

Critères de qualités - Validation d'une méthode d'analyse

Généralités

1 Spécificité – sélectivité

2 Linéarité de la gamme d'étalonnage

V, IC, r, test T

3 Exactitude « accuracy » ou justesse

m, ER, TR

4 Fidélité (« Precision » en anglais)

m, σ , CV, IC

4.1 Répétabilité « repeatability »

4.2 Fidélité intermédiaire « intermediate précision »

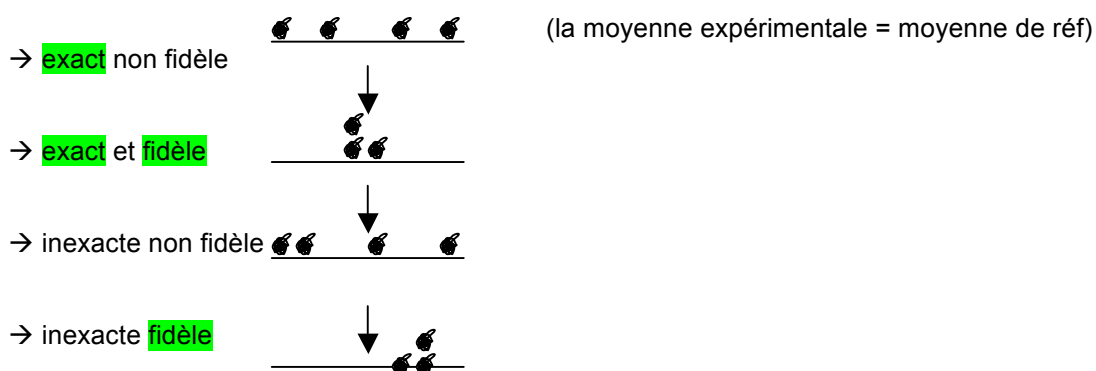
4.3 Reproductibilité « reproductibility »

5 Intervalle de validité « range »

6 Limite de détection (pour impuretés)

7 Limites de quantification « quantification limit »

8 Stabilité des solutions



Généralités

- **ICH** : international conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use :
 - Document de ref de l'indus pharm =
 - But:harmoniser #ts points qui apparaissent ds dossier pharm.
 - ⇒recommandation pour enregistrer les dossier
 - ds UE ,USA ,japon + pays spectateurs
 - ce n'est pas une loi
 - 95 →texte de validation des procédures d'analyse qui fixe le vocabulaire
 - 97 →validation des procédures d'analyse :méthodologie
 - édité en anglais
 - ∃ texte en prep à la pharmacopée européenne

- **Procédure** = méthode d'analyse
 - doc écrit :description détaillée de toutes les opérations nécessaire pour décrire l'analyse de la substance
 - prod chimique ,mode de fab des réactifs ,des solution étalons ,type d'appareillage ,cdt° opératoire ...
 - séquences des injections ... si chromato
 - mode de calculs .. ;
 - càd de la pesée de l'ech au mode de calcul

- **Validation** :
 - but :démontrer (apporter preuves tangibles) que la procédure correspond à l'usage (un usage det)
 - pour lequel elle est prévue
 - si chgt mode de \$ →procédure chgt →à réaliser
 - formulation

- **Critère testés** :
 - spécificité/sélectivité
 - linéarité de la gamme d'étalonnage
 - fidélité
 - répétabilité
 - fidélité intermédiaire
 - reproductibilité
 - intervalle d'appli
 - limite de détection
 - limite de quantification
 - stabilité des solutions

NB : certains critères selon si dosage prod principal ou impuretés

- **Exemple : Validation d'une procédure d'analyse de l'acide acétyl salicylique ds comprimés par HPLC** :
 - Procédure avec :
 - prep de l'ech à analyser
 - conc de l'extrait 100 mg/l théorique en PA
 - injection ,aire
 - prep d'une solution étalon de PA à 100 mg/L :
 - injection ,aire
 - calcul qtité aspirine /cprimé

1 Spécificité - sélectivité

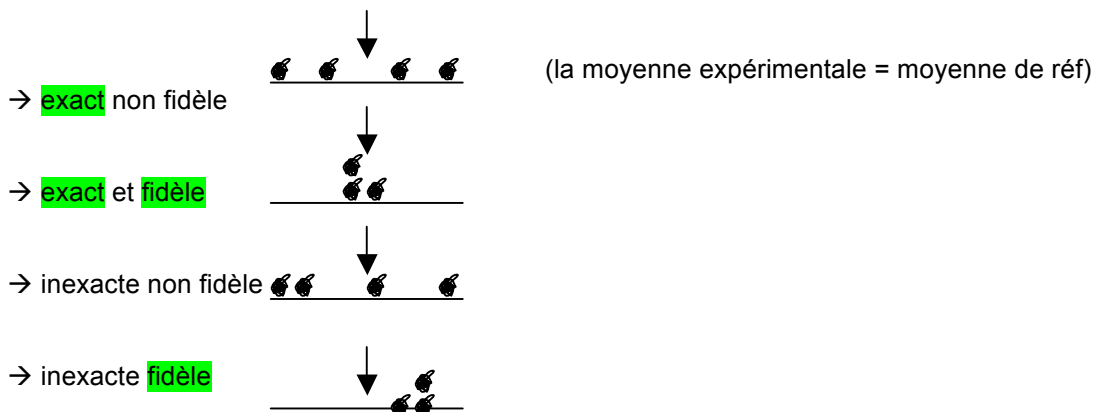
- Méthode spécifique si #cie analyte et substances potentiellement interférentes
- Vérifiées par injection de :
 - constituants de la matrice (excipients)
 - prod de décompo (ASA...)
 - faire au moins 5 solutions de concentrations croissantes
 - dosage en double
 - Comparasion de la valeur moyenne observée à la valeur moyenne observée pour chaque solutions

2 Linéarité de la gamme d'étalonnage

- relation linéaire entre signal et conc en asp :
 - → 5 solutions étalons de Pa (80 à 120% de la conc cibles ,soit 100mg/L du dosage)
 - 80,90,100,110,120
- ⇒examen visuel du graphe :
 - équation de la dte $Y=aX+b$
 - test T pour vérif si ordonnée à l'ori négligeable
 - r, r^2
- analyse de variance (signif de la linéarité) ,intervalle de confiance sur pente et ordonnée à l'ori
→permet ut une seule solution étalon en dosage de routine.

3 Exactitude « accuracy » ou justesse++

- Définition = bonne étroitesse d'accord entre valeur trouvée et valeur acceptée comme vraie (valeur de référence) → les valeurs expérimentale trouvés par l'appareil sont identique aux valeurs de référence (trouvées par une procédure de référence)



- Exactitude → mesure des erreurs systématiques (non due au hasard)
- Exactitude = Valeur trouvée par procédure / valeur trouvée avec une procédure de ref ou valeur trouvée par méthode en l'appliquant à des éch reconstitués prep avec qtité connues d'analytes (80 à 120% qtité PA ds formulation /valeur ajouté théoriquement

→prep comprimé sur et sous dosés et vérif par résultats

reconstitué	excipients (mg)	PA (mg)
1	500	400
2	500	450
3	500	500
4	500	550
5	500	600

- prep des ech à analyser (conc théorique 80 ,90 ,100 ,110 ,120 mg/L PA)
- injection ,aire
- dosage chaque solution par rapport à étalon PA (100 mg/L)
- calcul qtité PA /comprimé

- exactitude vérifiée par **comparaison**
- prep ech à analyser ...
- ...dosage de chaque reconstitué par rapport à l'étalon PA (100 mg/L)
- calcul de la quantité de PA/comprimé
- calcul à chaque conc de **l'erreur relative** (ou biais) $\pm\%$ du **taux de recouvrement**

reconstitué	qtité ajoutée	qtité trouvée	ER%	TR%
fiolle 1	400	398	-0.5%	99.5%
2	450	455	+1.11%	101.11%
3	500	493	-1.40%	98.60%
4	550	559	+1.64%	101.64%
5	600	610	+1.66%	101.66%

ER% = qtité trouvée – qtité ajoutée / qtité réelle x100

TR% = qtité trouvée/qtité ajouté x100

NB : l'ER ne doit pas dépasser une valeur précisée (généralement autour de 4%) → sinon Non valide.

4 Fidélité (« Precision » en anglais)

- Définition = **étroitesse d'accord (degré de dispersion) entre une série de mesure obtenue ds cdt° prescrites à partir de prises d'essais multiples provenant d'un même ech homogène** (les résultats trouvés par l'appareil sont **identique entre eux**, mais par forcement exact / valeur de référence)
- La fidélité se réfère aux **erreurs aléatoires** (et non aux erreurs systématiques)
NB : Erreur totale = erreur aléatoire + erreur systématique (aléatoire > systématique)
- **On distingue :**
 - répétabilité
 - fidélité intermédiaire
 - reproductibilité R

4.1 Répétabilité « repeatability »

- Fidélité ds des **cdt° opératoires identique** et ds un **court intervalle de tps**
- Détermination indpdte à partir d'un **même ech**
 - m^ analyte
 - m^équipement
 - m^labo, m^personne
 - courte période de tps

- ⇒vérifier en appliquant **n fois la procédure** sur un **même ech(n>6, généralement 20)** svt au **pt 100%** (sur comprimés réels)

- **Exemple (+ voir exemple moniteur)**
 - résultats 495 505 496 507 498 502 mg PA / comprimé
 - moyenne : 500.5 mg → ER = 0.5/500x100
 - écart type s=4.93 mg TR=505.5/500x100
 - CV%= (s/moy)100=0.98%
- NB : le CV doit être < à une valeur précisée (généralement entre 2 et 5%)

4.2 Fidélité intermédiaire « intermediate précision »

- Variabilité INTRA-labo : jours ≠ , analystes ≠ , équipements ...
- Détermination indpdte à partir d'un même ech
 - ≠ analystes
 - et/ou •≠ équipements
 - et/ou •≠tes périodes de tps

→spécifier les cdt° modifiées

4.3 Reproductibilité « reproductibility »

- variation INTER-labo (études collaboratives)
 - détermination indpdte à partir d'un même ech
 - dans ≠ts labo
 - n > 15
- fidélité exprimée par l'écart type s , CV% (coefft de variation)

5 Intervalle de validité « range »

- **Définition** = intervalle ds lequel il a été démontré que la procédure d'analyse présente une fidélité ,une exactitude et une linéarité satisfaisante
- applicable entre 400 et 600 mg PA/comprimé

6 Limite de détection (pour impuretés)

- **Définition** = + petite qtité d'analyte qui peut être détectée
- rapport s/b=3 =signal de l'analyte / bruit de la ligne de base

7 Limites de quantification « quantification limit »

- **Définition** = qtité la + faible d'analyte qui peut être det de façon qtitative avec une fidélité et une exactitude appropriée
- exactitude tolère une erreur de ±10-15%

8 Stabilité des solutions

- pdt combien de tps peut in garder sol° ? à noter ds protocole
- →vérifier sur T>16H : injecteur automatique
- Fr sol° fraîche /Fr sol° vieille
- Tester stabilité ech pdt au – 16 H
- Faire vieillir sol° pdt 16H que l'on injecte à coté d'une sol° fraîche puis comparer facteurs de réponse

9 Exemple de validation d'une procédure en chromatographie liquide

➤ En chromatographie liquide :

- Qd on veut valider meth , \exists protocole pré établi
- Mais \exists recommandations validées/Inserm
- En routine ,qd on applique 1 méthode d'analyse ,il faut vérifier avant de faire seuil de dosage ,les paramètres chromato càd :
 - la **résolution** vs paire critiques de composé ,
 - le **nbre de plateau théorique** N,
 - la **Tr**
 - **répétabilité** d'injection successives de même sol° (>6 inj)

→ceci permet de vérifier les cdt° opératoire