

Validation des méthodes analytiques : Le profil d'exactitude



Pourquoi valider une méthode analytique?

- Passer à une utilisation de l'outil d'analyse en routine
- Obligations réglementaires : normes qualité, BPL, ISO...
- Etre capable de décrire l'obtention d'un résultat (protocole de validation) et de justifier sa validité

Difficultés majeures

- Le choix des textes réglementaires et leur interprétation
- La définition d'un protocole expérimental
- Le laboratoire doit définir ses propres règles de validation :
procédures internes harmonisées quel que soit le type de
méthode

Définir les objectifs

➤ Objectif d'une méthode analytique ?

Doser le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à évaluer

$$X_i \leftrightarrow \mu_T$$

Résultat

Valeur vraie

Définir les objectifs

➤ Objectif de la validation d'une méthode analytique ?

Donner au laboratoire et aux autorités les garanties suffisantes que chacune des mesures qui seront réalisées en routine avec la méthode d'analyse sera suffisamment proche de la "vérité"

$$|X_i - \mu_T| < \lambda$$

Avec λ = limite d'acceptation

➔ *Besoin d'un outil de décision permettant d'évaluer la capacité de la procédure à fournir des résultats dans les limites d'acceptation*

Illustration : archers - cibles

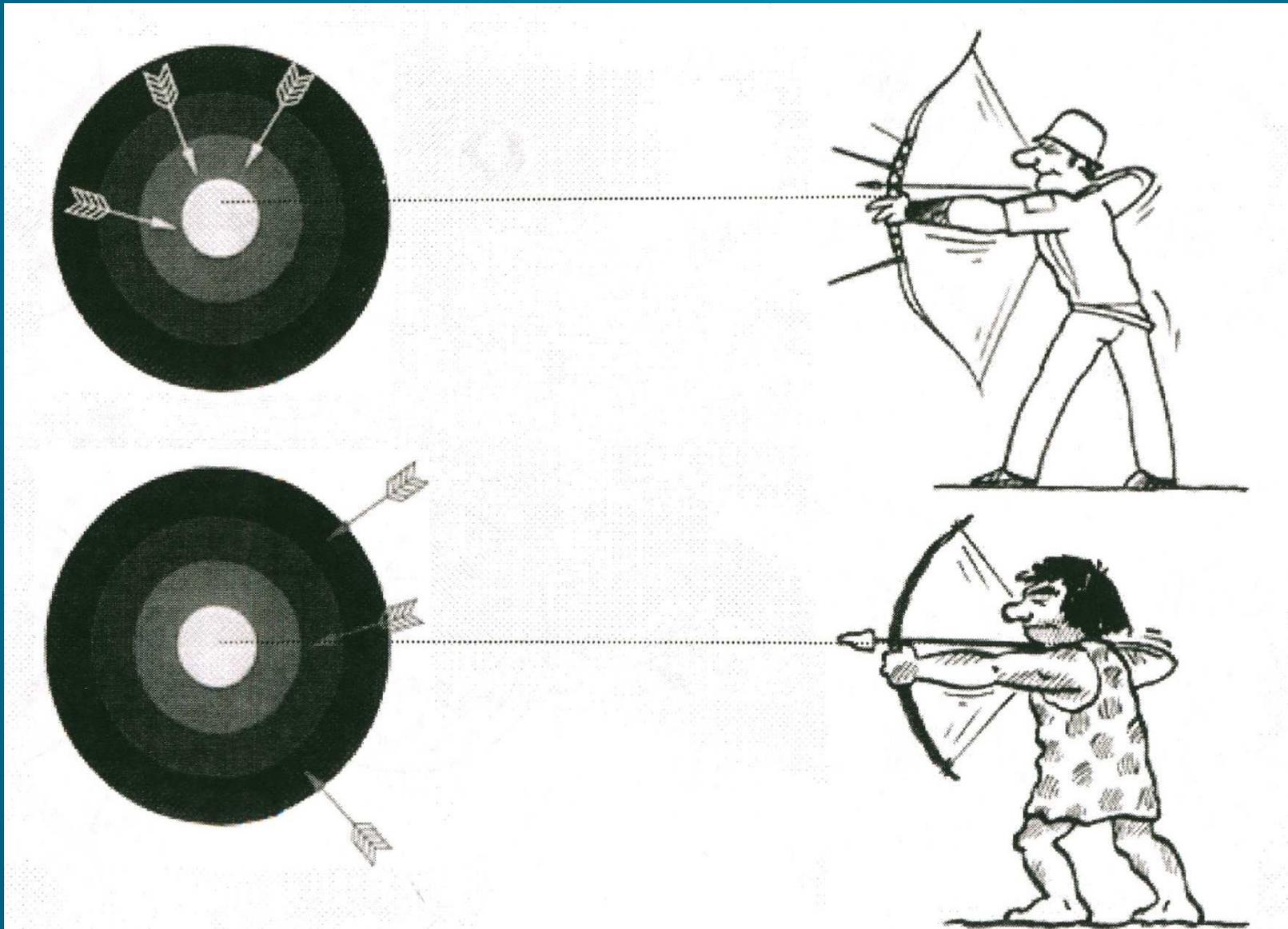


Illustration : archers - cibles

Quelle décision prendre?

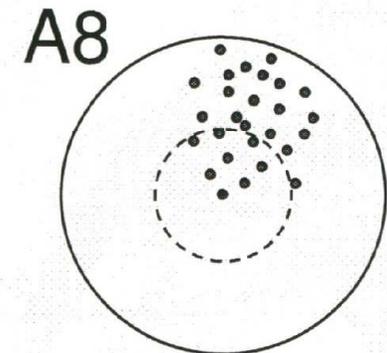
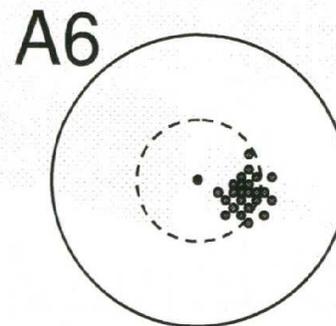
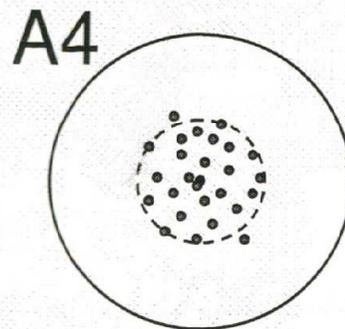
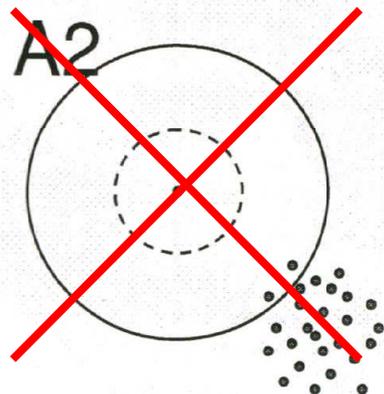
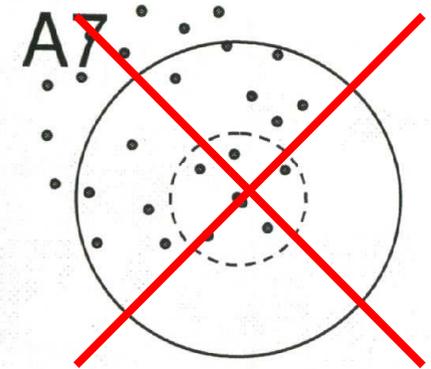
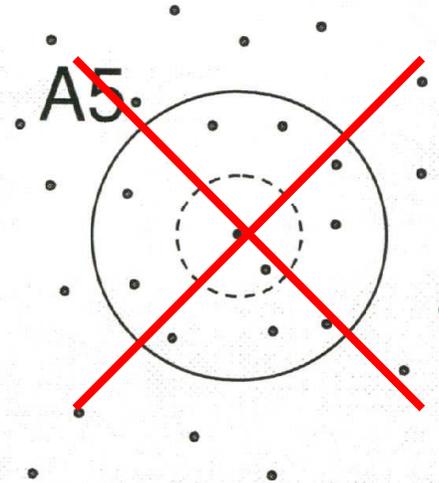
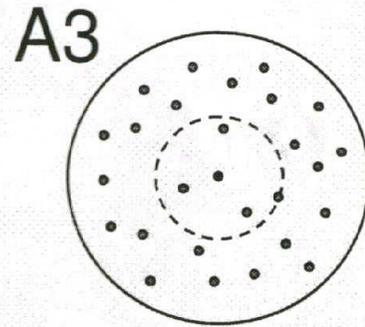
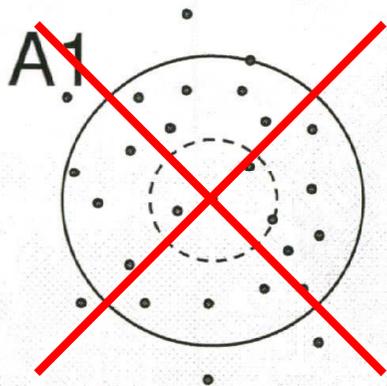


Illustration : archers - cibles

Quels risques?

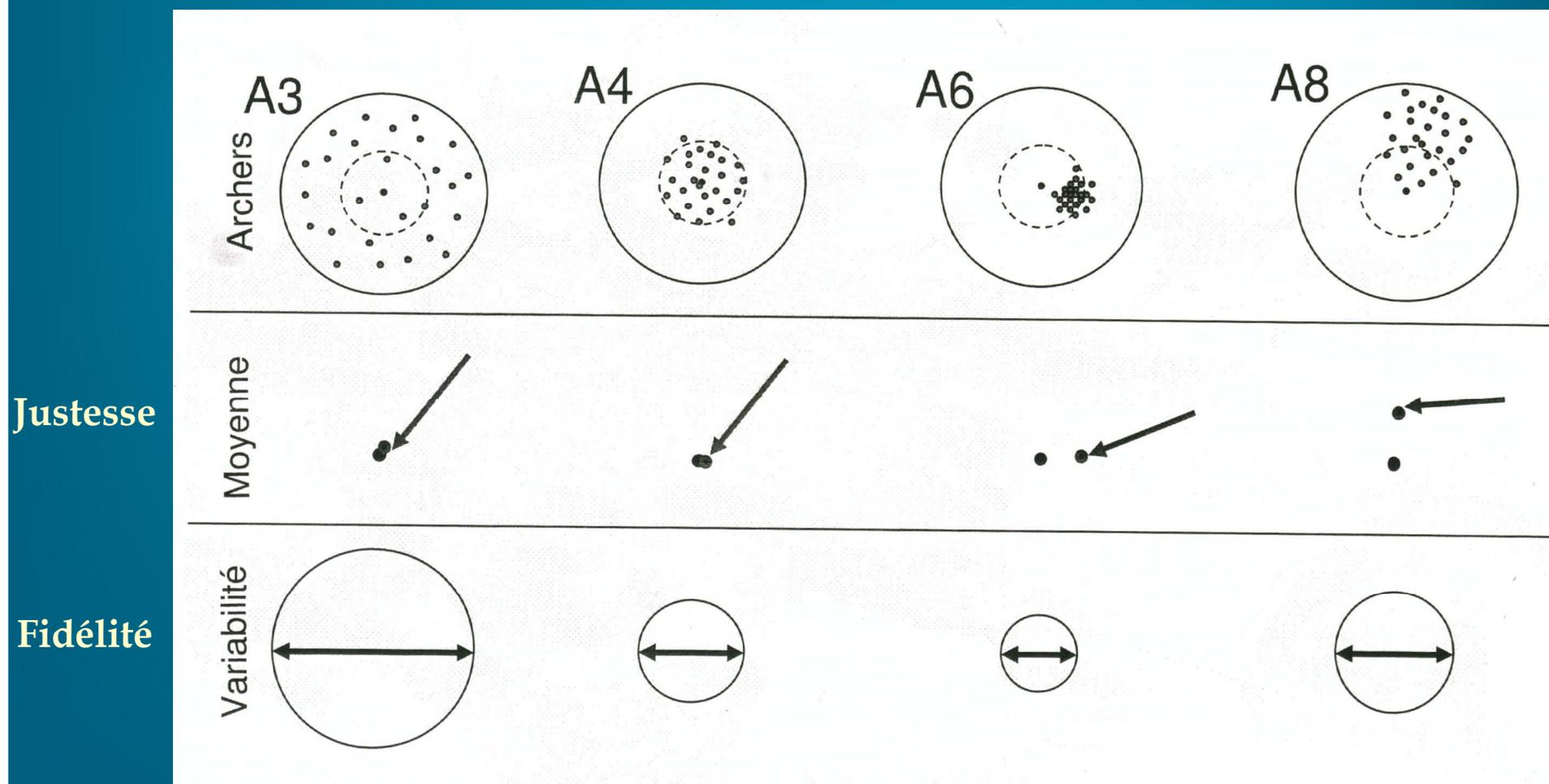
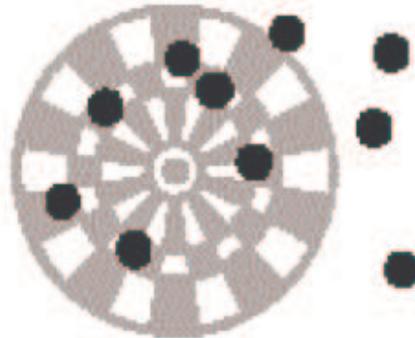


Illustration : archers - cibles

En résumé

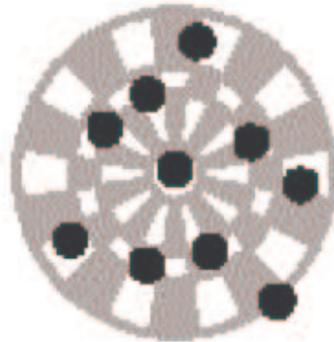
Non fidèle
non juste



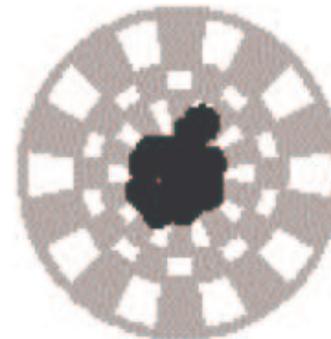
Fidèle
non juste



Non Fidèle
Peut être juste?



Fidèle
juste



Cible

Différents outils de décision

Ne répondent pas à l'objectif de la validation : risque d'accepter des méthodes analytiques dont le risque d'erreur est important !

→ Décision basée sur l'erreur totale → PROFIL D'EXACTITUDE

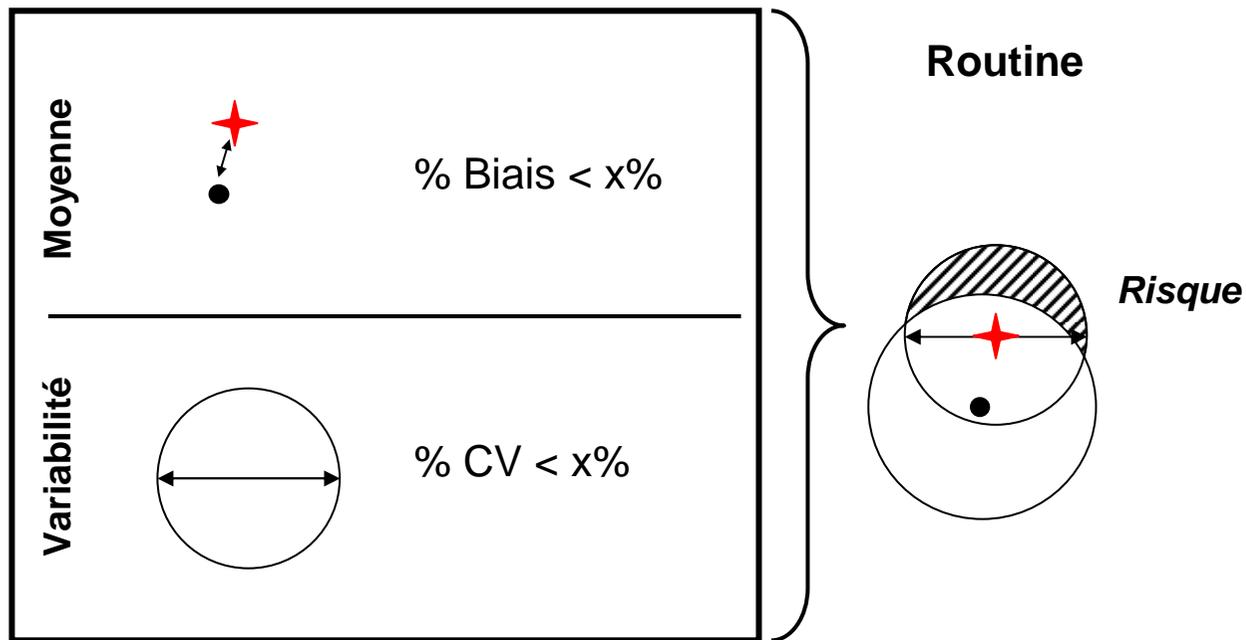
Décision basée sur l'erreur totale

Exemple : notion d'erreur totale

Avion 1 : réacteur et train d'atterrissage fonctionnels

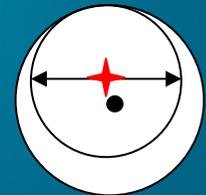
Avion 2 : décolle et atterit

Cas 1



ou

Cas 2



Décision basée sur l'erreur totale

→ Profil d'exactitude

L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de référence et la valeur trouvée

$$x_i = \mu_T + \text{Justesse} + \text{Fidélité}$$

$$x_i - \mu_T = \text{Justesse} + \text{Fidélité}$$

$$x_i - \mu_T = \text{Exactitude (ISO)}$$

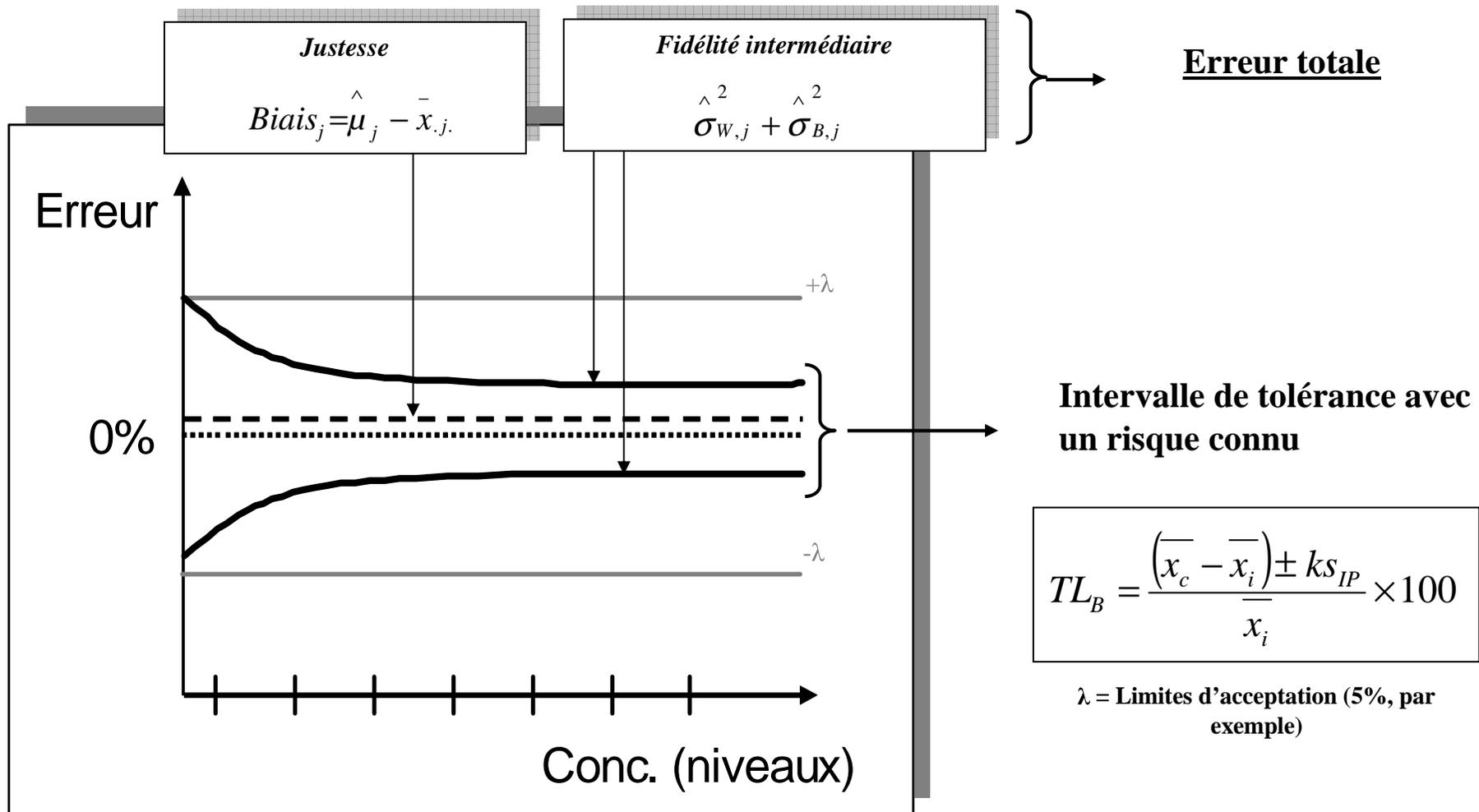
$$x_i - \mu_T = \text{Erreur totale}$$

$$| x_i - \mu_T | < \lambda \Leftrightarrow \text{Erreur totale} < \lambda$$

$\lambda = \text{limite d'acceptation (ex : } \pm 5\%)$

Le profil d'exactitude

Outil de décision



Le profil d'exactitude

Principe et définitions

1. Standards de calibration

- niveaux de concentration (m), répétitions par niveau (n), séries (jours et/ou opérateurs différents) (p)
- Fonctions de réponse : 1 par série
- Choix du modèle mathématique de la fonction de réponse :
linéaire, log, racine carrée... : r^2 (coefficient de détermination)

Le profil d'exactitude

2. Standards de validation

- niveaux de concentration (m'), répétitions par niveau (n'), séries (jours et/ou opérateurs différents) (p)
- traités comme des échantillons réels (dans la matrice utilisée en routine...si possible)
- “Back Calculation” des résultats obtenus (signaux, aire des pics) par la relation inverse de la fonction de réponse

Le profil d'exactitude

3. Justesse (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.

Représente l'erreur systématique

Par niveau de concentration :

Concentration calculée moyenne :

$$\hat{\mu}_j = \frac{1}{\sum_{i=1}^p n_{ij}} \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^{n_{ij}} x_{ijk,calc}$$



$$\begin{aligned} \text{biais}_j &= \hat{\mu}_j - \bar{x}_{.j}. \\ \text{biais}(\%)_j &= 100 \times \frac{\hat{\mu}_j - \bar{x}_{.j}}{\bar{x}_{.j}}. \\ \text{Recovery}(\%)_j &= 100 \times \frac{\hat{\mu}_j}{\bar{x}_{.j}}. \end{aligned}$$

Le profil d'exactitude

4. Fidélité (Precision)

Mesure la dispersion des résultats, les écarts des résultats par rapport à la moyenne.

Représente l'erreur aléatoire.

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

→ 3 niveaux : répétabilité, fidélité intermédiaire (intra-labo) et reproductibilité (inter-labo)

Le profil d'exactitude

4a. Répétabilité (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.

Variance de répétabilité : $\sigma_{w,j}^2$

Le profil d'exactitude

4b. Fidélité intermédiaire (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 des opérateurs différents et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné (pas obligatoirement des jours consécutifs).

Variance de fidélité intermédiaire : $\sigma_{w,j}^2 + \sigma_{B,j}^2$

Le profil d'exactitude

4. Calculer la fidélité

- Si nombre de répétitions différent :

$$\hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2$$

$$MSM_j = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p n_{ij} (\bar{x}_{ij,calc} - \bar{x}_{.j,calc})^2$$

$$MSE_j = \frac{1}{\sum_{i=1}^p n_{ij} - p} \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^{n_{ij}} (x_{ijk,calc} - \bar{x}_{ij,calc})^2$$

If $MSE_j < MSM_j$ then :

$$\begin{cases} \hat{\sigma}_{W,j}^2 = MSE_j \\ \hat{\sigma}_{B,j}^2 = \frac{MSM_j - MSE_j}{n} \end{cases}$$

Else

$$\begin{cases} \hat{\sigma}_{W,j}^2 = \frac{1}{pn-1} \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^k (x_{ijk,calc} - \bar{x}_{.j,calc})^2 \\ \hat{\sigma}_{B,j}^2 = 0 \end{cases}$$

Le profil d'exactitude

4. Calculer la fidélité

- Si nombre de répétitions identique → simplification des formules

Variance de répétabilité $\hat{\sigma}_{W,j}^2 = \text{Moyenne (Variance par jour)}$

Variance Inter-série $\hat{\sigma}_{B,j}^2 = \text{Variance (Moyenne par jour)} - \hat{\sigma}_{W,j}^2 / n$

Variance fidélité intermédiaire $\hat{\sigma}_{FI}^2 = \hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2$

CV fidélité intermédiaire = Ecart type de la variance / Moyenne
= Racine ($\hat{\sigma}_{FI}^2$) / CC théorique

Le profil d'exactitude

5. Exactitude (Accuracy)

Se mesure par l'écart des résultats par rapport à la valeur vraie.

Combinaison de la fidélité et de la justesse.

Représente l'erreur totale.

Par niveau de concentration :

Calcul des limites de tolérances (β -expectation tolerance limits)

Absolu

$$\left[\hat{\mu}_j - Q_t \left(v; \frac{1+\beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pnB_j^2} \hat{\sigma}_{F.I.,j}} ; \hat{\mu}_j + Q_t \left(v; \frac{1+\beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pnB_j^2} \hat{\sigma}_{F.I.,j}} \right]$$

Relatif

$$\left[\text{biais}(\%)_j - Q_t \left(v; \frac{1+\beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pnB_j^2} CV_{F.I.,j}} ; \text{biais}(\%)_j + Q_t \left(v; \frac{1+\beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pnB_j^2} CV_{F.I.,j}} \right]$$

Le profil d'exactitude

5. Exactitude (Accuracy)

$$\hat{\sigma}_{F.I.,j}^2 = \hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2$$

$$R_j = \frac{\hat{\sigma}_{B,j}^2}{\hat{\sigma}_{W,j}^2}$$

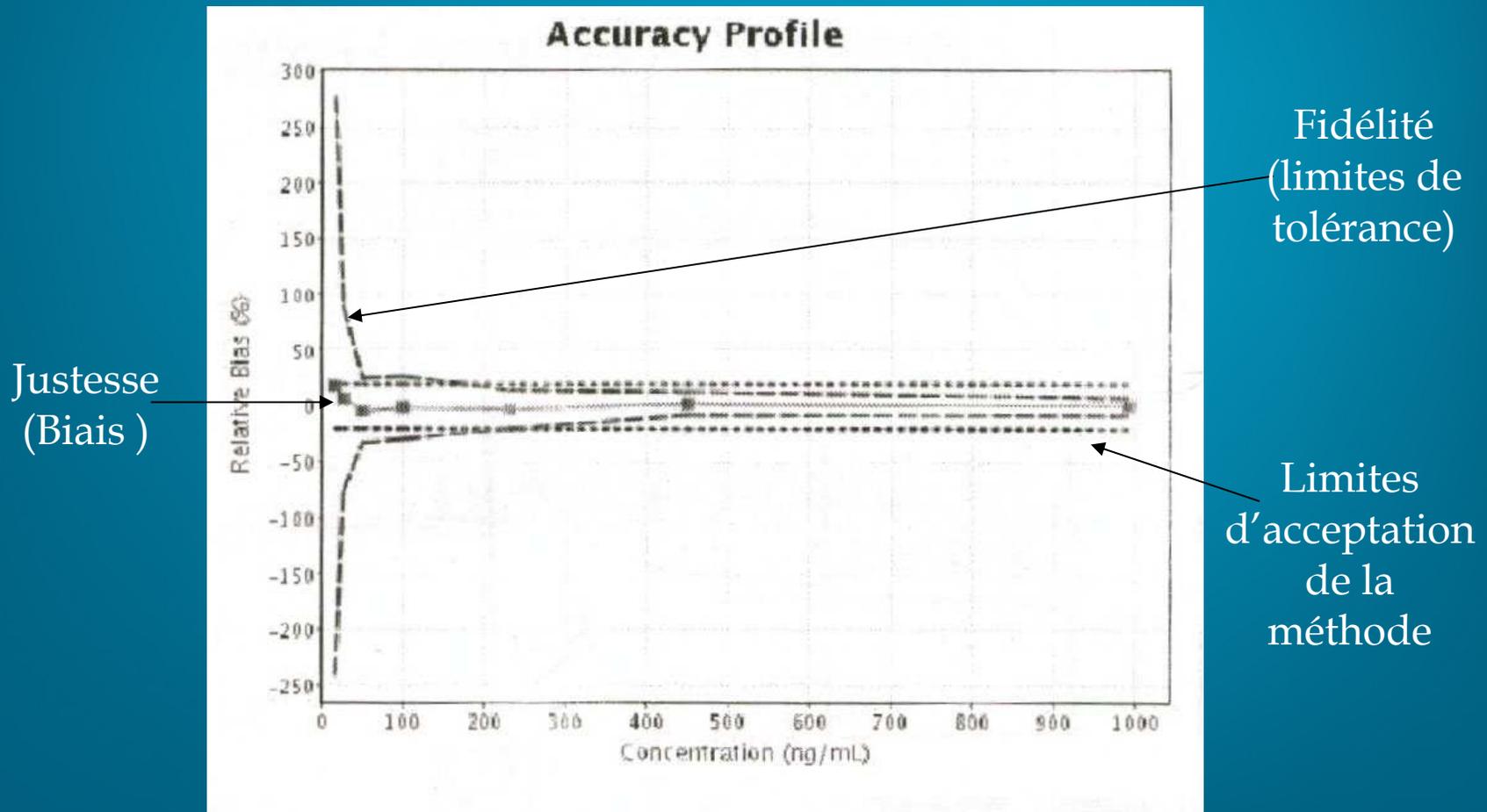
$$B_j = \sqrt{\frac{R_j + 1}{nR_j + 1}}$$

$$v = \frac{(R + 1)^2}{\frac{\left(R + \frac{1}{n}\right)^2}{p-1} + \frac{1 - \frac{1}{n}}{pn}}$$

$$Q_t\left(v; \frac{1 + \beta}{2}\right)$$

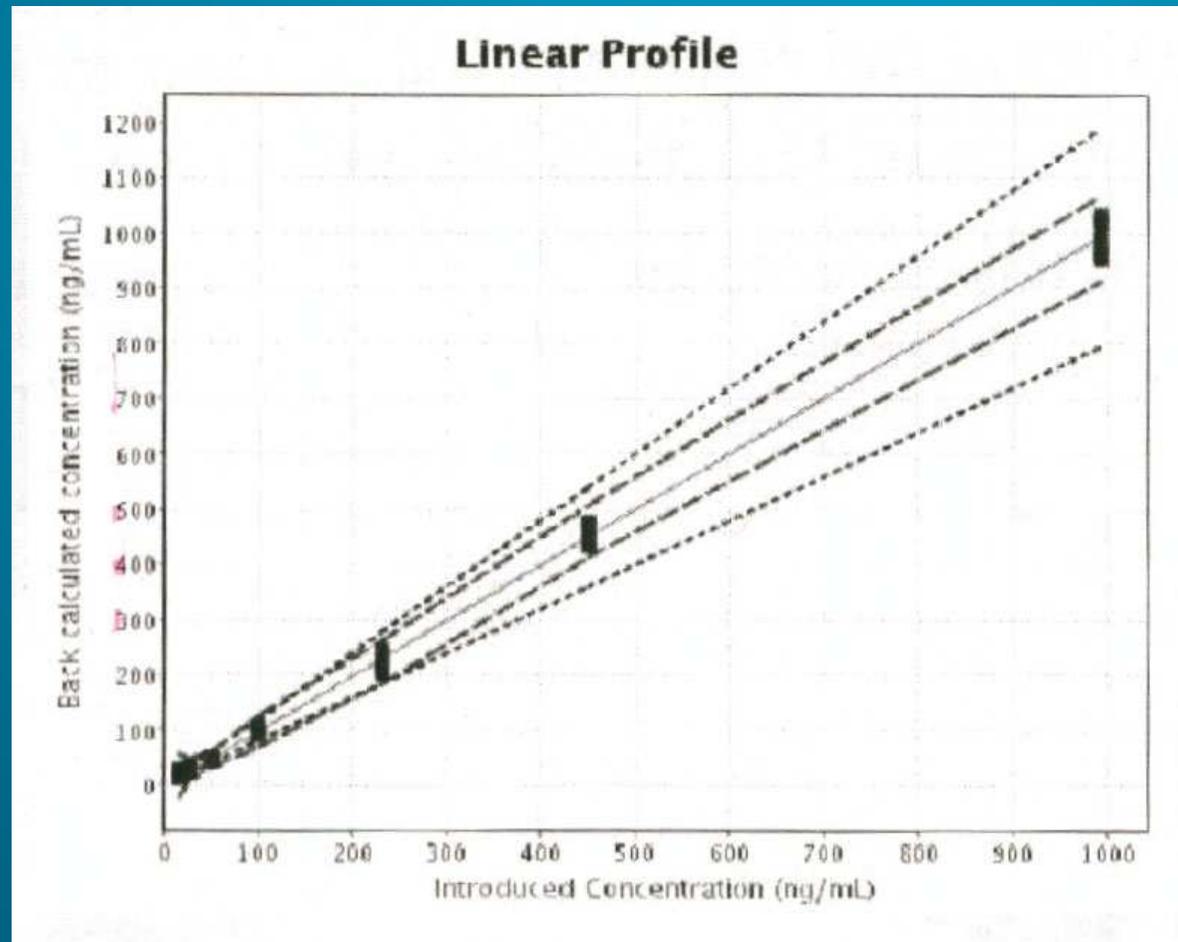
Le profil d'exactitude

En valeur relative : profil d'exactitude



Le profil d'exactitude

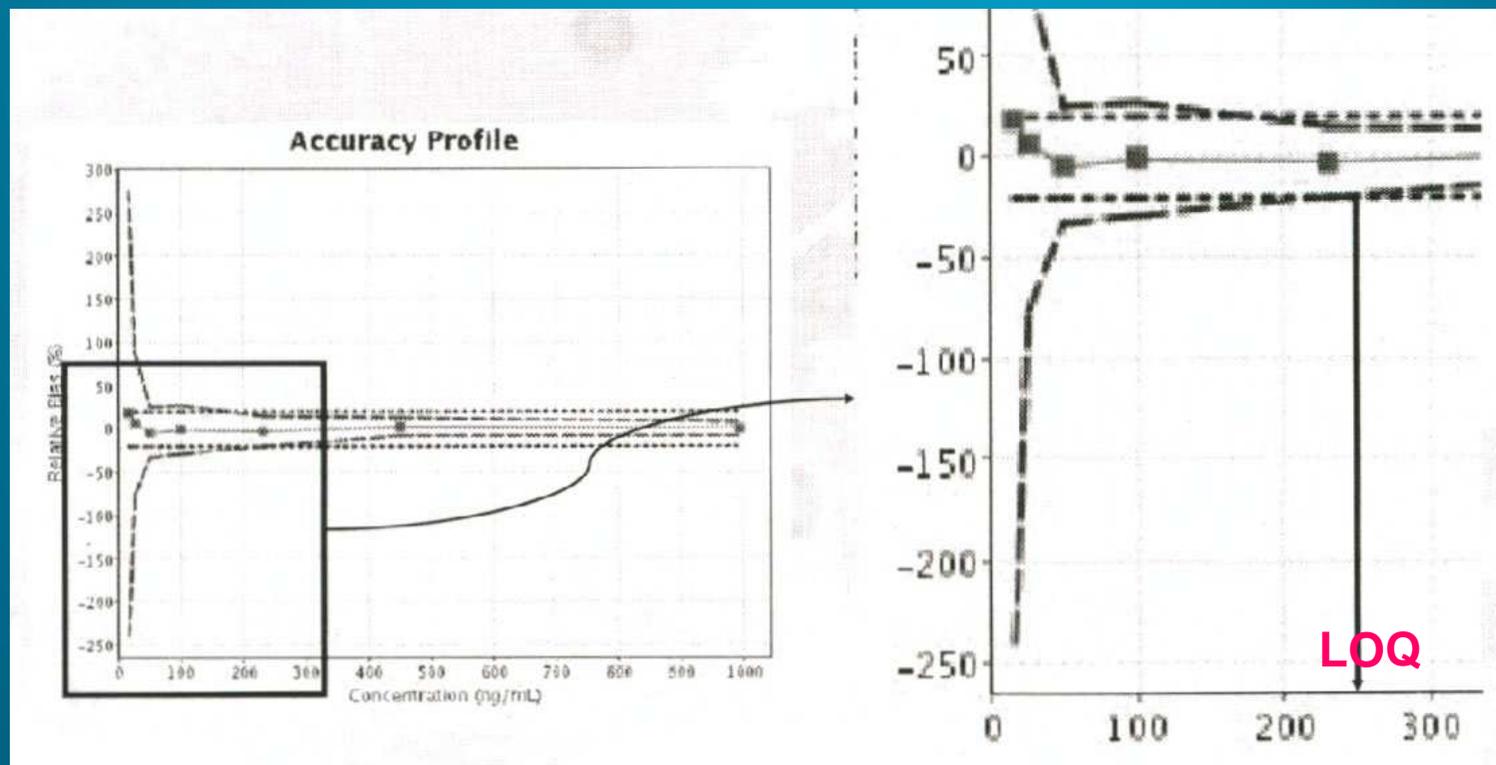
En valeur absolue : profil de linéarité



Le profil d'exactitude

Limite de quantification :

Intersection des limites d'acceptation et des limites de tolérance



Merci de votre attention

Questions?