Validation d'une méthode de mesure

http://ligodin.free.fr
ligodin@free.fr

INTRODUCTION

☛ Des méthodes d'analyse fiables sont requises pour être en accord avec les réglementations nationales et internationales dans tous les domaines d'analyse et/ou les exigences normatives et/ ou les exigences du client. En conséquence, **un laboratoire donné** doit prendre les dispositions appropriées pour s'assurer qu'il est en mesure de rendre des résultats correspondant au niveau de qualité requis. Pour cela, il doit :

➢ Utiliser des méthodes d'analyse **validées** ;

➢ Pratiquer régulièrement des **contrôles de qualité**.

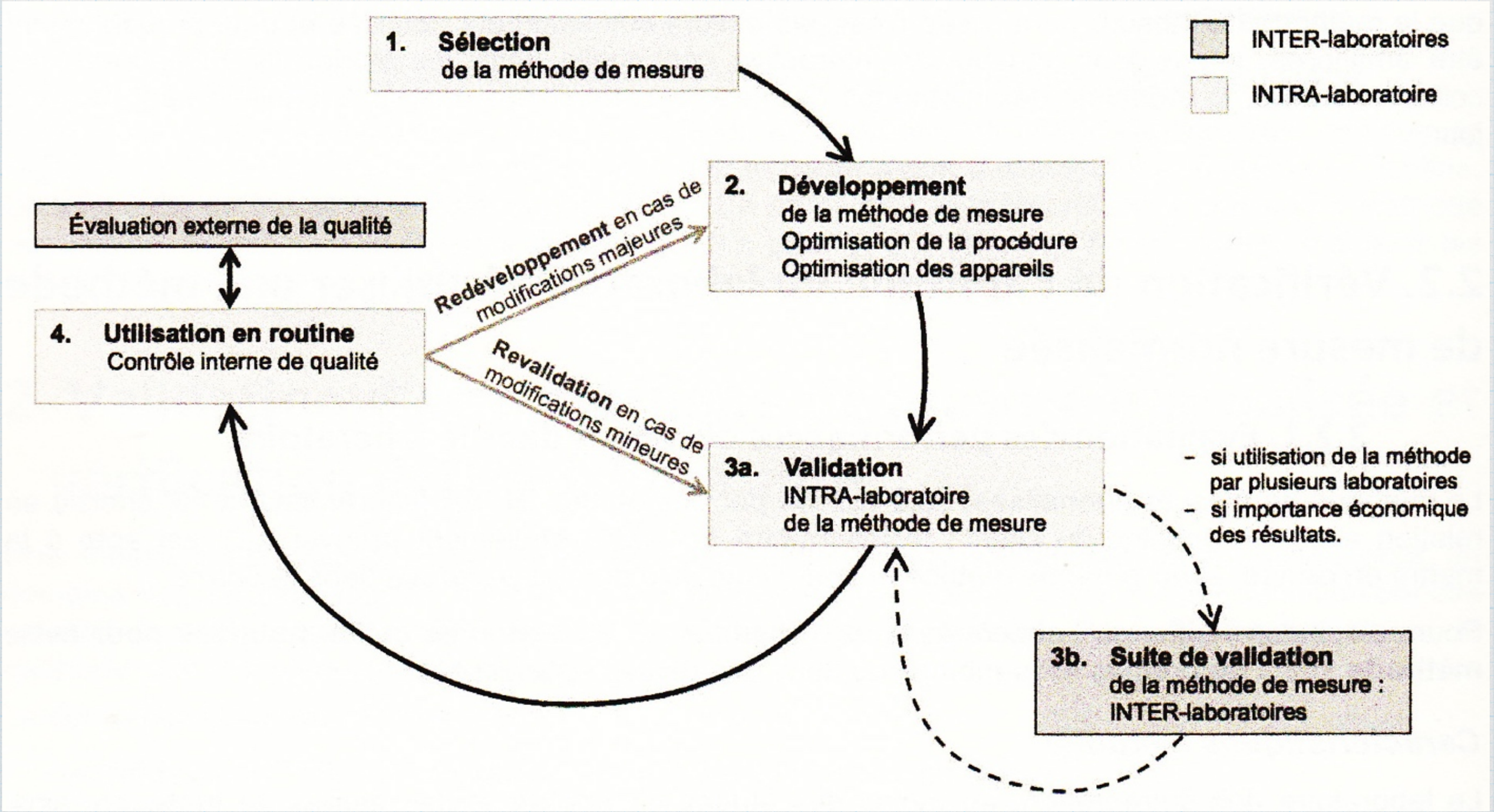
Document : Validation d'une méthode de mesure

☛ Lorsqu'un laboratoire veut utiliser une méthode de mesure non normalisée ou une méthode normalisée mais en la modifiant ou en l'employant en dehors de son domaine d'application, il doit lui-même en effectuer le développement puis la validation complète.

1/ Cycle de vie d'une méthode de mesure

☛ Avant d'organiser la validation d'une méthode de mesure, il faut d'abord l'avoir correctement mise au point lors de l'étape de développement.

☛ Toute **méthode** de mesure présente donc un **cycle de vie** schématisé ci-dessous et comprenant plusieurs étapes :



1. Sélection de la méthode de mesure :

Il s'agit de choisir la méthode à mettre en oeuvre parmi toutes celles connues permettant de quantifier l'analyte, en fonction des besoins, des contraintes et du matériel disponible. Il est possible aussi de créer une méthode nouvelle.

2. Développement de la méthode de mesure :

Il s'agit entre autres :

- de définir le domaine d'application (matrices auxquelles s'applique la méthode et niveaux de concentration) ;

- d'identifier les étapes critiques ;

- de mettre au point et de rédiger la procédure de mesure ;

- d'optimiser et de qualifier les appareils ;

- de définir les réactifs dans le cadre des conditions pratiques où ils vont être utilisés.

L'étude de validation ne peut être lancée que lorsque la procédure de mesure a été complètement rédigée et que les appareils ont subi une qualification d'installation puis une qualification opérationnelle et de performances.

3. Validation :

Il s'agit de fournir des preuves tangibles que la méthode de mesure satisfait aux exigences spécifiées pour son utilisation donnée.

3a. Cette validation doit être réalisée **obligatoirement** par une étude **INTRA-laboratoire** :

- soit selon des techniques statistiques classiques ;
- soit selon la méthode utilisant le "profil d'exactitude" : approche probabiliste avec représentation graphique permettant de simplifier l'analyse des résultats.

3b. Dans les cas où la méthode de mesure peut être utilisée par plusieurs laboratoires ou si les résultats peuvent servir à des décisions économiques, elle doit, de plus, être validée par une étude **INTER-laboratoires**.

C'est le cas des méthodes d'analyse utilisées pour déterminer la conformité d'un aliment ; en effet, le résultat obtenu conduit à une décision économique. Par exemple, dans le cas d'une méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes*, le résultat de l'analyse peut conduire au retrait de l'aliment si la limite pour le critère de sécurité est dépassée.

4. Utilisation en routine : si la méthode de mesure est validée, elle pourra être utilisée régulièrement.

Toute méthode peut ensuite évoluer : elle subit alors des modifications nécessitant un redéveloppement et/ou une revalidation.

2/ Validation INTRA-laboratoire classique

Bilan

Validation INTRA-laboratoire : performances étudiées **conformes** aux besoins du client ⟶ Méthode de mesure **validée** ⟶ Laboratoire **apte**

3/ Validation INTRA-laboratoire par le profil d'exactitude

☛ Le profil d'exactitude est applicable aussi bien à la validation INTRA-laboratoire qu'à l'interprétation de données collectées dans le cadre d'une étude INTER-laboratoires. Il est présenté ici dans le cadre d'une validation interne.

3.1. Définitions

♦ ***Profil d'exactitude***

☛ **Profil d'exactitude** (NF V03-110) : combinaison sous une forme **graphique**, d'un ou plusieurs **intervalles de tolérance** d'espérance β calculés à différents niveaux de concentration et d'un ou plusieurs **intervalles d'acceptabilité**.

♦ ***Intervalle de tolérance***

☛ **Intervalle de tolérance d'espérance β** (NF V03-110) : intervalle qui contient en moyenne une **proportion β** % définie de **futurs mesurages**, obtenus selon un mode opératoire donné et pour une concentration donnée.

Par exemple : une valeur de β de 80 % signifie qu'en moyenne un résultat sur cinq sera en-dehors des limites de l'intervalle de tolérance défini au niveau considéré.

♦ ***Intervalle d'acceptabilité***

☛ **Intervalle d'acceptabilité** (NF V03-110) : spécification de la performance exigée pour la méthode, exprimée comme un écart acceptable autour de la valeur de référence.
Les **limites** de l'intervalle sont **fixées par le client** ou par une **obligation réglementaire**, parfois en fonction du niveau de concentration. Elles sont notées ± λ en valeurs absolues et dans l'unité du mesurande ou (1 ± λ)x100 en valeurs relatives.

☛ L'intervalle d'acceptabilité et l'intervalle de tolérance sont 2 outils indispensables pour construire le profil d'exactitude :

- L'intervalle d'acceptabilité est **choisi** préalablement ;
- L'intervalle de tolérance est **établi** à l'issue de la réalisation des essais, **à partir des résultats obtenus**. La détermination de cet intervalle de tolérance correspond à une approche probabiliste.

3.2. Réalisation des essais

☛ Les mesurages sont effectués selon les recommandations de la norme NF ISO 5725 :

- I séries de mesurages (d'indice i)
- J répétitions (d'indice j) dans chaque série
- K niveaux (d'indice k), couvrant le domaine d'application de la méthode.

Chaque série est l'ensemble des répétitions effectuées en condition de répétabilité sur chacun des k niveaux. Les séries différent par le moment des mesurages et/ou par l'opérateur.

Une **série** i comprend l'ensemble des **valeurs mesurées y_{ijk}** pour ce i.

Pour l'ensemble des séries, on obtient un ensemble de **valeurs mesurées y_{ijk}**.

☛ Le minimum recommandé est I = 3 ; J = 2 ; K = 3. Ceci signifie qu'au minimum il faut choisir 3 niveaux du matériau d'essai, effectuer 3 séries et pour chaque série, 2 essais pour chaque niveau ; soit un nombre total de 18 essais au minimum.

De plus, dans le cas des méthodes qui nécessitent un étalonnage préalable de l'ensemble procédure/système de mesure, un étalonnage est fait pour chaque série de mesures.

À chaque série de mesures, correspond donc un étalonnage différent.

3.3. Calculs

☛ Dans ce qui suit, pour la clarté de l'exposé, la valeur de référence choisie pour le matériau d'essai (x_{ref}) est une concentration.
Les calculs doivent être effectués d'abord par série et ensuite par niveau (calculs non détaillés ici). Seul l'état d'esprit de la démarche est présenté.

♦ ***Taux de recouvrement (ou taux de récupération)***

☛ Dans le cas des méthodes qui nécessitent un étalonnage préalable de l'ensemble procédure/ système de mesure, la **fonction d'étalonnage** (indication y en fonction de la concentration x) a été établie préalablement, pour chaque série, à l'aide de solution étalon :

$$y = f(x)$$

À partir de l'indication (y) du système de mesure, obtenue pour chaque matériau d'essai testé, la valeur mesurée de la concentration (z) est calculée à partir de la **fonction inverse de la fonction d'étalonnage** ; cette valeur mesurée est appelée concentration "retrouvée".

$$z = f^{-1}(y)$$

☛ Le **taux de recouvrement moyen** correspond à la **fraction retrouvée**, exprimée en % par rapport à la valeur de référence du matériau d'essai, pour le niveau de concentration considéré :

$\frac{\bar{\bar{Z}}}{X_{ref}}$

X_{ref} valeur de référence au niveau considéré ;

$\bar{\bar{Z}}$ valeur calculée moyenne au niveau considéré égale à la moyenne des valeurs retrouvées pour l'ensemble des répétitions et pour l'ensemble des séries au niveau considéré.

♦ ***Intervalle de tolérance***

☛ Il est déterminé, **à chaque niveau k**, à partir de l'écart-type de fidélité intermédiaire (ou de reproductibilité) de l'ensemble procédure/système de mesure évalué selon les recommandations de la norme NF ISO 5725, en prenant en compte toutes les valeurs mesurées y_{ijk} à ce niveau k.

On calcule les limites d'un intervalle de tolérance d'espérance β qui **contient une proportion β de futurs résultats** à ce niveau k.

L'intervalle de tolérance est un intervalle symétrique autour de la concentration retrouvée moyenne $\bar{\bar{z}}$ au niveau considéré :

$$\bar{\bar{z}} \pm k_{tol} \times s_{IT}$$

s_{IT} : écart-type pour déterminer l'intervalle de tolérance au niveau considéré ;
k_{tol} : facteur de couverture de l'intervalle de tolérance qui représente le quantile de la distribution t de Student pour ν degrés de liberté et β la probabilité du contenu de l'intervalle de tolérance. La valeur choisie pour β doit être au moins de 80 %.

Remarque : les formules de calcul de s_{IT} et de k_{tol} sont présentées dans la norme NF V03-110.

♦ ***Tableau récapitulatif des valeurs pour le profil d'exactitude***

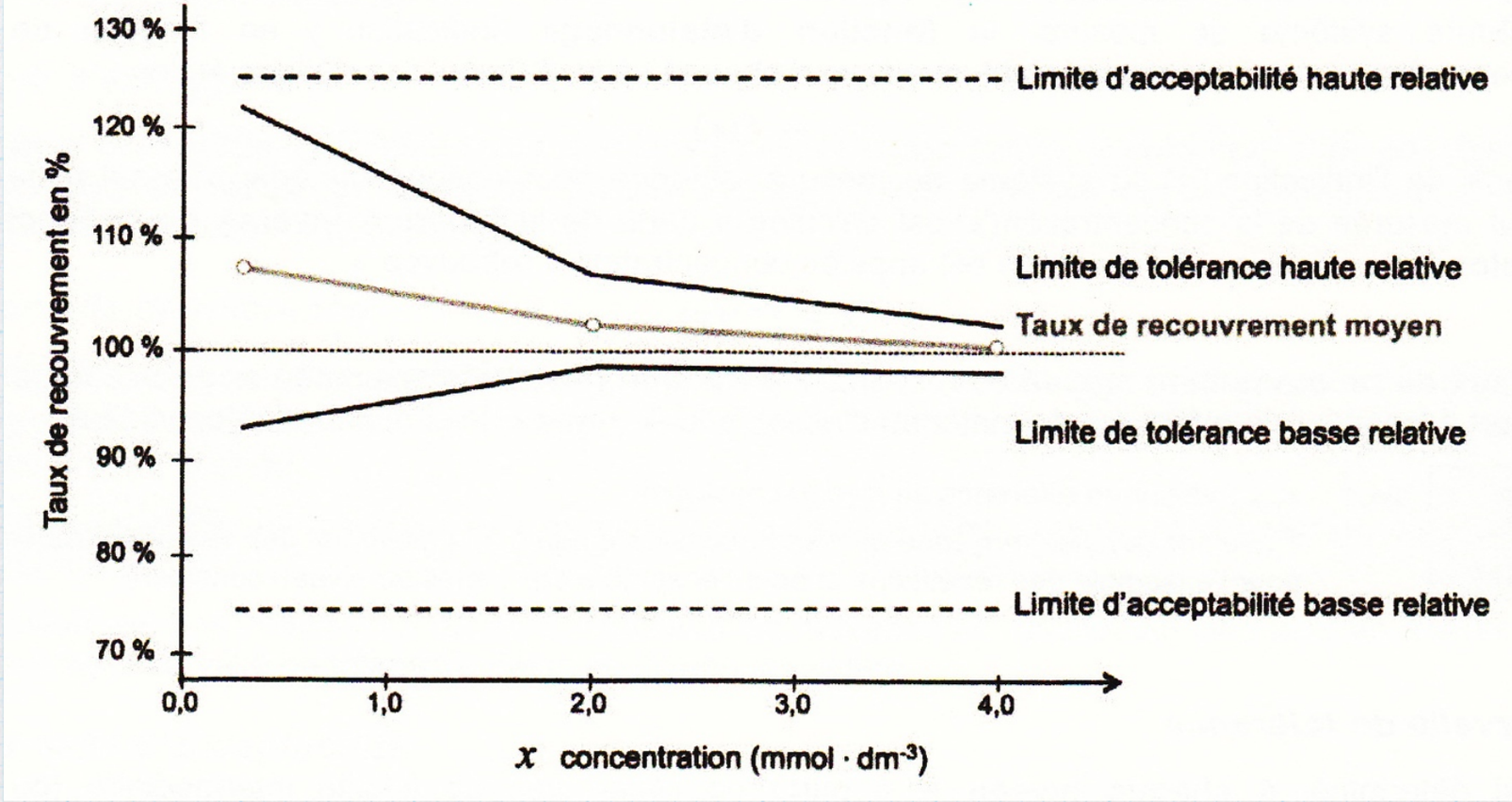
Critères	Symbole	Niveaux 1 … k … K
Valeur de référence de chaque matériau d'essai	x_{ref}	$x_{ref\,1}$ … $x_{ref\,k}$ … $x_{ref\,K}$
Limite de tolérance basse relative	$\frac{\bar{\bar{z}} - k_{tol} \times s_{IT}}{x_{ref}}$	$\frac{\bar{\bar{z}}_k - k_{tol\,k} \times s_{IT\,k}}{x_{ref\,k}}$
Limite de tolérance haute relative	$\frac{\bar{\bar{z}} + k_{tol} \times s_{IT}}{x_{ref}}$	$\frac{\bar{\bar{z}}_k + k_{tol\,k} \times s_{IT\,k}}{x_{ref\,k}}$
Limite d'acceptabilité basse relative	$1 - \lambda$	$1 - \lambda$
Limite d'acceptabilité haute relative	$1 + \lambda$	$1 + \lambda$
Taux de recouvrement	$\frac{\bar{\bar{z}}}{x_{ref}}$	$\frac{\bar{\bar{z}}_k}{x_{ref\,k}}$

Les différentes limites et le taux de recouvrement sont exprimés en pourcentage.

3.4. Construction du graphique : profil d'exactitude

☛ Les éléments graphiques entrant dans le profil d'exactitude sont les suivants, pour chaque niveau :

- sur l'axe horizontal, la valeur de référence du matériau d'essai au niveau considéré ;
- sur l'axe vertical, simultanément, en % :
    - le taux de recouvrement moyen calculé ;
    - les limites des intervalles de tolérance calculés ;
    - les intervalles d'acceptabilité, choisis préalablement.



Avec x_{ref1} = 0,25 mmol.dm^{-3} ; x_{ref2} = 2,0 mmol.dm^{-3} ; x_{ref3} = 4,0 mmol.dm^{-3}.

☛ Sur ce graphique, **pour chaque niveau k** :

1/ À quoi correspond le taux de recouvrement de 100 % ?

2/ Comment est obtenu le taux de recouvrement moyen ?

3/ les limites de tolérance haute et basse relatives, calculées à partir des mesurages effectués et de la proportion β choisie, sont comment par rapport au taux de recouvrement de ce niveau ?

4/ Comment ont été choisies les limites d'acceptabilité haute et basse relatives ?

3.5. Interprétation

☛ Pour valider la méthode, il faut utiliser les deux critères de décision suivants :
- les limites d'acceptabilité choisies ;
- la proportion β choisie, permettant de calculer les limites de tolérance à chaque niveau.

☛ L'interprétation est faite de la manière suivante :
- Si **l'intervalle de tolérance est entièrement compris dans l'intervalle d'acceptabilité**, on peut alors conclure que la méthode est capable de fournir des résultats acceptables dans une proportion au moins égale à β. **La méthode est validée** ;
- Mais dès que **l'intervalle de tolérance sort de l'intervalle d'acceptabilité**, on peut conclure que la méthode n'est plus capable de fournir suffisamment de résultats acceptables, en fonction des choix faits au départ de l'étude. **La méthode n'est pas validée**.

☛ Dans certains cas, on peut limiter le domaine d'utilisation ce qui permet de valider la méthode pour ce nouveau domaine défini (appelé alors domaine de validité).
Dans d'autres cas, en présence d'un biais important, on peut éventuellement appliquer une correction avant de valider la méthode.

3.6. Conclusion

☛ Les profils d'exactitude permettent d'avoir une **estimation du défaut de fidélité et du défaut de justesse** à différents niveaux de concentration en un seul graphique.
Or, on sait que fidélité et justesse sont des qualités nécessaires pour obtenir une bonne exactitude de mesure, d'où le nom de "profil d'exactitude".

☛ La **validation d'une méthode de mesure** est un temps fort nécessitant de :
- définir les attendus des performances de la méthode de mesure pour une analyse donnée ;
- caractériser les performances de cette méthode utilisée dans le laboratoire ;
- comparer les résultats des performances obtenues aux performances attendues.