

Avant-propos

La validation des méthodes analytiques est un problème récurrent dans les laboratoires. Ce polycopier intitulé « Validation Des Méthodes Analytiques » a pour but d'expliquer les objectifs et principes fondamentaux de la validation en présentant les principes de l'assurance qualité dans les laboratoires. Il est assuré pour les étudiants de master I Nutrition et Sciences Des Aliments. Ce cours suppose connues des notions de base des biostatistiques, il porte des notions sur les tests statistiques de comparaison de moyennes, l'incertitude de mesures ainsi que des généralités sur les plans d'expériences. Les Principes et vocabulaire pour la validation des méthodes ont été définis pour évaluer les performances d'une méthode à l'aide de caractéristiques ; la sélectivité, la spécificité, la justesse, la linéarité, la répétabilité, la reproductibilité, robustesse et les limites de détection. Quelques exemples de protocoles pour la validation et la vérification d'une méthode d'analyse en chimie, et en microbiologie sont illustrés dans ce polycopié afin de les exploiter dans les laboratoires de recherches pour la préparation des mémoires de fins de cycles.

Sommaire

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre 1 : Statistiques appliquées à l'optimisation, à la validation analytique et à l'analyse des échantillons (suivant les normes iso).

I.1. Limites de détection et de quantification.....	2
I.2. Incertitude de mesure.....	3
I.3. Capacité de mesure.....	3
I.4. Justesse d'une méthode.....	3
I.5. Spécificité.....	4
1.6. Robustesse.....	4
1.7. Fonction d'étalonnage.....	4
1.8. Sensibilité	5
1.9. Caractéristiques de performance à déterminer selon le type de méthode.....	6

Chapitre II : Les plans d'expériences

II.1. Généralités.....	9
II.2. Modélisation mathématique a priori de la réponse.....	9
II.2.1. Modélisation mathématique.....	9
II.2.2. Le modèle de l'expérimentateur	10
II. 3. Plans factoriels complets à deux niveaux.....	11

II.3.1. Plan à deux facteurs.....	11
II.3.2. Plans factoriels à k facteurs à 2 niveaux	12
II.4. Plans à plusieurs niveaux.....	12
II.4.1. Les table de Taguchi.....	12
II.4.2. Les plans sursaturés	12
II.4.3. Plans complets à trois niveaux	13
II.4.4. Carrés latins.....	13
II.5. Les plans pour surfaces de réponse	13
II.5.1. Les plans composites	13
II.5.2. Les plans de Box-Behnken.....	14
II.6. Les plans de mélanges.....	15
1. La contrainte fondamentale des mélanges	15
2. Représentation géométrique des mélanges	16
3. Emplacement des points expérimentaux	17
4. Modèles mathématiques des mélanges	17
II.7. Les logiciels de plans d'expériences.....	18

Chapitre III : Comparaison de moyennes

III.1. Tests statistiques	20
III.1.1. Test de Student	21
III.1.1.1. Comparaison d'une moyenne observée à une moyenne théorique.....	21
III.1.1.2. Comparaison de deux moyennes observées.....	23

III.1.2. Test Z (ϵ) ou de l'écart réduit.....	26
III.1.2.1. Comparaison d'une moyenne observée à une moyenne théorique.....	26
III.1.2.2. Comparaison de deux moyennes observées.....	28
III.3. Comparaison de deux variances.....	30
III.1. test F de Snedecor.....	30

Chapitre IV : Incertitudes de mesure

IV.1. Concept d'incertitude de mesure	32
IV.2. Présentation d'une mesure avec son incertitude	32
1. L'erreur de mesure aléatoire.....	33
2. L'erreur systématique	34
3. Incertitude type composée.....	34
4. Composition des incertitudes A et B.....	34
IV.3. L'estimation de l'incertitude	35
IV. Les exigences de la norme NF EN ISO 15189.....	36

Chapitre V : Principes et vocabulaire pour la validation des méthodes

V.1. Place de la validation dans la qualité.....	38
V.1.1. Assurance qualité au laboratoire.....	38
V.1.2. Validation et contrôle de qualité de méthodes de mesure.....	39
V.1.2.1. Organiser la validation d'une méthode.....	38
V.1.2.2. Cycle de vie d'une méthode d'analyse.....	40
V.1.2.3. Critères de la validation d'une méthode analytique.....	42
1. Linéarité.....	42

2. Justesse.....	42
3. Fidélité	43
4. Limite de quantification.....	43
5. Exactitude	44
V.1.2.4. Les type de validation.....	45
V.2. Validation par étude inter-laboratoire (norme iso 5725).....	46
V.2.1. Répétabilité et reproductibilité selon la norme NF ISO 5725.....	46

Chapitre VI : La validation de méthodes microbiologiques et chimiques de contrôle des lieux de travail

IV.1. les étapes de la validation	48
➤ Les champignons et les levures.....	48
➤ les bactéries.....	49
IV.1.1. Procédures d'échantillonnage.....	50
IV.1.2. Procédures d'analyse.....	51
IV.1.2.1. Analyses microbiologiques (microflore revivifiables)	51
➤ Air et surfaces.....	50
➤ Les liquides	51
➤ Poussières de moquette et supports apparentés.....	52
IV.1.2.2. Analyses biochimiques (recherche de bio-marqueurs).....	51
➤ ATP.....	51
➤ Endotoxines	52
➤ Ergostérol	52
➤ MVOC.....	52
➤ Mycotoxines.....	52

Chapitre VII : Protocole pour la validation et la vérification d'une méthode d'analyse en : chimie, et en microbiologie.

VII.1. Protocole de validation d'une méthode d'analyse en Chimie.....	54
1. Limite de détection d'une méthode (ldm)	54
1.1. Estimation de la limite de détection d'une méthode (LDM)	54
1.2. Établissement de la limite de détection d'une méthode (LDM)	55
1.2.1 Sur une courte période à l'aide d'échantillons	55
1.2.2. Sur une longue période à l'aide de duplicata.....	56
1.2.3. Méthode de calcul de la limite de détection d'une méthode (LDM)	57
1.3. Méthode de calcul du ratio de conformité (R).....	56
1.3.1. Interprétation de la valeur du ratio de conformité (R)	57
2. Limite de quantification d'une méthode (lqm)	58
3. Limite de linéarité (LL)	59
4. Fidélité.....	59
4.1. Réplicabilité.....	59
4.2 Répétabilité	59
4.3 Reproductibilité.....	60
4.4 Méthode de calcul de la réplicabilité, la répétabilité et la reproductibilité	60
5. Justesse	61
5.1 Méthode de calcul de la justesse	61
6. Sensibilité	62
6.1 Méthode de calcul de la sensibilité	62
7. Pourcentage de récupération	63
7.1 Méthode de calcul de la récupération	63

VII.2. Protocole pour la validation et et/ou la vérification d'une méthode d'analyse en microbiologie.....	64
1. Limite de détection d'une méthode.....	64
2. Limites de quantification d'une méthode.....	64
3. Fidélité.....	65
3.1. Réplicabilité	65
3.2. Répétabilité.....	66
3.3. Reproductibilité	66
3.4. Méthode de calcul de la réplabilité, la répétabilité et la reproductibilité.....	67
4. Pourcentage de récupération.....	67
4.1. Méthode de calcul du pourcentage de récupération.....	67
5. Performance de la méthode.....	68
5.1. Méthode de calcul de la performance..... ;	69
6. Sélectivité de la méthode.....	69
6.1. Méthode de calcul de la sélectivité	70
Références bibliographiques.....	71