

Généralités sur la validation des méthodes d'analyse

II.1. Définition et but de la validation

La validation se définit comme l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver qu'un protocole est suffisamment exact et fiable dans le but d'avoir confiance aux résultats fournis et ceci pour un usage déterminé [42,43]. Ainsi, la validation permet de démontrer que la méthode mise en œuvre par le laboratoire est apte à l'usage prévu.

L'objectif d'une validation de méthode analytique est de garantir que chaque mesure des inconnus est suffisamment proche de la vraie grandeur.

II.2. Paramètres de la validation

Les paramètres de la validation sont : la sélectivité, la spécificité, la justesse, l'exactitude, la linéarité, la fidélité, la robustesse, la limite de détection, la limite de quantification, etc.

Il existe, pour ces paramètres, des définitions très générales qui ne répondent pas nécessairement aux problèmes de clarté et d'universalité. Néanmoins, on a pu retenir quelques définitions acceptables.

II.2.1. La spécificité

La spécificité est la capacité de la méthode à permettre une évaluation non équivoque de l'analyte en présence d'autres composants. Il s'agit de démontrer que la substance analysée au sein de la matrice est bien l'analyte recherché. La spécificité se fonde sur une absence d'interférences.

Selon l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), la spécificité est le stade ultime de la sélectivité [44].

II.2.2. La sélectivité

Selon le Vocabulaire Internationale sur la Métrologie (VIM), la sélectivité se définit comme l'aptitude d'un système de mesure, utilisant une procédure opératoire spécifiée, à fournir des résultats de mesure pour un ou plusieurs mesurandes, qui ne dépendent pas les uns des autres ou de toute autre grandeur existant dans le système en cours de mesurage [45].

II.2.3. La sensibilité

La sensibilité est le rapport de la variation de la réponse instrumentale à la variation de la concentration pour différentes solutions étalons ou pour des ajouts de l'analyte dans une matrice.

II.2.4. La linéarité

C'est la capacité dans un intervalle donné d'obtenir des résultats de dosage directement proportionnels à la concentration ou à la quantité d'analyte dans l'échantillon. La linéarité est également appelée « calibration » en anglais.

II.2.5. La justesse

La justesse est l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir de larges séries d'essais et une valeur de référence acceptée.

II.2.6. La fidélité

La fidélité est l'étroitesse de l'accord entre des séries de mesures obtenues dans des conditions prescrites à partir de prises d'essais multiples provenant d'un même échantillon homogène. La fidélité est la qualité d'un appareillage de mesure dont les erreurs sont faibles [45]. Elle sert à définir la répétabilité de mesure, la fidélité intermédiaire de mesure et la reproductibilité de mesure.

II.2.6.1. La répétabilité

La répétabilité exprime l'étroitesse de l'accord entre les résultats de mesurage successifs du même mesurande; ces mesurages sont effectués dans les mêmes conditions de mesure. Ces conditions sont appelées conditions de répétabilité.

Les conditions de répétabilité exigent un même mode opératoire de mesure, un même observateur, un même équipement de mesure, un même lieu; les répétitions se faisant durant un court intervalle de temps [45].

Cependant, elle exprime la fidélité sous des conditions de répétabilité, c'est à dire des conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai identique dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps [46, 47].

II.2.6.2. La fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire exprime la variabilité intra-laboratoire : des jours différents, des analystes différents, des équipements différents, etc.

Le passage de répétabilité à reproductibilité est ambigu et dépend de la méthode et de l'instrument.

II.2.6.3. La reproductibilité

La reproductibilité est l'étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande; ces mesurages sont effectués en faisant varier les conditions de mesure. Pour qu'une expression de la reproductibilité soit valable, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier, qui peuvent comprendre le principe de mesure, la méthode de mesure, l'observateur, l'instrument de mesure, l'étalon de référence, le lieu, les conditions d'utilisation et le temps.

Par ailleurs, elle est définie comme étant la fidélité sous des conditions de reproductibilité, c'est à dire des conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents [46, 47].

II.2.7. L'exactitude

L'exactitude est l'étroitesse de l'accord entre la valeur trouvée et la valeur acceptée soit comme valeur conventionnellement vraie, soit comme valeur de référence.

Cependant, il existe quelques confusions par rapport à la définition de l'exactitude. Selon l'Organisation Internationale de la Normalisation (ISO), l'exactitude signifie à la fois la justesse et la fidélité [49].

II.2.8. Les limites de détection et de quantification

➤ La limite de détection (LOD)

La limite de détection d'une méthode d'analyse est la plus petite quantité d'analyte qui peut être détectée mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte [45].

➤ La limite de quantification (LOQ)

La limite de quantification est la plus faible quantité d'analyte dans un échantillon qui peut être déterminée quantitativement avec une fidélité et une exactitude appropriée [45].

II.2.9. La robustesse

La robustesse est la capacité du protocole de rester non affectée par des variations faibles mais délibérément introduites dans les paramètres de la méthode; elle fournit une indication sur sa fiabilité dans des conditions normales d'utilisation.

Pour concilier l'étude des paramètres de performance d'une méthode d'essai et l'estimation de l'incertitude de mesure, une commission de la Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutiques (SFSTP) a développé un concept innovant de validation basé sur l'erreur totale et qui est intitulé le profil d'exactitude [48–51].