IV.4. ETUDE COLLABORATIVE	131
IV.4.1. Introduction	131
IV.4.2. Matériels et méthode	132
IV.4.2.1. Appareillage	132
IV.4.2.2. Produits chimiques et réactifs	135
IV.4.2.3. Préparation des solutions	136
IV.4.2.3.1. Solutions de référence	136
IV.4.2.3.2. Solutions utilisées pour la détermination quantitative	138
IV.4.2.4. Protocole d'exécution de l'étude	138
IV.4.2.5. Analyse statistique des résultats quantitatifs	139
IV.4.3. Résultats et discussion	142
IV.4.3.1. Test d'aptitude (Training)	142
IV.4.3.2. Etude inter-laboratoires	143
IV.4.3.2.1. Vérification du système de CLHP et réponses chromatographiques	143
IV.4.3.2.2. Réponses quantitatives : teneur du R-timolol et des autres impuretés	148
IV.4.3.2.3. Examen critique des données quantitatives	152
IV.4.3.2.3.1. Evaluation intra-laboratoire	152
IV.4.3.2.3.2. Evaluation inter-laboratoires	153
IV.4.4. Conclusion	155

V. CYCLE DE VIE D'UNE METHODE D'ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

V.1. DEVELOPPEMENT	157
V.1.1. Introduction	157
V.1.2. Préparation des solutions des solutions	158
V.1.3. Résultats et discussion	158
V.1.3.1. Optimisation des conditions électrophorétiques	158
V.1.3.2. Sélection de l'étalon interne	159

V.1.3.3. Influence de la concentration de la solution échantillon et du temps d'injection	161
V.1.4. Conclusion	164
V.2. VALIDATION	165
V.2.1. Introduction	165
V.2.2. Préparation des solutions	165
V.2.2.1. Solutions pour la validation de la méthode d'EC	165
V.2.2.1.1. Standards de calibration	165
V.2.2.1.2. Standards de validation	166
V.2.2.2. Solutions utilisées pour la détermination quantitative	167
V.2.2.2.1. Solution de référence	167
V.2.2.2.2. Solution à examiner	167
V.2.3. Résultats et discussion	167
V.2.3.1. Buts de la validation	167
V.2.3.2. Critères de validation	168
V.2.3.3. Validation de la méthode de dosage du R-timolol	168
V.2.3.3.1. Sélectivité	168
V.2.3.3.2. Analyse de la fonction de réponse et sélection du modèle de régression appropriée	171
V.2.3.3.3. Justesse	175
V.2.3.3.4. Fidélité	176
V.2.3.3.5. Exactitude	177
V.2.3.3.6. Linéarité	177
V.2.3.3.7. Limites de détection (LD) et de quantification (LQ)	179
V.2.3.4. Profil de risques	180
V.2.3.5. Détermination du R-timolol	181
V.2.3.5.1. Quantification dans des échantillons de maléate de timolol	181
V.2.3.5.2. Comparaison des résultats d'EC avec ceux de la CLHP	182
V.2.4. Conclusion	184
V.3. ROBUSTESSE	185
V.3.1. Introduction	185
V.3.2. Préparation des solutions	185
V.3.2.1. Solution d'étalon interne	185
V.3.2.2. Solution utilisée pour le test de performance	186

V.3.2.3. Solutions utilisées pour la détermination quantitative	186
V.3.2.3.1. Solution de référence	186
V.3.2.3.2. Solutions à analyser	186
V.3.3. Résultats et discussion	187
V.3.3.1. Identification et sélection des facteurs	187
V.3.3.2. Définition des niveaux des facteurs	188
V.3.3.3. Sélection du plan expérimental	188
V.3.3.4. Protocole expérimental	189
V.3.3.5. Identification et sélection des réponses	192
V.3.3.6. Résultats d'exécution des expériences	193
V.3.3.6.1. Adéquation du système EC et réponses qualitatives	193
V.3.3.6.2. Réponses quantitatives	197
V.3.3.7. Evaluation des effets des facteurs	203
V.3.3.8. Conclusions des analyses graphiques	204
V.3.3.8.1. Réponses quantitatives	204
V.3.3.8.2. Réponses qualitatives	205
V.3.4. Conclusion	207
VI.4. ETUDE COLLABORATIVE	208
V.4.1. Introduction	208
V.4.2. Matériels et méthode	208
V.4.2.1. Appareillage	208
V.4.2.2. Produits chimiques et réactifs	211
V.4.2.3. Conditions électrophorétiques	211
V.4.2.4. Préparation des solutions	212
V.4.2.4.1. Solutions de référence	212
V.4.2.4.2. Solutions pour la détermination quantitative	214
V.4.2.4.2.1. Solution de l'étalon interne	214
V.4.2.4.2.2. Solution de référence	214
V.4.2.4.2.3. Solution à examiner	214
V.4.2.4.3. Protocole d'exécution de l'étude	215
V.4.2.5. Analyse statistique des résultats quantitatifs	216
V.4.3. Résultats et discussion	216
V.4.3.1. Test d'aptitude (Training)	217
V.4.3.2. Etude inter-laboratoires	218

V.4.3.2.1. Vérification du système d'EC et réponses électrophorétiques	218
V.4.3.2.2. Réponses quantitatives	225
V.4.3.2.2.1. Teneur en R-timolol	225
V.4.3.2.2.2. Examen critique des données	228
V.4.3.2.2.2.1. Evaluation intra-laboratoire	2229
V.4.3.2.2.2.2. Evaluation inter-laboratoires	230
V.4.4. Conclusion	233

VI. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE

VI.1. INTRODUCTION	234
VI.2. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN VALIDATION	236
VI.2.1. Méthodologie	236
VI.2.2. Résultats et discussion	239
VI.3. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN ROBUSTESSE	241
VI.3.1. Méthodologie	241
VI.3.2. Résultats et discussion	242
VI.3.2.1. Examen critique des résultats	242
VI.3.2.2. Calcul des variances	242
VI.3.2.3. Estimation des différentes composantes d'incertitude	245
VI.4. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN INTER-LABORATOIRES	247
VI.4.1. Méthodologie	247
VI.4.2. Résultats et discussion	247
VI.4.2.1. Calcul des variances	247
VI.4.2.2. Estimation de l'incertitude	251
VI.5. COMPARAISON DES DIFFERENTES ETUDES POUR L'EVALUATION DE L'INCERTITUDE	253
VI.5.1. Robustesse et Inter-laboratoires	253
VI.5.2. Validation, Robustesse et Inter-laboratoires	253
VI.6. CONCLUSION	260

VII. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

VII.1. INTRODUCTION	262
VII.2. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN VALIDATION	263
VII.2.1. Méthodologie	263
VII.2.2. Résultats et discussion	263
VII.3. Estimation de l'incertitude en robustesse	265
VII.3.1. Méthodologie	265
VII.3.2. Résultats et discussion	266
VII.3.2.1. Examen critique des résultats	266
VII.3.2.2. Calcul des variances	267
VII.3.2.2. Estimation des différentes composantes de l'incertitude	269
VII.4. ESTIMATION DE L'INCERTITUDE EN INTER-LABORATOIRES	271
VII.4.1. Méthodologie	271
VII.4.2. Résultats et discussion	271
VII.4.2.1. Calcul des variances	271
VII.5. COMPARAISON DES INCERTITUDES OBTENUES PAR LES DIFFERENTES ETUDES	275
VII.5.1. Robustesse et Inter-laboratoires	275
VII.5.2. Validation, Robustesse et Inter-laboratoires	276
VII.6. CONCLUSION	279

VIII. CONCLUSIONS GENERALES

IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

X. RESUMES

XI. ANNEXES