Sommaire

Introduction générale 3
Présentation du centre (CUAE2TI) 5
1. Historique 5
2. Création et Objectifs 5
3. Interaction du centre avec son entourage 6
4. Organigramme hiérarchique du CUAE2TI 6
5. Matériels et équipements 7
6. Activités et Missions du centre 8
Chapitre 1: Synthèse Bibliographique 9
1.1 Accréditation 9
1.1.1 Définition 9
1.1.1.1 Objectif et contexte de l'accréditation 9
1.1.1.2 Avantages et Garanties de l'accréditation pour un laboratoire d'analyse 9
1.1.2 Référentiel d'accréditation : Norme ISO 17025 10
1.2 Approche de validation analytique par le profil d'exactitude 11
1.2.1 Définition de la validation 12
1.2.2 Cycle de vie d'une méthode analytique 12
1.2.2.1 Sélection d'une méthode 12
1.2.2.2 Développement d'une méthode 13
1.2.2.3 Validation d'une méthode 13
1.2.2.4 Routine 14
1.2.3 Critères de validation d'une méthode 14
1.2.4 Concept de base de validation par l'approche de l'erreur totale 17
1.2.4.1 Introduction 17
1.2.4.2 Etapes de validation analytique basée sur le concept de l'erreur totale 18
1.2.5 Critères de validation selon la stratégie du profil d'exactitude 18
1.2.5.1 Linéarité et fonction de réponse 18
1.2.5.2 Pondération 19
1.2.5.3 Prédiction inverse 19
1.2.5.4 Estimation de justesse et de fidélité 20
1.2.5.4.1 Justesse 20
1.2.5.4.2 Fidélité 21

1.2.5.5 Estimation de l'exactitude 21
1.2.5.6 Calcul des intervalles de tolérance 21
1.2.5.7 Construction du profil d'exactitude 23
1.3 ICP-AES : Spectrométrie d'Emission Optique sur Plasma à couplage inductif 23
1.3.1 Principe 24
1.3.2 Avantages et Inconvénients 25
Chapitre 2: Matériel et méthodes 26
2.1 Présentation de l'ICP-AES utilisé 26
2.2 Appareillage et accessoires requis 27
2.3 Réactifs et étalons 27
2.4 Procédure analytique 28
Chapitre 3: Validation de la méthode du dosage de Fer – Résultats et Discussions 29
3.1 Spécificité et Interférences 29
3.2 Réalisation des gammes de STD d'étalonnage et de validation 31
3.3 Réalisation des étapes du concept de l'erreur totale 32
3.3.1 Fonctions de réponse 32
3.3.2 Génération de différents profils d'exactitude 33
3.3.3 Choix du profil d'exactitude 37
3.3.4 Prédiction inverse 38
3.3.5 Calcul de justesse 38
3.3.6 Calcul de fidélité 39
3.3.7 Calcul de justesse après correction 40
3.3.8 Calcul de fidélité après correction 40
3.3.9 Calcul des Intervalles de Tolérance 41
3.3.10 Profil d'exactitude après correction 41
3.3.11 Limite de quantification 42
Conclusion Générale 43
Références bibliographique 44

Introduction générale

Un laboratoire d'analyse et/ou d'essai est un organisme distinctif et spécial, destiné à produire des résultats de mesure par le biais de méthode analytiques au profit de différents secteurs industriels et socio-professionnels. Ces résultats de mesure constituent des dispositifs décisionnels aux services des décideurs politiques et économiques. Cela justifie donc la difficulté d'exploiter un résultat d'analyse, à bon escient, en absence d'examens préalable de sa performance et de son exactitude.

Dans cet esprit, nombreuses sont les normes et standards, en relation avec la qualité, en particulier la norme ISO/CEI 17025, qui exige à chaque laboratoire, la validation de leurs méthodes analytiques. Cette exigence représente un gage de validation pour confirmer ou infirmer la performance des procédures d'analyse. Le concept de validation est le processus par lequel l'opérateur s'assure que les résultats répondent à un problème particulier de manière appropriée.

A cet effet, une nouvelle commission SFSTP a proposé, en 2003, une nouvelle stratégie globale pour la validation des procédures quantitatives. Cette stratégie consiste à construire un outil de décision graphique simple appelé « profil d'exactitude ». Cet outil repose sur l'utilisation d'un intervalle de tolérance de type « ß-expectation » comme méthodologie statistique. En effet le profil d'exactitude a permis non seulement, de simplifier et de réconcilier les règles de diagnostic et les règles de décision mais aussi, de créer une cohérence entre les objectifs d'une validation et ceux d'une méthode analytique.

Devant cet état de fait, lecentre Universitaire d'Analyse d'Expertise de Transfert de Technologie et d'Incubation(CUAE2TI) a entrepris la mise en placed'un Système de Management de la Qualité selon la norme ISO 17025 dans le cadre de ses activités d'analyses. La réalisation d'une auto-évaluation de conformité avec le référentiel choisi est la première étape de cette démarche afin d'évaluer la performance du système qualité en place et de cibler les points à améliorer pour obtenir l'accréditation. La mise en œuvre de cette démarche met en lumière l'engagement de la Direction à fournir des prestations de qualité afin de satisfaire ses clients.

L'accréditation implique également la maitrise technique des paramètres susceptibles d'affecter la fiabilité des résultats qui sont : la méthode d'analyse, le milieu ambiant, la main d'œuvre, la matière et le matériel.

C’est dans ce contexte que j’interviens au sein de CUAE2TI pour effectuer un stage de Master. La mission qui m’est confié est la validation de méthode réalisée dans le cadre des essais pour lesquels le centre vise l’accréditation.

Parmi les méthodes analytiques les plus utilisées au centre, figure l’ICP-AES (Spectrométrie d’Emission Optique sur Plasma à Couplage Inductif), grâce à sa rapidité de mesure et sa précision. C’est une technique d’analyses multiéléments à fort potentiel, elle offre des résultats avec peu d’interférences, une grande stabilité et une bonne reproductibilité.

Cette technologie a démontré son excellence pour l’analyse des métaux lourds dans des échantillons divers. En effet, la validation de cette méthode est devenue essentiel pour le centre d’analyse afin de s’assurer de la fiabilité de ses résultats exigés par ses clients.

Dans la présente étude, nous avons commencé par une présentation du CUAE2TI et ses activités, ensuite en premierchapitre, nous avons essayé de rapporter l’étude bibliographique dans laquelle figure les différentes notions de l’accréditation et de normalisation. Nous avons également détaillé l’approche de validation analytique et plus précisément celle qui permet la construction du profil d’exactitude. Puis, en deuxième chapitre, nous avons défini le principe de l’ICP-AES.Enfin, nous avons vérifié la spécificité de cette méthode, pour passer par la suite à l’élaboration des plans d’étalonnage et de validation, ce qui nous a permis de choisir le modèle d’étalonnage adéquat auprès de plusieurs modèles générés, pour pouvoir enfin calculer les différents critères de validité de cette méthode.

Présentation du centre(CUAE2TI)

1. Historique

Le centre Universitaire d'Analyse d'Expertise de Transfer de Technologie et d'Incubation a commencé comme un CFR (centre de formation). En 2011 il s'est transformé en un CED (centre d'étude doctorale), sa principale mission était l'assemblage et l'archivage des mémoires du master et des thèses de doctorat. Dans cette période le centre était aménagé dans une salle de cours et des locaux administratifs.

Vers la fin de l'année 2012, le centre d'étude doctorale est devenu un centre d'analyse. Suite à ce changement le centre a subit une transformation et un réaménagement total dans son plan général. Ceci s'est traduit par la réorganisation des locaux pour qu'ils soient aptes, et favorables aux conditions exigées par un laboratoire, à travers l'introduction de réseaux électriques, l'assainissement, l'internet ainsi que l'acquisition des équipements conçus pour l'analyse et l'expertise.

2.Création et Objectifs

Le CUAE2TI est un laboratoire de l'université Ibn Tofail, hébergé dans les locaux de la faculté des sciences. Sa création est décidée suite à des demandes pour la réalisation des essais et des analyses physico-chimiques sollicitées par les différentes parties intéressées tel que les étudiants chercheurs, les professeurs des différents départements de l'université, ainsi que le secteur privé.

Le CUAE2TI a été créé afin d'assurer les objectifs suivants :

- Optimiser les moyens techniques et budgétaires des laboratoires de recherche afin d'assurer un parc d'instrumentation de haut niveau de disciplines très variées.
- Assurer des domaines d'expertise de pointe pour un accompagnement réussi des collaborateurs industriels et institutionnels.
- Se positionner en un futur leader dans les domaines d'analyse, d'expertise et d'incubation.

3. Interaction du centre avec son entourage

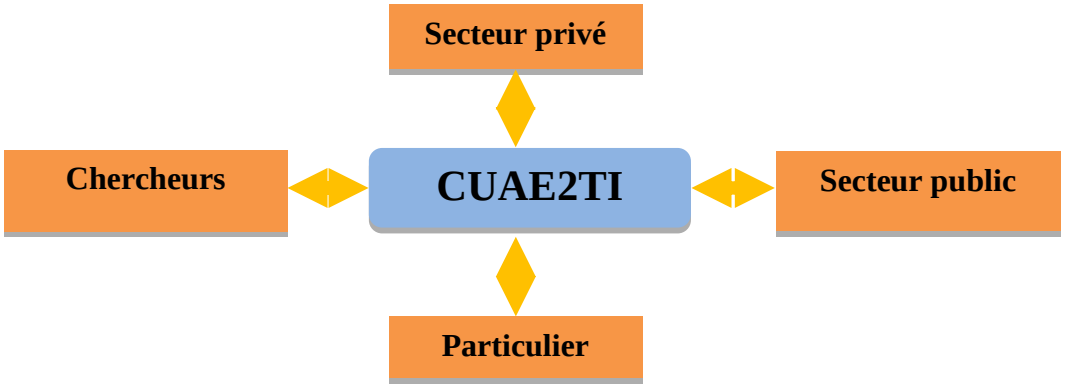

Figure 1 : Présentation des relations du centre

Le CUAE2TI a des relations avec différents acteurs tels que le secteur public et privé, particulier et chercheurs (enseignant et étudiants) comme le montre la figure 1. C'est pour cela que le développement des partenariats du centre devient une obligation ainsi que l'amélioration de la qualité du service, afin de garantir une image de marque qui préserve à la fois les droits des clients et les relations mutuelles établis avec ses partenaires, sans oublier la volonté de rester concurrentiel face à son entourage.

4. Organigramme hiérarchique du CUAE2TI

Le CUAE2TI fonctionne selon un organigramme (figure 2) qui donne une image globale sur la répartition des tâches et missions. Le directeur s'occupe de l'élaboration de différentes stratégies et axes en matière de gestion et orientation du centre en collaboration avec les autres responsables des différents départements dans le but d'assurer une amélioration permanente.

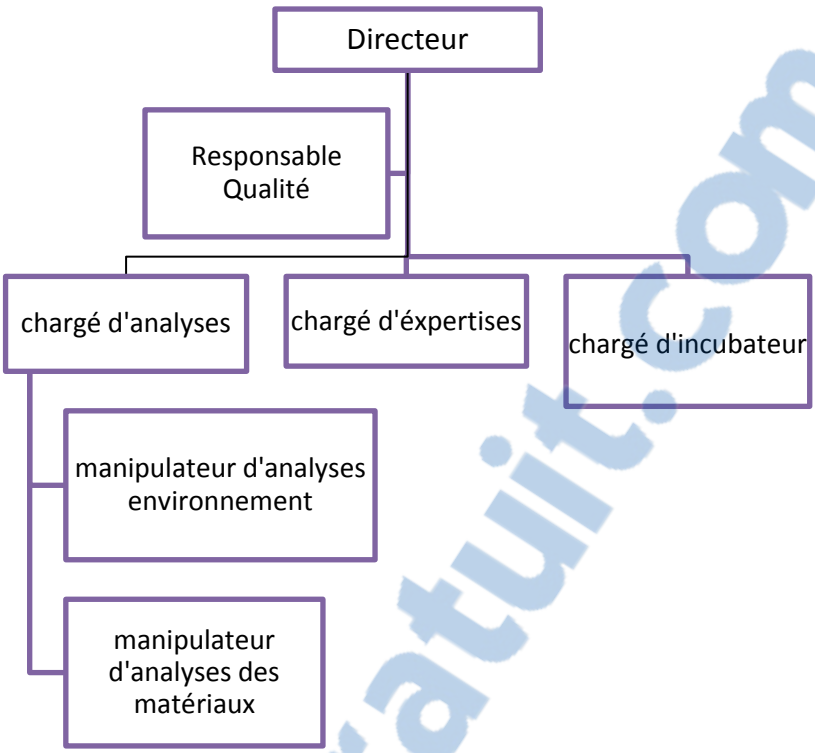

Figure 2 : Organigramme hiérarchique du CUAE2TI

5. Matériels et équipements

Le CUAE2TI met à la disposition de ses clients et bénéficiaires un large panel d'analyses et un parc de matériel et équipements :

- Spectroscopie UV-visible
- Analyseur élémentaire CHNOS
- Diffraction des rayons X sur poudre
- Analyse thermogravimétrique
- Microscope métallographique
- Chromatographie en phase gazeuse
- Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- Spectroscopie d'absorption atomique à flamme
- Spectroscopie d'émission optique

Rapport-Gratuit.com

6. Activités et Missions du centre

Le CUAE2TI propose des formations diversifiées compatible avec la demande du secteur privée et le monde de la recherche scientifique comme cela est illustré dans la figure 3 :

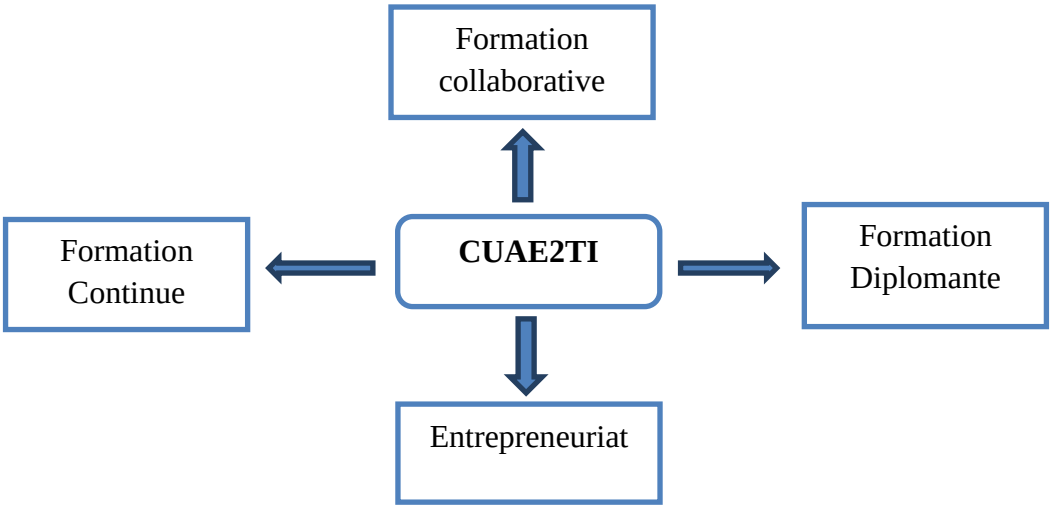

Figure 3 : Les formations offertes par le Centre

Le centre universitaire d'analyse, d'expertise, de transfert de technologie et d'incubateur « CUAE2TI » a été créé par l'université Ibn Tofail, avec comme **mission** :

- Promouvoir l'ouverture de l'université ;
- Renforcer l'interfaçage ;
- Fédérer l'ensemble des activités d'analyse, d'expertise et prestation ;
- Valoriser les travaux de recherche ;
- Diversifier les ressources ;
- Créer une plateforme d'échange et un outil transversal au service des différentes parties prenantes

Répondre à des besoins diversifiés des organismes de recherche et d'industrie :

- Analyse physicochimique et biologique.

- Contrôle de qualité, organisation du circuit d'analyses et d'essais inter-laboratoires avec des organismes de renommée.

- Encadrement et accompagnement des stagiaires.

- Participation aux appels à projets de recherche.

- Organisation de rencontres entre industriels et laboratoires de recherche et d'analyse.

Chapitre 1:Synthèse Bibliographique

Chaque laboratoire qui utilise des méthodes d'analyse doit être en mesure de générer des résultats avec le maximum possible d'exactitude et de fiabilité lors de l'exécution de l'analyse pour un client ou à des fins réglementaires**,** il est donc plus approprié pour un laboratoire de se faire accréditer s'il veut donner la confiance nécessaire à la réalisation de ses analyses.

1.1 Accréditation

1.1.1 Définition

L'accréditation est la reconnaissance formelle de la compétence d'un laboratoire pour effectuer des analyses spécifiques. Elle garantit le respect des conditions d'impartialité, d'indépendance et de confidentialité des analyses effectuées. Elle est basée sur la mise en place d'un système de Management de la Qualité, destiné à apporter la preuve de la compétence du laboratoire au moyen de procédures et d'enregistrements formalisés, et à donner la confiance appropriée à ses clients. [1]

1.1.1.1 Objectif et contexte de l'accréditation

L'accréditation a pour objet d'attester que les organismes sont techniquement capables de:

- réaliser des analyses, des étalonnages ou des essais ;
- procéder à des actions d'inspections ;
- procéder à des actions de certification (de produits, services, systèmes qualité ou de personnels),

Dans ce contexte, il est essentiel de promouvoir la confiance des acteurs économiques, mais aussi des autorités en charge du contrôle des marchés, vis-à-vis des documents émis par les organismes d'évaluation de la conformité (laboratoires, organismes d'inspection et organismes de certification); ces documents deviennent alors de véritables passeports techniques associés à un produit ou à un service. [1]

1.1.1.2 Avantages et Garanties de l'accréditation pour un laboratoire d'analyse

➢ **Avantages**

- **Un repère en matière de performance**

L'accréditation profite aux laboratoires en leur permettant de déterminer s'ils effectuent leurs travaux de façon correcte et selon des normes appropriées, en plus de leur fournir une norme

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

pour maintenir le niveau de compétence qu'ils ont atteint et surtout de l'améliorer en continue. [3]

- **Un atout sur le plan marketing**

Pour les organismes d'essai, d'étalonnage et de mesure, l'accréditation constitue un outil efficace de marketing et un passeport lorsqu'il s'agit pour eux de faire des offres aux contractants qui requièrent les services de laboratoires évalués par un tiers indépendant.

Sur le plan national et international, l'accréditation d'un laboratoire est considérée comme la preuve prestigieuse et fiable de sa compétence technique. [3]

- **Garanties**

- Les résultats d'essais, d'analyses sont obtenus selon des méthodes validées et des procédures conformes à des référentiels définis, ce qui permet de comparer avec d'autres valeurs obtenues par d'autres laboratoires.
- Les personnes sont compétentes pour réaliser les essais, analyses, effectuer les calculs d'incertitudes, émettre des avis de conformités…
- Les moyens (équipements raccordés, locaux …) sont adaptés aux essais et aux analyses réalisées,
- L'organisation du laboratoire est conforme à un modèle d'assurance qualité décrit dans la norme ISO 17025 (maîtrise de la documentation, maîtrise des travaux non conformes, revue de contrat, gestion des réclamations, processus d'amélioration continue, audit interne, revue de direction …) [3]

Les organismes d'accréditation chargés de reconnaître la compétence des laboratoires utiliseront la norme ISO/IEC 17025 comme base de leur accréditation.

1.1.2 Référentiel d'accréditation : Norme ISO 17025

Le référentiel ISO 17025 est un outil pour la mise en place et l'amélioration d'activités des laboratoires. Elle contient l'ensemble des exigences que les laboratoires doivent respecter pour démontrer à leurs clients et aux autorités réglementaires qu'ils appliquent un système de management leur permettant de maîtriser entièrement leurs processus, qu'ils ont la compétence technique et sont aptes à produire des résultats techniquement valides. [2]

La norme ISO 17025 comprend deux grandes parties:

1. Une partie qui intègre les exigences relatives au management du laboratoire. Cette partie est souvent appelée « partie qualité »;

2. Une partie « Exigences techniques » qui correspond au cœur de métier. C'est sur elle que se fonde l'aptitude technique du laboratoire.

D'une manière générale le texte de l'**ISO 17025** intègre toutes les prescriptions de l'**ISO 9001** qui sont pertinentes au domaine d'application des prestations d'essais et d'étalonnages couvertes par le système de management du laboratoire.

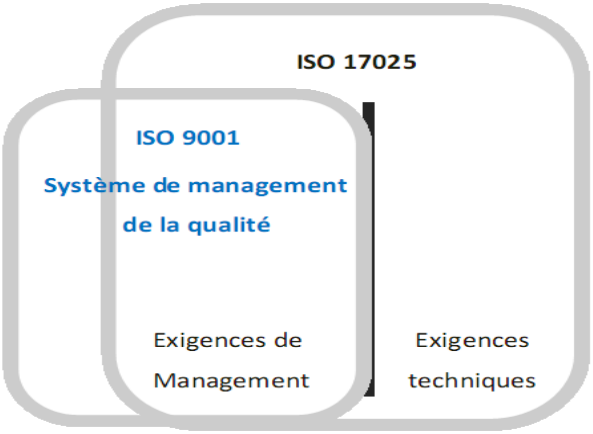

Figure 4: Point commun entre la norme ISO 17025 et la norme ISO 9001

L'usage de cette Norme internationale favorise la collaboration entre laboratoires et autres organismes et contribue à l'échange d'informations et d'expérience, ainsi qu'à l'harmonisation des normes et procédures. L'acceptation des résultats d'un pays à l'autre s'en trouve facilitée si les laboratoires se conforment à la présente Norme internationale.

La Norme ISO 17025 s'applique à toutes les organisations, quels que soient leurs effectifs, ayant des activités de laboratoire (essai et étalonnage). La présente Norme internationale peut également être utilisée par les clients des laboratoires, les autorités réglementaires, les organisations et systèmes utilisant l'évaluation par des pairs, les organismes d'accréditation et d'autres, pour confirmer ou reconnaître la compétence des laboratoires. [2]

1.2 Approche de validation analytique par le profil d'exactitude

Une méthode analytique est définie comme un moyen visant à exprimer concrètement un besoin donné, ou bien répondre à un problème bien exprimé. Généralement, deux types de méthodes d'analyse peuvent être distinguées ; les méthodes quantitative et les méthodes qualitatives. Ces dernières peuvent se résumer par leur capacité à fournir des résultats fiables en quantifiant chacune des quantités présentes dans un échantillon qu'on cherche à analyser. [4]

1.2.1 Définition de la validation

La validation d'une méthode analytique est l'opération par laquelle on s'assure que ses résultats répondent au problème de manière satisfaisante pour l'utilisateur.

La norme **ISO 17025** définit la validation comme étant : « la confirmation par examen et fourniture de preuves réelles du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies ».[6]

Une définition générale est proposée par la **FDA** : « valider une méthode consiste à démontrer, avec un degré de confiance élevé et sous une forme documentée, que la méthode permet d'obtenir un résultat analytique qui atteint les spécifications définie à l'avance. [5]

1.2.2 Cycle de vie d'une méthode analytique

La mise en œuvre d'une procédure de dosage se décompose essentiellement en quatre phases successives :

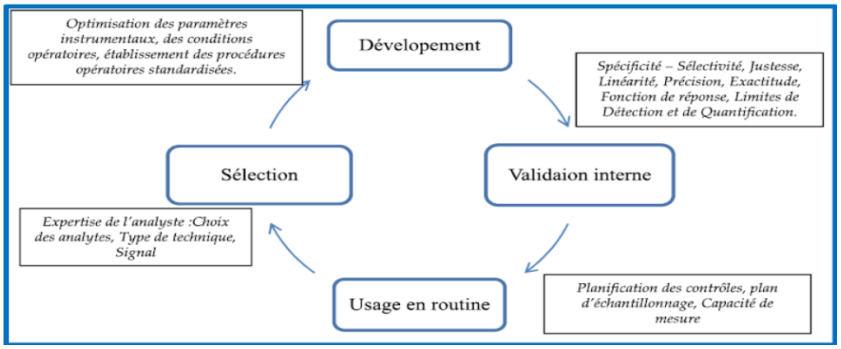

Figure5 : cycle de vie d'une méthode analytique

1.2.2.1 Sélection d'une méthode

Avant de procéder à la validation analytique, il faut dans un premier lieu choisir la méthode analytique qu'il faut valider. En effet le choix de la méthode est le véritable point de départ de la validation. [4]

La sélection de la méthode peut s'effectuer selon :

- Le besoin
- La nature de l'échantillon
- Le cout de l'analyse
- Le temps de l'analyse
- L'exactitude de la méthode
- La sensibilité et la limite de détection

1.2.2.2 Développement d'une méthode

Après avoir s'être assuré du choix de la méthode et de la capacité de sa mise en œuvre, le laboratoire passe à la phase de développement. Le développement d'une méthode pourrait se faire au moyen d'un plan d'expériences (dans le cas d'une optimisation multi-variée), ou non (dans le cas d'une optimisation uni-variée). [4]

Les plans d'expériences constituent une alternative puissante des méthodes classiques uni-variées d'optimisation. Ils permettent de fournir à l'analyste un maximum d'informations pertinentes au moyen d'un nombre restreint d'essais.

1.2.2.3 Validation d'une méthode

La validation est l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver que le protocole est suffisamment exacte et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé. [4]

Généralement, deux types de validation peuvent être mis en œuvre, la validation intra-laboratoire (validation en interne) et la validation inter-laboratoire (validation en externe). La première est universelle et requise pour toutes les méthodes, alors que la seconde est définie comme un ensemble d'essais effectués momentanément dans différents laboratoires représentatifs de la population de laboratoire susceptibles d'utiliser la méthode en routine.

→ **Approches de la validation analytique**

De nombreuses approches ont été conçues pour valider les procédures analytiques :

- **Approches classiques** (dites aussi approches de critères) fondées sur les tests d'hypothèses, utilisent séparément les deux erreurs, aléatoire (fidélité) et systématique (justesse) pour la prise d'une décision. On retrouve trois types à savoir, approche descriptive, approche de différence et approche d'équivalence.

  Cependant ces approches conventionnelles présentent quelques problèmes que la pratique a pu mettre en évidence tel que l'utilisation inadéquate des statistiques, manque de souplesse et généralisation, évaluation séparée de la justesse et de la fidélité ne contrôle pas le risque fournisseur et client…
- **Approche** basée sur le concept de **l'erreur totale** proposant un outil graphique de prise de décision à la fois pratique et visuel, nommé **profil d'exactitude.** cette approche combine les deux erreurs aléatoire et systématique et présente plusieurs avantages par rapport aux approches classiques. Parmi ses avantages :

- Elle permet non seulement de simplifier l'approche de validation d'une procédure mais aussi l'estimation de l'incertitude de mesure sur la base des données de validation ;
- Elle permet de générer différents modèles d'étalonnage et possibilité de choisir le plus adéquat pour calculer, par la prédiction inverse, la concentration en retour ;
- Elle est considérée comme une approche globale qui peut être appliquée quel que soit le domaine d'activité et la matrice étudiée.

1.2.2.4 Routine

Cette phase inclut le plus souvent une validation en routine et parfois une validation partielle ou une revalidation. [4]

1.2.3 Critères de validation d'une méthode

Chaque méthode d'analyse possède un certain nombre de propriétés caractéristiques, des critères qui qualifient les performances de la méthode sous l'objectif d'obtenir des résultats pertinentes au moindre cout.

- **Spécificité/sélectivité** : la spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'évaluation univoque de la substance à analyser, en présence de composés susceptibles de l'accompagner. Donc une procédure est dite **spécifique** lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser. Ces deux critères sont surtout qualitatifs et ne pourront pas être calculés. [8]
- **Linéarité:** la linéarité d'une procédure analytique est sa capacité à l'intérieur de l'intervalle de dosage, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration en substance présente dans l'échantillon. Néanmoins il faut bien déterminer le domaine de linéarité de la méthode pour l'analyte considéré. [8]
- **Fonction de réponse**(fonction d'étalonnage) : la fonction de réponse d'une procédure d'analyse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existant entre la réponse (signale) et la concentration (quantité) en substance à analyser. Cette fonction de réponse peut être linéaire (droite) comme il peut ne pas être linéaire. Ce dernier cas liés notamment à certain système de détection ou à l'étendu de l'intervalle de dosage. [8]
- **Intervalle de mesure:** l'intervalle de mesure d'une procédure analytique est l'intervalle (limites inferieurs et supérieur comprises) de concentration (quantité) de la substance à analyser dans un échantillon sur lequel il a été démontré que la procédure possède une fidélité, une exactitude et une linéarité appropriées. [8]

- **Justesse:** exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultat d'essais et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnelle vraie, ou bien valeur de référence acceptée. La mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de recouvrement et de biais relatif ou absolu (erreur systématique). [8]
- **Fidélité :**exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesure provenant de multiple prise d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. La fidélité fournit une indication sur les erreurs aléatoires. [8]

La fidélité peut être estimée en trois niveaux :

- **Répétabilité** : conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par même méthode, sur des individus d'essais identiques, dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps.
- **Fidélité intermédiaire** : conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essais identiques,dans le même laboratoire, avec différents opérateurs, utilise des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné.

La répétabilité et la fidélité intermédiaire sont établies au moyen d'une étude intra-laboratoire.

- **Reproductibilité** : conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essais identiques, dans différents laboratoires et avec différents opérateurs en utilisant des équipements différents.

- **Exactitude** : l'exactitude correspond au degré de concordance entre la valeur de référence ou la valeur considéré comme véritable par convention et la valeur obtenue. l'exactitude présente l'erreur totale liée au résultat car l'étroitesse de l'accord ainsi observéest la résultante des erreurs aléatoires et systématiques. [8]

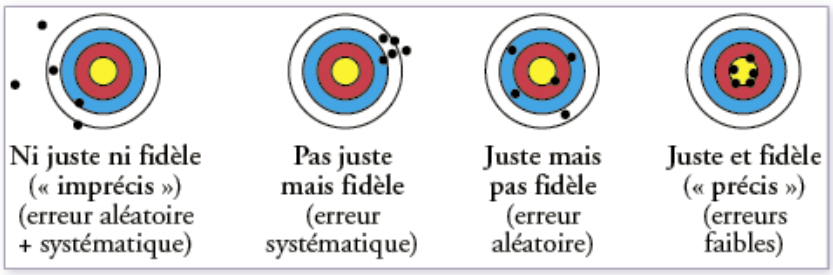

Figure6 : présentation de justesse et de fidélité (exactitude)

- **Limite de détection** : la limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, sans forcément être quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimental décrites de la procédure. Notons que le signal (Y_{ld}) correspondant à la limite de détection est donné généralement par la formule suivante : [8]

$$\mathbf{Yl_d = \bar{Y}_{Bl} + K * S_{BL}} \quad \textbf{(Eq.1)}$$

Avec :

- $\bar{Y}_{Bl}$: la moyenne des mesures de blanc ;
- S_{Bl} : écart-type des mesures de blanc ;
- **K :** constante ;

Ainsi la limite de détection X_{ld} est obtenue sous la forme :

$$\mathbf{X_{ld} = K * \frac{Sbl}{a1}} \qquad \textbf{(Eq.2)}$$

Avec :

- a1 : la pente de la droite d'étalonnage

- **Limite de quantification** : la limite de quantificationou limite de dosage est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrite avec une exactitude (fidélité +justesse) définie. La limite de quantification n'a de sens que si son exactitude a été démontrée. Elle a été obtenue sous la forme : [8]

$$\mathbf{LQ = \frac{100}{30} * LD = 3.33 * LD} \qquad \textbf{(Eq.3)}$$

→ La limite de quantification est plus pertinente que la limite de détection, cette dernière étant par convention le 1/3 de la limite de quantification. Il existe plusieurs approches permettant d'estimer la limite de quantification :

- Méthode graphique (dites de bruit de fond)
- Méthode par détermination sur blanc
- Méthode par la courbe d'étalonnage
- Méthode de la norme XP-T90
- Méthode de l'erreur totale

- **Robustesse** : la robustesse d'une méthode analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des modifications faibles, délibérées de facteurs associés à la procédure. Elle donne une indication de la fiabilité de la procédure dans les conditions

normales d'application. Cette propriété est bien intéressante si plusieurs opérateurs doivent intervenir pour réaliser une même série d'analyses ou si l'on ne dispose que d'opérateurs peu expérimentés. [8]

- **Sensibilité** : elle est définit comme étant la capacité d'une procédure analytique, à enregistrer de faible variation de concentration. C'est-à-dire une faible variation de la quantité d'analyte entraine une variation significative de la réponse. [8]

1.2.4 Concept de base de validation par l'approche de l'erreur totale

1.2.4.1 Introduction

L'approche proposée est le « profil d'exactitude », ce dernier a l'avantage de proposer une méthode d'interprétation graphique très simple et visuelle qui ne s'embarrasse pas de tests statistiques toujours délicats à décrypter. Son objectif est de servir les analystes plutôt que de les transformer en statisticiens. Cette approche est universelle et s'applique à toutes les méthodes de mesure.

Le profil d'exactitude est une approche relativement nouvelle déjà standardisée dans la norme Afnor NF V03-110 qui a l'avantage d'associer les deux éléments fondamentaux de la validation « justesse et fidélité » au résultat final d'une mesure, et par conséquent de tenir compte de l'erreur totale de mesure (erreur systématique + erreur aléatoire).

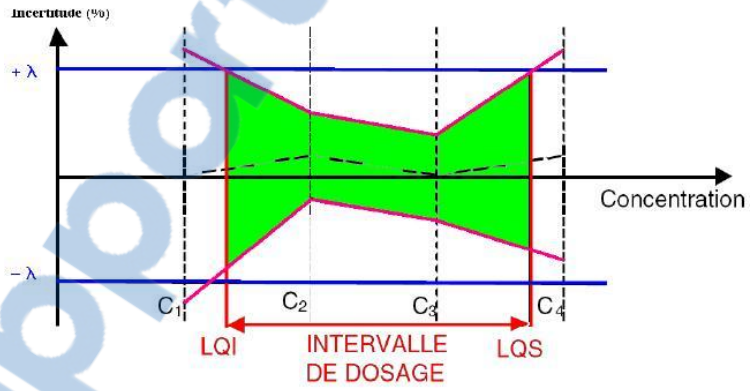

Figure7 : Illustration du profil d'exactitude comme outil de décision

Le profil d'exactitude construit à partir des intervalles de tolérance permet donc, comme illustré dans la figure ci-dessus, de décider de la capacité ou non d'une méthode analytique à fournir des résultats dans les limites d'acceptation. La zone verte montre l'intervalle de dosage dans lequel la procédure est capable de quantifier avec une exactitude connue et un risque fixé par l'analyste. Dans ces conditions, si l'analyste est prêt à assumer par exemple un risque de 5%, il pourra au terme de la validation de sa procédure garantir de 95 fois sur 100

Rapport-Gratuit.com

les futures mesures fournies par celle-ci seront comprises dans les limites d'acceptation fixées en fonction des contraintes du secteur d'activité (1% ou 2% sur les matières premières, 5% sur les spécialités pharmaceutique, 15% en bio-analyse, environnement, etc…). [8]

1.2.4.2 Etapes de validation analytique basée sur le concept de l'erreur totale

D'un point de vue pratique, cette approche de validation peut se résumer aux étapes suivantes :

- Réalisation des expériences sur deux gammes :
  - Une gamme de standards d'étalonnage (Echantillons de concentrations connues) ;
  - Une gamme de standards de validation (Echantillons reconstitués dans la matrice) ;
- Alignement des observations, (si pour un niveau de concentration, les quantités introduites ne sont pas identiques pour toutes les séries) ;
- Sélection des limites d'acceptation en fonction des contraintes du secteur d'activité ;
- Choix du modèle adéquat après génération de plusieurs modèles d'étalonnage ;
- Calcul des concentrations en retour à partir du modèle sélectionné par prédiction inverse ;
- Calcul de la justesse à chaque niveau de concentration ;
- Calcul de la fidélité à chaque niveau de concentration ;
- Calcul des intervalles de tolérance bilatéraux pour chaque niveau de concentration ;
- Etablissement de profile d'exactitude ou d'incertitude. [6]

1.2.5 Critères de validation selon la stratégie du profil d'exactitude

1.2.5.1 Linéarité et fonction de réponse

Une fois les expériences réalisées et les données collectées, il convient tout d'abord de déterminer, sur la base des standards d'étalonnage (SE), la relation entre la réponse (signale ou réponse de l'instrument) Y et la quantité (concentration) X. Cette relation se caractérise à l'aide d'une fonction qui doit être strictement monotone (strictement croissante ou décroissante) sur l'intervalle de dosage envisagé. [10]

Différentes fonctions de réponse peuvent être envisagées lors de la validation de la méthode, comme illustré dans le 'tableau' ci-dessous. Le choix dépend du type de méthode (méthode physico-chimique, bio-analytique, …), ainsi les transformations mathématique pourraient être appliquée à la concentration X et la réponse Y.

Type	Equation	Paramètres
Droite passant par l'origine	Y = a Z	A
Droite linéaire	Y = a Z + b	a, b
Fonction quadratique	$Y = a Z^2 + bZ + c$	a, b, c
Transformation logarithmique	Ln (Y) = α Ln (Z) +β	α, β
Transformation racine carrée	$\sqrt{Y} = \delta\sqrt{Z} + \gamma$	δ, γ

Tableau1: Exemples de fonctions de réponse

1.2.5.2 Pondération

Il est possible que les transformations mathématiques règlent le problème de normalité. Dans ce cas, seules les différences en exactitude obtenues entre les différentes transformations permettront de décider de l'adéquation de la transformation. Cette approche consiste à pondérer chaque terme de la fonction de vraisemblance par un poids w qui habituellement est une fonction croissante du niveau de concentration correspondant. [9]

1.2.5.3 Prédiction inverse

On désigne par prédiction inverse le calcul des concentrations en retour par la fonction de réponse. Il est préférable de s'assurer qu'au sein d'un niveau de concentration, les concentrations sont toutes identiques. Si ce n'est pas le cas, il vaut mieux alors les aligner. Les différentes prédictions inverses, selon les modèles de régression sont illustrées dans le tableau N°2 : [9]

Type de fonction de réponse	Equation	Concentration calcule
Droite passant par l'origine	y= a Z	$Z_{cal} = \frac{Y}{a}$
Droite linéaire	Y = a Z + b	$Z_{cal} = \frac{Y-b}{a}$
Fonction quadratique	$Y = a Z^2 + bZ + c$	$Z_{cal} = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4a(c-Y)}}{2a}$
Transformation logarithmique	Ln (Y) = α Ln (Z) +β	$Z_{cal} = e^{\frac{\ln(Y)-\beta}{\alpha}}$
Transformation racine carrée	$\sqrt{Y} = \delta\sqrt{Z} + \gamma$	$Z_{cal} = \left(\frac{\sqrt{Y}-\gamma}{\delta}\right)^2$

Tableau2 : exemples des prédictions inverse des concentrations introduites X selon les fonctions de réponse

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

1.2.5.4 Estimation de justesse et de fidélité

- **Modèle**

La justesse et la fidélité sont les deux propriétés intrinsèques d'une méthode d'analyse. Leur estimation s'effectue avec les concentrations calculées provenant des standards de validation. Cette estimation se réalise dans le cas d'une ANOVA équilibrée à un seul facteur à chacun des j niveaux considérés à l'aide du modèle statistique suivant :

$$\boldsymbol{Xij = \mu j + bi + eik} \qquad \textbf{(Eq.4)}$$

Avec :

- X_{ij} : mesure de la $k_j^{éme}$ répétition
- I : nombre de jour
- μ : moyenne générale inconnu
- bi : effet aléatoire (jour ou série)
- e_{ik} : terme d'erreur

1.2.5.4.1 Justesse

La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques de la procédure analytique. Elle peut s'exprimer de différentes façons. Les trois paramètres présentés dans le tableau ci-dessous, mesurent en réalité des défauts de justesse.

Les paramètres de la justesse	Equation
Biais absolu	$B_{iais} = Z_j - X_j$
Biais relatif	$B_{iais} = \frac{\lvert z\,j - xj \rvert}{xj} * 100$
Taux de recouvrement ou de récupération	$R_j(\%) = \frac{z\,j}{xj} * 100$

Tableau3 : paramètres de justesse

Avec :

Xj : La valeur de référence d'un échantillon (concentration introduite) ;

Zj : est la moyenne de mesurages répétés sur ce même échantillon (concentration calculée).

Si la valeur obtenue du biais absolu ou relatif est négative, cela signifie que la méthode sous-estime la concentration, par contre une fois une valeur positive est obtenue dans ce cas la méthode surestime la concentration. Cependant le taux de recouvrement est plus parlant car la comparaison doit se faire par rapport à 100%. [7]

1.2.5.4.2 Fidélité

La fidélité représente les erreurs dues au hasard ou les erreurs aléatoires. Elle a été estimée en calculant la répétabilité et la fidélité intermédiaire à chaque niveau de concentration. Les équations sont présentées ci-contre :

- L'écart-type de répétabilité, noté S_r ;
- L'écart-type inter-séries, noté S_b;
- L'écart-type de fidélité intermédiaire $\boldsymbol{Sr = \sqrt{Sb^2 + Sr^2}}$**(Eq.5)**
- Coefficient de variation de la répétabilité$\boldsymbol{CVr = \frac{Sr}{Z} * 100}$**(Eq.6)**
- Coefficient de variation de la fidélité intermédiaire$\boldsymbol{CVfi = \frac{Sfi}{Z} * 100}$**(Eq.7)**

Avec Z la moyenne générale d'un niveau de concentration. [7]

1.2.5.5 Estimation de l'exactitude

L'exactitude d'un résultat exprime l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, appelée aussi valeur conventionnelle vraie :

Exactitude = X –μ(Eq.8)

Exactitude % = $\boldsymbol{\frac{(X-\mu)}{\mu}}$***100 (Eq.9)**

Exactitude =I biaisI + fidélité intermédiaire = erreur totale

1.2.5.6 Calcul des intervalles de tolérance

L'intervalle de tolérance de type ß-expectation est une approche statistique qui utilise l'erreur totale déterminée expérimentalement en se basant sur des mesures répétées plusieurs fois et réalisées dans différent jours. Ces intervalles de tolérance une fois calculés pour une probabilité ß, ils traduisent la proportion (ß) des futures mesures incluses dans les limites d'acceptabilité définie à priori, c'est-à-dire : [10]

$$\boldsymbol{Ezj, Sx\{P[X - \mu < \lambda]Zj, Sfi\} > ß}\textbf{(Eq.10)}$$

Selon Mee, l'intervalle de tolérance doit être de la forme suivante :

$$\boldsymbol{Zj \pm K * Sfi} \qquad \textbf{(Eq.11)}$$

Ces intervalles peuvent aussi être exprimés en terme relative :

$$\boldsymbol{B}(\%) \pm \boldsymbol{K * CVfi} \qquad \textbf{(Eq.12)}$$

L'intervalle de tolérance est donc un moyen statistique commode d'exprimer l'erreur totale puisqu'il combine simultanément les erreurs aléatoires et systématiques. Ils sont construits sur la base de la moyenne et l'écart-type de la fidélité intermédiaire d'un produit selon la formule suivante :

$$\left(Z_j - Q_t\left(\nu ; \frac{1+ß}{2}\right)\sqrt{1+\frac{1}{npBj^2}}\, Sfij \,; Zj + Qt\left(\nu ; \frac{1+ß}{2}\right)\sqrt{1+\frac{1}{npBj^2}}\, Sfij\right) \textbf{(Eq.13)}$$

Avec :

- $Q_t\left(\nu ; \frac{1+ß}{2}\right)\sqrt{1+\frac{1}{npBj^2}}$ **= K :** est le quantile de la distribution t de student
- **ν :** degré de liberté ;
- **n :**nombre de répétition ;
- **p** : nombre de série ;
- **i** : indice de répétition ;
- **j** : indice de groupe ;
- S_{fi} : écart-type de la fidélité intermédiaire ;
- Z_j : la moyenne estimée des concentrations.

Si on remplace la valeur de la moyenne estimée des concentrations par le biais relatif estimé de la méthode d'analyse, et l'écart-type par le coefficient de variation, les bornes supérieure et inférieure de l'intervalle de tolérance sont données par les deux formules suivantes :

$$L_j = B\% - Q_t\left(\nu ; \frac{1+ß}{2}\right)\sqrt{1+\frac{1}{npBj^2}}\, CVfij \quad \textbf{(Eq.14)}$$

$$U_j = B\% + Q_t\left(\nu ; \frac{1+ß}{2}\right)\sqrt{1+\frac{1}{npBj^2}}\, CVfij \textbf{(Eq.15)}$$

Avec :

$$B_j = \sqrt{\frac{Rj+1}{nRj+1}} \quad \textbf{(Eq.16)}$$

$$R_j = \frac{S^2B,j}{S^2w,j} \quad \textbf{(Eq.17)}$$

$$\nu = \frac{(R+1)^2}{\frac{(R+\frac{1}{n})^2}{p-1}+\frac{1-\frac{1}{n}}{np}} \text{(Eq.18)}$$

- S^2_B : variance intergroupe
- S^2_w : variance intra-groupe

1.2.5.7 Construction du profil d'exactitude

Le profil d'exactitude peut être construit de différentes façons, en fonction du type de données traité. Il s'obtient également en reliant d'une part les bornes Lj entre elles et d'autre part les bornes Uj entre elles comme dans la figure ci-dessous :

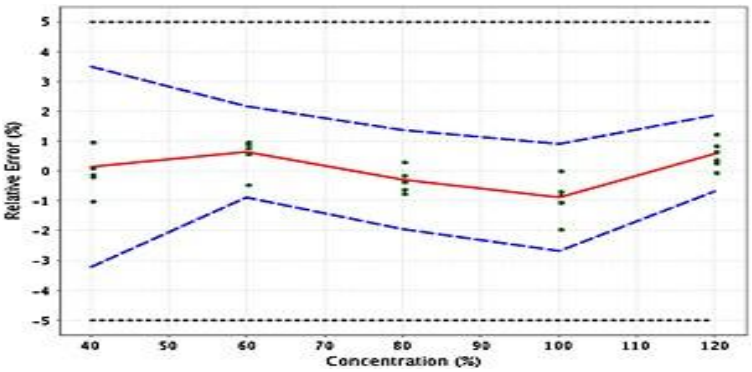

Figure 8 : Exemple du profil d'exactitude

Comme il est illustré par la figure n°8, sur le même graphique il a été démontré l'erreur relatif en fonction de la concentration, les deux limites de tolérance et d'acceptation.

La méthode peut être considérée comme exacte (valide) au niveau de confiance ß à un niveau de concentration, si l'intervalle de tolérance est inclus dans les limites [-λ , +λ] définies a priori en fonction des objectifs de la méthode. [6]

1.3 ICP-AES : Spectrométrie d'Emission Optique sur Plasma à couplage inductif

Pour connaître les quantités maximales acceptables de métaux qu'une matrice peut contenir, nous nous sommes entre autres appuyés sur un document de la société Perkin Elmer, une société de techniques avancées multinationale américaine, concentrée dans les domaines suivants : la Vie et les Sciences Analytiques, l'Optoélectronique et les Sciences Liquides. La division PerkinElmer's Life and Analytical Sciences développe et produit dans les domaines de la recherche de molécules biologiques des outils de mesures chimiques et environnementales, d'imagerie médicale, d'instruments et des réactifs pour le dépistage génétique.

L’ICP-AES est une technique basée sur le couplage d’une torche à plasma et d’un spectromètre d’émission atomique. C’est une technique d’analyse qui est de plus en plus répandue dans les laboratoires d’analyses. Elle tend à remplacer les spectromètres d’absorption atomique. Elle est utilisée pour la détermination de la composition chimique élémentaire d’un élément.

Cette technique permet l'analyse d'élément tant à l'état de traces qu'à des concentrations élevées, elle est utilisée aussi bien pour la recherche, pour le contrôle de production, que pour l'analyse environnementale. L'ICP est aujourd'hui très utilisée pour le contrôle de métaux lourds dans les préparations pharmaceutiques, des métaux d'usure dans les huiles usées, dans des terres rares ou encore dans les hydrocarbures. L'émission couplée par plasma induit est également la technique de référence pour le contrôle en métaux lourds des eaux de rejet et de ruissellement, ou dans les eaux de consommation. [14]

1.3.1 Principe

La méthode consiste à ioniser l'échantillon en l'injectant dans un plasma d'argon, ou parfois d'hélium, c'est-à-dire que les atomes de la matière à analyser sont transformés en ions par une sorte de flamme extrêmement chaude : jusqu'à 8 000 K. L'échantillon pénètre généralement dans le plasma sous une forme condensée (liquide ou solide), et doit donc subir les changements d'état suivants : fusion (pour les solides), vaporisation, ionisation. L'introduction a lieu au centre du plasma, parallèlement au flux de gaz plasmagène.

Cette technique d'analyse repose sur le principe de l'émission atomique. Un atome possède un certain nombre de niveaux d'énergie. Quand on l'excite, un ou plusieurs électrons quittent leur orbitale d'état fondamental pour migrer sur une orbitale plus éloignée du noyau et ayant un niveau d'énergie plus important. Cependant, l'atome est moins stable dans son état excité, il tend donc à revenir à un état d'équilibre plus stable en libérant de l'énergie sous forme de rayonnements électromagnétiques : les photons, qui seront analysés par un ou plusieurs monochromateurs ou par un réseau polychromateur. La lumière émise par l’élément recherché est alors détectée et mesurée. [11]

L'échantillon doit être introduit dans le plasma sous une forme finement divisée, car les puissances utilisées (généralement inférieures à 2 000 W de puissance incidente) ne permettent pas de traiter des particules de taille supérieure au micromètre durant leur temps de résidence au sein du plasma ; si l'on veut analyser un solide, il faut donc d'abord le transformer en une suspension de fines particules, portées par un courant de gaz plasmagène. [11]

1.3.2 Avantages et Inconvénients

Les trois grands **avantages** de la torche à plasma sont :

- Analyse rapide de la quasi-totalité des éléments du tableau périodique ;
- Limite de détection extrêmement basse ;
- Possibilité de quantifier des ratios isotopiques (voir Isotope), utilisés par exemple dans la géolocalisation chimique, lors de couplage par spectrométrie de masse haute résolution.

Les principaux **inconvénients** :

- Son prix : que ce soit le prix à l'achat ou le prix de l'analyse elle-même (grande quantité de gaz utilisé à chaque analyse) ;
- Les éléments du tableau périodique non analysables comme l'hydrogène, les gaz rares et d'autres éléments difficiles à mettre en solution (carbone, oxygène, azote, etc.) ouextrêmement instables ou volatils (comme le mercure qui possède entre autres un énorme effet mémoire) ;
- La préparation, qui peut être délicate : l'échantillon doit se présenter sous forme liquide même si certains dispositifs pour l'utilisation directe de solide très homogène existent. [11]

Chapitre 2: Matériel et méthodes

2.1 Présentation de l'ICP-AES utilisé

Le laboratoire dispose d'une ICP-AES Optima 8000 de la société PerkinElmer. La capacité d'analyse en ICP-AES est de 400 échantillons par jour.

Figure 9 : Photographie d'un appareil ICP-AES Optima 8000 de la société PerkinElmer

L'appareillage de l'ICP comprend:

- une source de nébulisation / atomisation / excitation de l'échantillon ; elle comprend générateur H.F,torche et nébuliseur ;
- un dispositif dispersif (monochromateur et/ou polychromateur) pour analyser le rayonnement émis par l'échantillon ;
- un ensemble électronique / informatique pour la gestion des spectromètres et l'exploitation des données.

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Débit du gaz auxiliaire : 0.2 $L.min^{-1}$
- Temps de lecture: 30s/élément
- Débit de pompe : 1ml/min
- Débit du nébulisat dans le nébuliseur : 0.7 $L.min^{-1}$
- Puissance du générateur à hautes fréquences : 1.5 kW
- Débit du plasma : 8 $L.min^{-1}$
- Volume d'échantillon prélevé : 2 ml

Les échantillons sont placés sous le passeur dans des tubes polypropylènes Chaque échantillon est lu trois fois. La durée d'analyse d'un échantillon est d'environ deux minutes. La solution de rinçage est l'eau ultra-pure. Les concentrations calculées en ICP-AES sont de l'ordre du $\mu g.L^{-1}$. Le logiciel utilisé pour le traitement des données est SYNGISTIX ICP Continuous.

→ **Choix des raies d'analyses**

On conserve en général deux longueurs d'onde. On définit une longueur d'onde primaire et une longueur d'onde secondaire de telle sorte qu'on choisit la longueur d'onde qui ne présente pas une interférence. Chaque longueur d'onde avec une plage de concentration tolérée. Si la concentration de l'échantillon est supérieure à l'étalon maximal pour les deux longueurs d'onde, l'échantillon est repassé après avoir réalisé une dilution adéquate.

Elément	Longueur d'onde (nm)	Axe
Fer	239.562	Axiale

2.2 Appareillage et accessoires requis

- Spectrométrie d'Emission Optique à Couplage Inductif (ICP-AES)utilise un plasma induit par un générateur de haute fréquence comme source de rayonnement ;
- Système de contrôle et de traitement de données ;
- Système de refroidissement pour l'ICP-AES ;
- Bouteilles contenant l'argon pour la génération du plasma dans l'ICP;
- Balance analytique : pour mesure la poudre de(sulfate d'ammonium et de fer) ;
- Fioles jaugées de (25ml) pour la préparation des étalons et des échantillons, de (100ml) pour la préparation de sulfate d'ammonium et de fer en poudre, et(1000ml) pour la préparation de l'eau ultra-pure avec 5% de l'acide nitrique (HNO_3) ;
- Micropipette pour le prélèvement ;
- Picette contenant de l'eau ultra pure avec 5% de l'acide nitrique ;
- Tubes à échantillon ;

2.3 Réactifs et étalons

- Eau ultra-pure
- Acide nitrique concentré (HNO_3)

Note : La concentration de l'acide nitrique présente dans les étalons commerciaux peutvarier de 2 à 10 %, ce qui fera varier légèrement les concentrations finales d'acide nitrique des étalons d'étalonnage et ce, sans effet notable.

Rapport-Gratuit.com

- Étalon multiéléments (standard 21) de concentration (100mg/L) : Disponible commercialement, traçable à un étalonnational et de qualité ICP-AES.
- Sulfate d'ammonium et de fer [$(NH_4)_2SO_4FeSO_4.6H_2O$] utilisé comme matrice pour la préparation des échantillons.

2.4 Procédure analytique

- la gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'un étalon multi-élémentaire de concentration (100mg/l), cet étalon contient 5% de l'acide nitrique (HNO_3).

On prépare 5 concentrations reparties sur l'intervalle d'étude dans lequel la linéarité est vérifiée

(0.001 à 0.005 mg/ml), les volumes sont obtenus selon la relation suivante :

$$\mathbf{C_1V_1 = C_2V_2}$$

Avec :

- C1 : concentration de l'étalon (ppm)
- V1 : volume recherché (ml)
- C2 : concentration préparée (ppm)
- V2 : volume totale (ml)

On verse dans une fiole de 25 ml le volume calculé de l'étalon et on complète jusqu'au trait de jauge avec de l'eau ultra-pure.

- La gamme de validation a été préparée à partir de sulfate d'ammonium et de fer [$(NH_4)_2SO_4FeSO_4.6H_2O$]

  La masse de [$(NH_4)_2SO_4FeSO_4.6H_2O$] qui a été prise : m = 66.6mg/100ml(eau)

  Selon la relation suivante :

$$\boldsymbol{m}[\mathbf{(NH4)2SO4FeSO4.6H2O}] = \frac{\boldsymbol{C}[\mathbf{(NH4)2SO4FeSO4.6H2O}] * \mathbf{V(eau)} * \mathbf{M}[\mathbf{(NH4)2SO4FeSO4.6H2O}]}{\boldsymbol{M(Fe)}}$$

Avec :

- C [$(NH_4)_2SO_4FeSO_4.6H_2O$] = 100ppm ;
- V (eaux) =100ml ;
- M [$(NH_4)_2SO_4FeSO_4.6H_2O$] = 392.13 g/mol ;
- M (Fe) = 58.845 g/mol.

La masse est ensuite préparée dans une fiole de 100ml suite à une agitation.

Le volume prix de l'échantillon est calculé suivant la même procédure de celui d'étalonnage.

NB : Les préparations des deux gammes ont été effectuées dans des fioles de (25ml) puis versées dans des tubes à échantillon.

Chapitre 3: Validation de la méthode du dosage de Fer – Résultats et Discussions

3.1 Spécificité et Interférences

Avant la préparation des deux gammes standard d'étalonnage et standard de validation il faut vérifier la spécificité.

Une procédure d'analyse est dite « spécifique » lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser ou qu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physicochimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substance dans l'échantillon.

Les critères de spécificité/sélectivité sont plutôt qualitatifs et ne pourront pas vraiment être calculés. En outre, il est assez évident qu'ils sont à l' origine d'un manque de justesse et participeront quantitativement à ce qu'on appelle globalement l'erreur de mesure ou erreur totale.

Il est facile de comprendre que la cause principale d'une « non-spécificité » est la présence d'interférences. Donc, le manque de spécificité ou les interférences sont une des causes d'erreur de justesse. En dehors d'une origine instrumentale, un nombre d'interférences sont dues à la présence d'autre constituant majoritaire dans l'échantillon : on parle alors d'effet de matrice.

Pratiquement les interférences ont deux conséquences néfastes. Soit, elles entrainent une surestimation de la concentration de l'échantillon, car la réponse est plus élevée que ce qu'elle devrait être. Soit, elles causent une sous-estimation de la concentration, car le signal est partiellement masqué. Dans les deux cas, elles occasionnent donc un biais de justesse (erreur systématique).

Dans le cas d'un dosage dans une matrice qu'on ne maitrise pas ses composantes, la méthode graphique reste la meilleure solution pour démontrer l'absence d'interférences.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

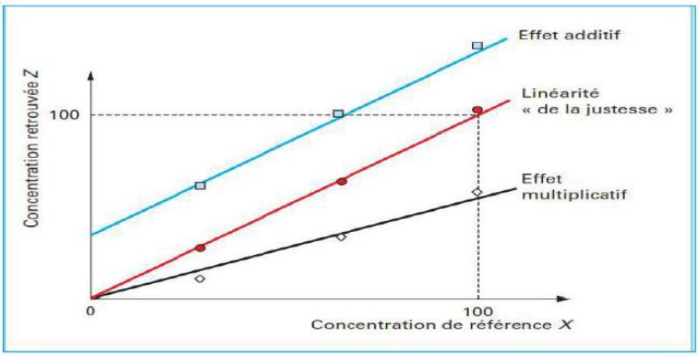

Figure 10 : Représentation graphique de concentration introduite en fonction de la concentration retrouvée, visualisant l'effet de matrice sous ces différents aspects, additifs et multiplicatifs

La figure illustre un exemple de cette droite de justesse selon trois situations hypothétiques :

 Les cercles pleins produisent une droite confondue avec la première bissectrice ; la spécificité est parfaite ;

 Les carrées illustrent un décalage systématique des concentrations retrouvées ; on parle d'effet additif ;

 Les losanges illustrent une situation dans laquelle le biais est proportion à la concentration ; on parle d'effet multiplicatif.

Soit X la valeur introduction et Z la concentration retrouvée par étalonnage inverse, ces trois droites correspondent aux équations suivantes :

 Absence d'effet : **Z = X**

 Effet multiplicatif : **Z = b X**

 Effet additif : **Z = a + X**

Mais, on peut aussi supposer qu'il existe des situations où ces effets se combinent :

 Combinaison des effets : **Z = a + b X**

- **étude de la spécificité/sélectivité**

On observe d'après le graphe ci-dessous que les deux droites qui représententla concentration retrouvée en fonction de la concentration introduite sont presque parallèlesdonc la méthode est déclarée comme spécifique.

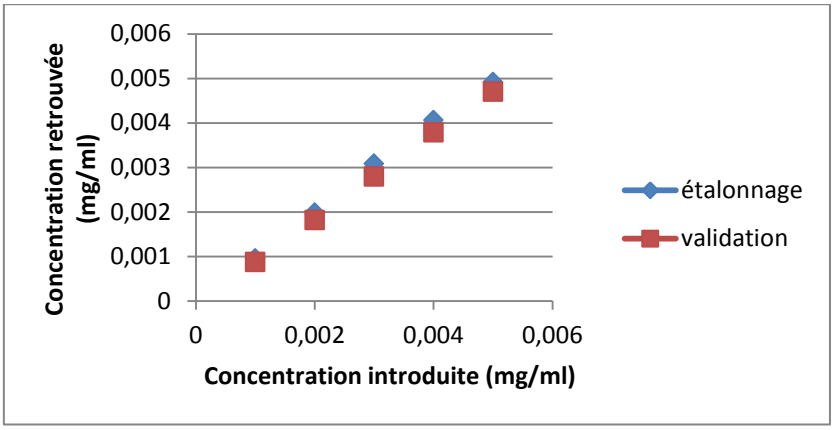

Figure 11 : Représentation graphique de la concentration introduite en fonction de la concentration retrouvée

3.2 Réalisation des gammes de STD d'étalonnage et de validation

Les solutions de standard d'étalonnage et de validation ont été analysées pendant trois jours différents (p=3), avec cinq niveaux de concentration (m=5), chaque niveau étant répété trois fois (n=3), les concentrations introduites sont exprimées en mg/ml.

On prépare 5 concentrations reparties sur l'intervalle d'étude dans lequel la linéarité est vérifiée (de 0.001 à 0.005 mg/ml)avec 3 essais par niveau.

Les résultats trouvés sont regroupés dans les tableaux 4 et 5 :

		Aire		
niveau	**C (mg/ml)**	**série1**	**série2**	**série3**
1	**0.001**	**116316.9**	**110790.2**	**109615.2**
	0.001	**118028**	**106293.5**	**108732.4**
	0.001	**114197.7**	**107960.1**	**110416.8**
2	**0.002**	**227231.6**	**215142.3**	**208127.2**
	0.002	**219620.7**	**210314.9**	**205941.7**
	0.002	**223027.7**	**204684**	**208677.2**
3	**0.003**	**336599.1**	**322405.4**	**308442.8**
	0.003	**335173.1**	**319296.9**	**315552.7**
	0.003	**322588.9**	**326040.5**	**318330**
4	**0.004**	**461118.1**	**419878**	**410784.3**
	0.004	**417869.4**	**413427.2**	**397256.5**
	0.004	**430877.5**	**419302**	**407606.2**
5	**0.005**	**522708.1**	**509729.2**	**481748.2**
	0.005	**505816.4**	**517221.4**	**492256.2**
	0.005	**519031.1**	**502984.8**	**492420.2**

Tableau 4 : Gamme de standard d'étalonnage

		Aire		
niveau	**C (mg/ml)**	**Y1**	**Y2**	**Y3**
1	**0.001**	**107872.6**	**104547.3**	**99942.2**
	0.001	**106864.2**	**103626.5**	**100365.8**
	0.001	**108836.8**	**103259.6**	**100222.1**
2	**0.002**	**196145.2**	**198580.1**	**197879.8**
	0.002	**208257.5**	**193824.4**	**192639.5**
	0.002	**201093.8**	**194199.6**	**191448.6**
3	**0.003**	**295212.7**	**299093**	**287324.2**
	0.003	**299697**	**293097.8**	**292078**
	0.003	**306009.3**	**289644.8**	**286572.6**
4	**0.004**	**409818.3**	**388257.1**	**392983.9**
	0.004	**411874.4**	**389195.9**	**377335.6**
	0.004	**402289.2**	**390868.2**	**369993**
5	**0.005**	**499378.7**	**476568.5**	**457879.7**
	0.005	**506129.7**	**493464.1**	**458022.9**
	0.005	**501256.7**	**485225.4**	**471941.9**

Tableau 5 : Gamme de standard de validation

3.3 Réalisation des étapes du concept de l'erreur totale

3.3.1 Fonctions de réponse

Dans le but de choisir le modèle le plus adéquat qui est capable de produire une proportion suffisante de futures mesures qui se situeront à l'intérieur de la zone d'acceptabilité, nous avons généré plusieurs modèles reliant la surface de pic à la concentration.Le tableau suivant regroupe les résultats statistiques des modèles générés.

modèle	série	a0	a1	a2	R^2%	R^2 ajusté%
0-max	1	0	110484567		99,86	99.78
	2	0	107526978		99,97	99,96
	3	0	104702833		99,93	99,89
linéaire simple	1	20879	101267033		99.25	99,21
	2	10473	101074973		99,80	99,78
	3	18238	95607377		99,78	99,70
simple pondéré (1/X)	1	15412	103089422		99.54	99.50
	2	7213	102161670		99.84	99.83
	3	14130	96976910		99,81	99.79
simple pondéré $(1/X)^2$	1	12586	104379927		99.66	99.93
	2	5718	102844192		99.85	99.84
	3	12114	97897229		99.85	99.84
quadratique	1	-8499	126448576	-4 196 923 810.00	99.51	99.42
	2	-7573	116542916	2577990476	99.87	99.82
	3	-3873	114559677	-3 158 716 667.00	99.87	99.85
quadratique pondéré (1/X)	1	-3121	121838407	-3 428 562 260.00	99.68	99.63
	2	-3838	113341754	-2044463503	99.90	99.89
	3	202	111066855	-2576579718,00	99.90	99.88
quadratique pondéré $(1/X)^2$	1	287	118390710	-2 798 093 823.00	99.75	99.71
	2	-786	110254212	-1479855283	99.88	99.86
	3	3344	107888964	-1995449750	99.91	99.89
transformation log	1	7.8798	0.9374		99.74	99.72
	2	7.946	0.97025		99.88	99.87
	3	7.8539	0.93792		99.90	99.89
transformation racine carrée	1	34.8	9786		99.54	99.51
	2	16.82	9928		99.85	99.83
	3	32.33	9511		99.83	99.81

Tableau 6 : Résultats statistique obtenus au prés de chaque modèle généré

Après la génération de plusieurs modèles d'étalonnage, on applique une prédiction inverse pour avoir les concentrations retrouvées, ainsi la construction des différents profils d'exactitude.

3.3.2 Génération de différents profils d'exactitude

Pour utiliser le profil d'exactitude en vue de valider une méthode, il faut avoir fixé les deux critères de décision (limites d'acceptabilité et la proportion ß).

Le profil d'exactitude estconstruit en dopant sur le même graphique le recouvrement en fonction des concentrations introduites, les limites de tolérances, et les limites d'acceptations qui sont définis à (±15%).

- Fonction linéaire simple

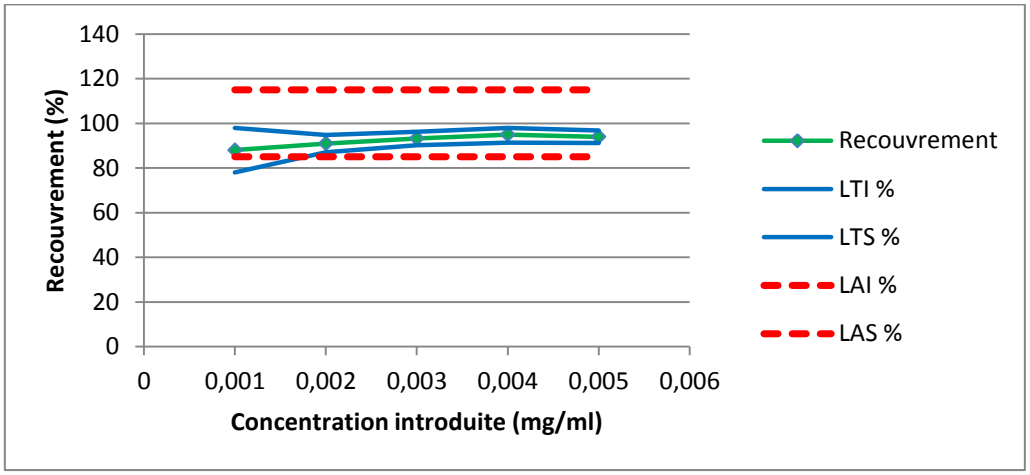

Figure 12 : Profil d'erreur totale par la fonction linéaire simple à ß= 85%

- Linéairepondérée (1/X)

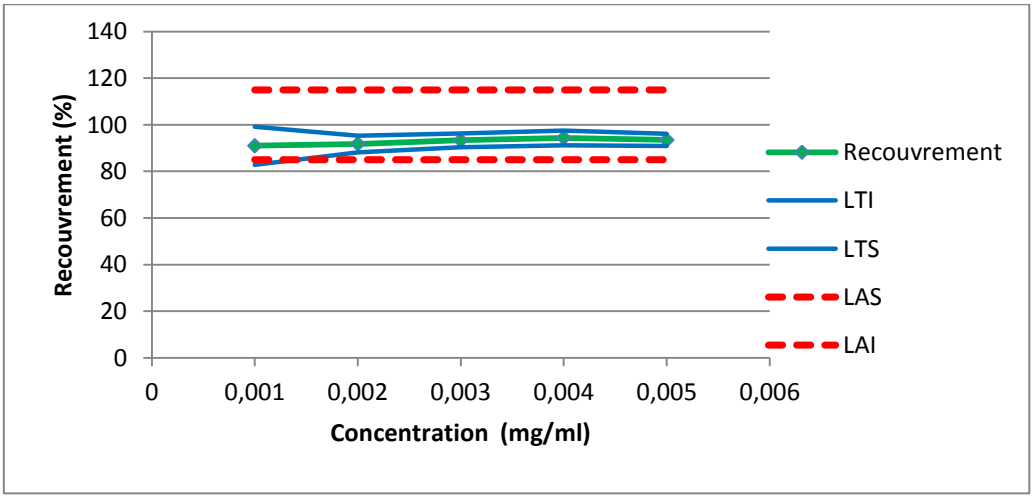

Figure 13 : Profil d'erreur totale par la fonction linéaire pondérée (1/X) à ß= 85%

- Linéaire pondérée $(1/X)^2$

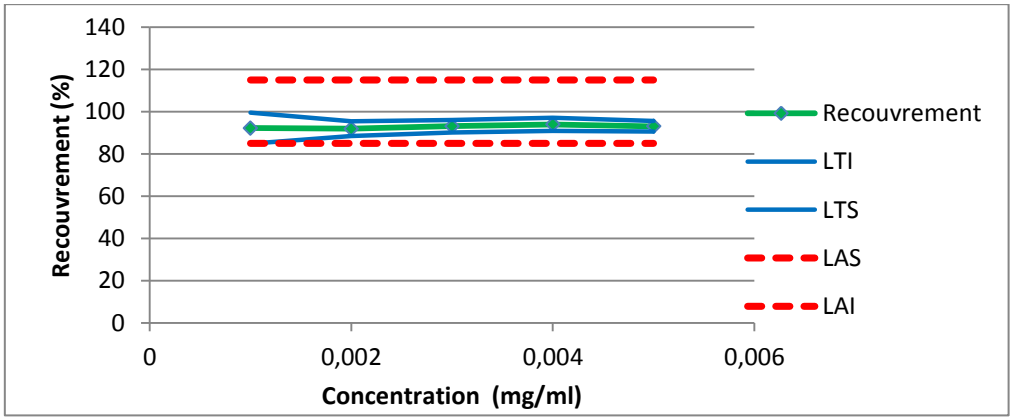

Figure 14 : Profil d'erreur totale par la fonction linéaire pondérée $(1/X)^2$ à ß= 85%

➢ Fonction quadratique

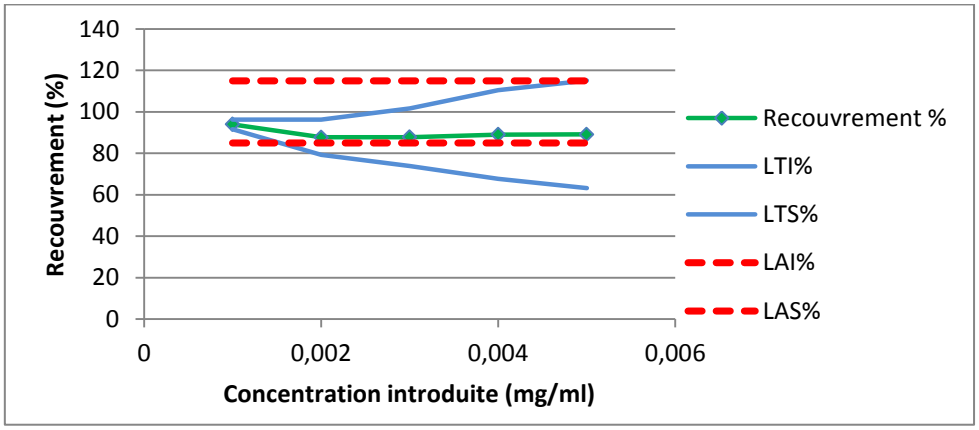

Figure 15 : Profil d'erreur totale par la fonction quadratique à ß= 85%

➢ Quadratique pondérée (1/X)

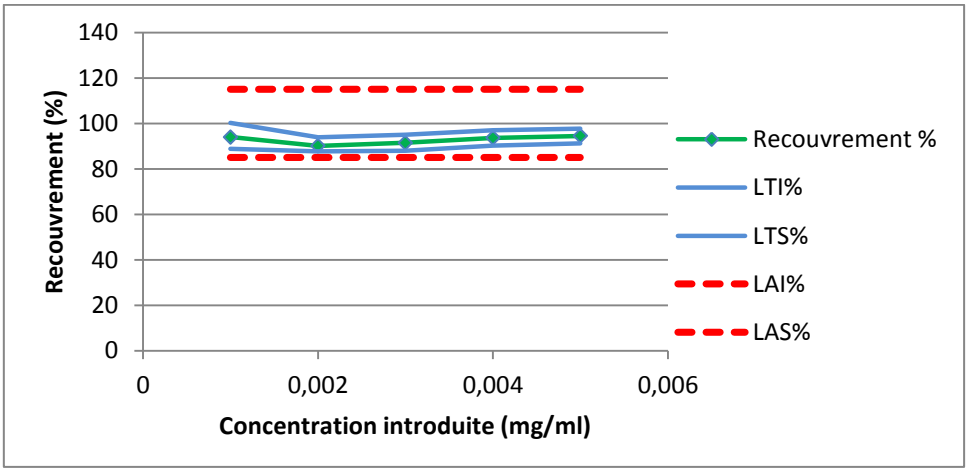

Figure 16 : Profil d'erreur totale par la fonction quadratique pondérée (1/X) à ß= 85%

➢ Quadratique pondérée $(1/X)^2$

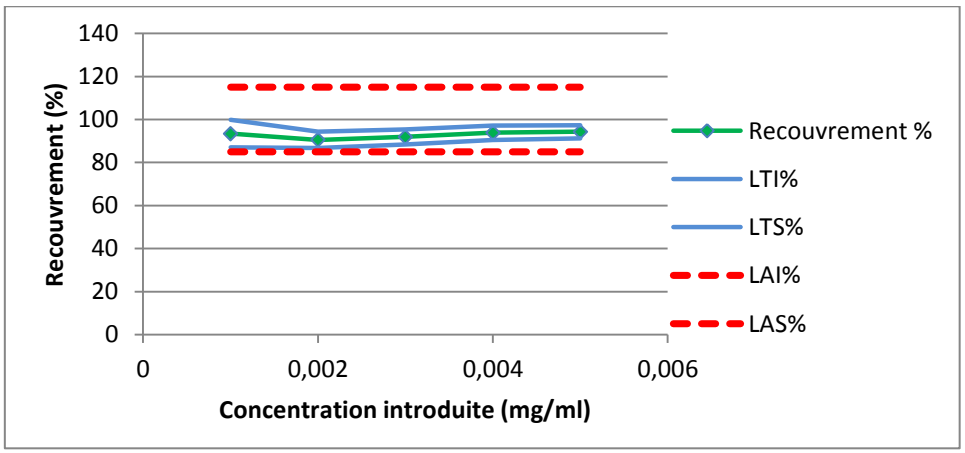

Figure 17 : Profil d'erreur totale par la fonction quadratique pondérée $(1/X)^2$ à ß= 85%

➢ Fonction (0-max)

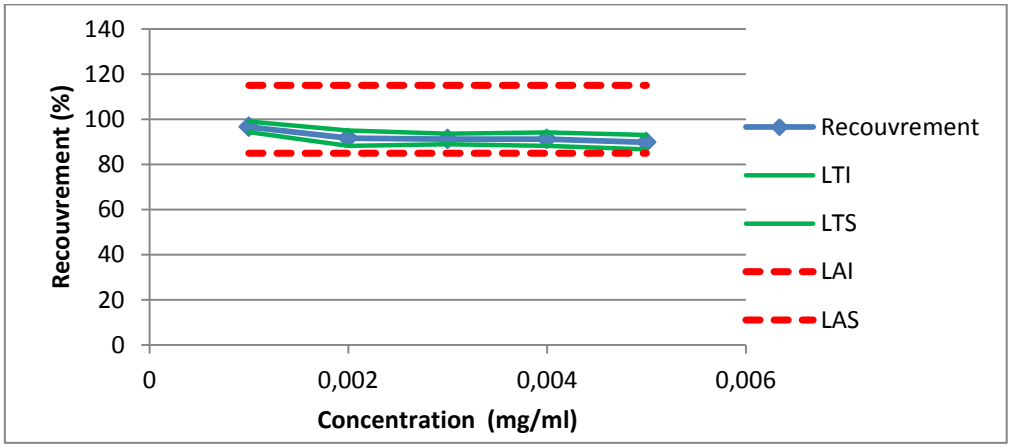

Figure 18 : Profil d'erreur totale par la fonction (0-max) à ß= 85%

➢ Transformation logarithmique

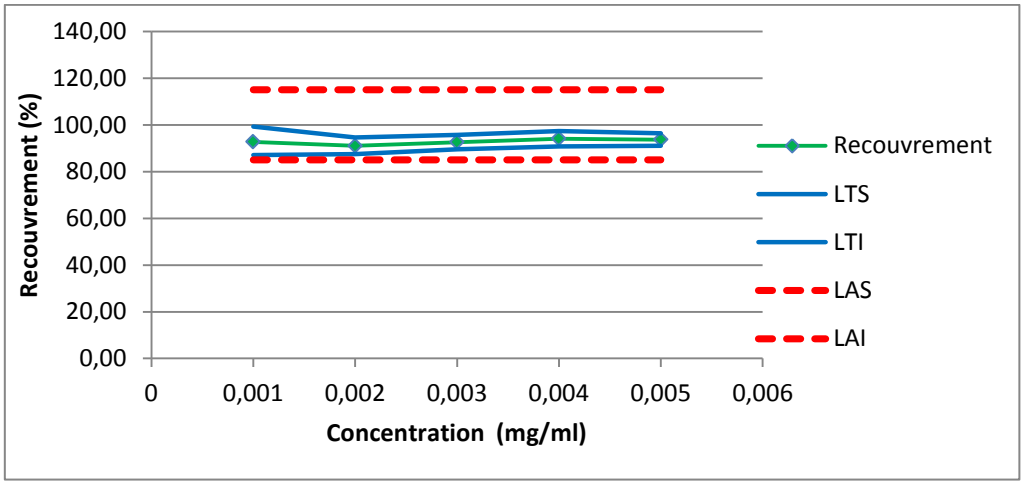

Figure 19 : Profil d'erreur totale par la fonction transformation logarithmique à ß= 85%

➢ Transformation racine carrée

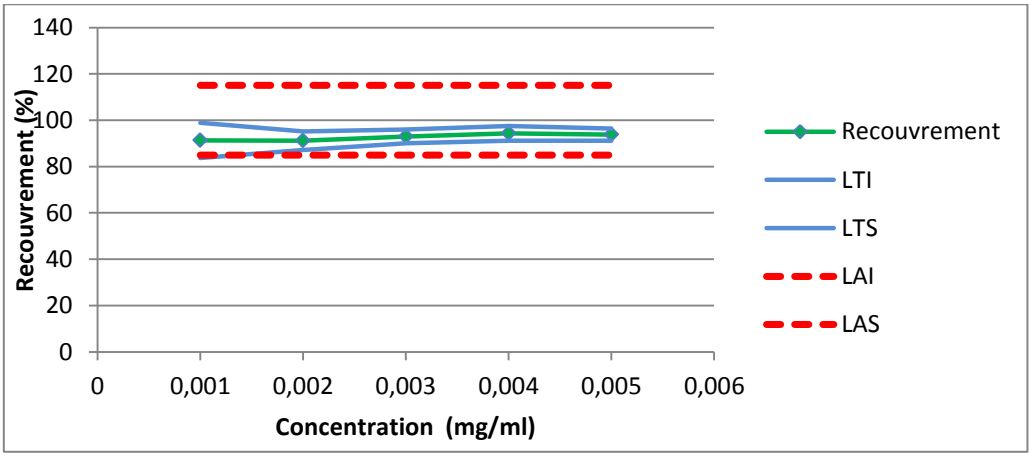

Figure 20 : Profil d'erreur totale par la fonction transformation racine carrée à ß= 85%

On remarque pour les fonctions suivantes : régression linéaire (simple, pondérée (1/X) et (1/X)²), quadratique et racine carrée, que la limite basse de tolérance n'est pas inclue dans les limites d'acceptation (±15%), donc la méthode ne peut pas être considérée comme valide pour ces différentes fonctions de réponses dans l'intervalle de concentration étudié.

Cependant, on observe pour la fonction quadratique (pondérées (1/X) et (1/X)²), transformation logarithmique et la fonction (0-Max),que les limites de tolérances sont bien incluses dans les limites d'acceptation (±15%) pour tous les niveaux de concentration, donc on peut considérer que la méthode fournit des résultats exacte dans l'intervalle de concentration étudié.

3.3.3 Choix du profil d'exactitude

Le choix du profil d'exactitude le plus adéquat est basé sur l'objectif de trouver des recouvrements par niveau, les plus proches possibles à 100% et des bais plus proches à zéro, avec un intervalle de tolérance le plus étroit et situé à l'intérieure des limites d'acceptabilité, pour avoir une méthode valide dans l'intervalle de concentration étudié.

Après avoir examiné soigneusement les profils des différents modèles, nous avons remarqué que la fonction quadratique pondérée, la fonction (0-max) et transformation logarithmique ont presque les mêmes résultats. Nous avons sélectionné alors le modèle le plus simple et qui répond plus à nos objectifs (quadratique pondéré 1/X) pour étudier les différents critères de validation:

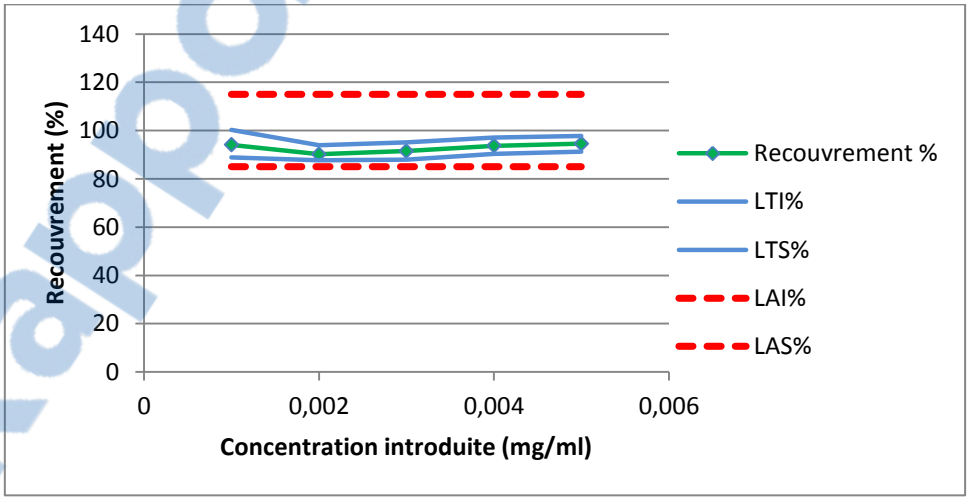

Figure 21 : Profil d'erreur totale par la fonction quadratique pondérée (1/X) à ß= 85%

Rapport-Gratuit.com

3.3.4 Prédiction inverse

		C prédites (1/X)		
niveau	**C (mg/ml)**	**Cp1**	**Cp2**	**Cp3**
1	0.001	0.0009	0.0010	0.0009
	0.001	0.0009	0.0010	0.0009
	0.001	0.0009	0.0010	0.0009
2	0.002	0.0017	0.0018	0.0019
	0.002	0.0018	0.0018	0.0018
	0.002	0.0018	0.0018	0.0018
3	0.003	0.0026	0.0028	0.0028
	0.003	0.0027	0.0028	0.0028
	0.003	0.0028	0.0027	0.0028
4	0.004	0.0038	0.0037	0.0039
	0.004	0.0038	0.0037	0.0037
	0.004	0.0037	0.0037	0.0036
5	0.005	0.0048	0.0046	0.0046
	0.005	0.0048	0.0048	0.0046
	0.005	0.0048	0.0047	0.0048

Tableau 7 : Concentrations retrouvées par la fonction quadratique pondérée (1/X)

3.3.5 Calcul de justesse

La justesse nous informe sur les erreurs systématiques de la procédure analytique.

		C prédites (1/X)							
Niveau	**C (mg/ml)**	**Cp1**	**Cp2**	**Cp3**	**C intrmoy**	**C prédite moy**	**Biais absolu**	**Biais relatif(%)**	**Recouvrement(%)**
1	0.001	0.0009	0.0010	0.0009	0.001	0.0009	-0.0001	-5.93723843	94.06276157
	0.001	0.0009	0.0010	0.0009					
	0.001	0.0009	0.0010	0.0009					
2	0.002	0.0017	0.0018	0.0019	0.002	0.0018	-0.0002	-9.81769573	90.18230427
	0.002	0.0018	0.0018	0.0018					
	0.002	0.0018	0.0018	0.0018					
3	0.003	0.0026	0.0028	0.0028	0.003	0.0027	-0.0003	-8.48897829	91.51102171
	0.003	0.0027	0.0028	0.0028					
	0.003	0.0028	0.0027	0.0028					
4	0.004	0.0038	0.0037	0.0039	0.004	0.0037	-0.0003	-6.32392279	93.67607721
	0.004	0.0038	0.0037	0.0037					
	0.004	0.0037	0.0037	0.0036					
5	0.005	0.0048	0.0046	0.0046	0.005	0.0047	-0.0003	-5.47333037	94.52666963
	0.005	0.0048	0.0048	0.0046					
	0.005	0.0048	0.0047	0.0048					

Tableau 8 : calcul des différents paramètres de justesse

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de biais relatif et absolu sont négatives, cela signifie que la méthode sous-estime la concentration. Cependant le taux de recouvrement est plus parlant en comparant les valeurs obtenues à 100% pour les cinq niveaux.On propose alors l'introduction d'un facteur de correction sur les réponses instrumentales pour corriger ce recouvrement.

3.3.6 Calcul de fidélité

La fidélité de la méthode se caractérise par le coefficient de variation de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire

C intrmoy	S^2_{rep}	S_{rep}	CV_{rep} (%)	S^2_B	S^2_{FI}	S_{FI}	CV_{FI} (%)
0.001	3.844E-11	0.0000062	0.62	5.5696E-10	5.9536E-10	0.0000244	2.44
0.002	1.6E-09	0.00004	2	2.89E-10	1.936E-09	0.000044	2.2
0.003	1.936E-09	0.000044	1.46666667	1.296E-09	3.249E-09	0.000057	1.9
0.004	6.4E-09	0.00008	2	0	6.4E-09	0.00008	2
0.005	6.084E-09	0.000078	1.56	2.025E-09	8.1E-09	0.00009	1.8

Tableau 9 : calcul des différents paramètres de fidélité

On remarque que le CV de répétabilité et de fidélité intermédiaire ne dépasse pas 15%, donc la méthode est fidèle dans l'intervalle de concentration étudié.

- **Coefficientdecorrection**

Le coefficient de correction est établi àpartirdu graphe qui présente les concentrations retrouvées en fonction des concentrations introduites. Il est calculé selon la relation suivante :

$$FC = 1/a$$

Avec - a : pente

$$FC = 1/0.88 = 1.13$$

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

3.3.7 Calcul de justesse après correction

		C prédites (1/X)							
niveau	**C (mg/ml)**	**Cp1**	**Cp2**	**Cp3**	**C intrmoy**	**C prédite moy**	**Biais absolu**	**Biais relatif(%)**	**Recouvrement(%)**
1	0.001	0.0011	0.0011	0.0010	0.001	0.0011	0.0001	6.38	106.38
	0.001	0.0010	0.0011	0.0010					
	0.001	0.0011	0.0011	0.0010					
2	0.002	0.0019	0.0021	0.0021	0.002	0.0020	0.0000	1.99	101.99
	0.002	0.0021	0.0020	0.0020					
	0.002	0.0020	0.0020	0.0020					
3	0.003	0.0030	0.0032	0.0031	0.003	0.0031	0.0001	3.50	103.50
	0.003	0.0030	0.0031	0.0032					
	0.003	0.0031	0.0031	0.0031					
4	0.004	0.0043	0.0042	0.0044	0.004	0.0042	0.0002	5.94	105.94
	0.004	0.0043	0.0042	0.0042					
	0.004	0.0042	0.0042	0.0041					
5	0.005	0.0054	0.0052	0.0052	0.005	0.0053	0.0003	6.91	106.91
	0.005	0.0055	0.0054	0.0052					
	0.005	0.0054	0.0053	0.0054					

Tableau 10 : calcul des différents paramètres de justesse après correction

On remarque une augmentation significative de recouvrement pour les cinq niveaux de concentration après introduction du facteur de correction, démontrant ainsi l'efficacité de facteur de correction à corriger le biais relatif et le recouvrement.

3.3.8 Calculdefidélitéaprèscorrection

C intrmoy	S^2_{rep}	S_{rep}	CV_{rep} (%)	S^2_B	S^2_{FI}	S_{FI}	CV_{FI} (%)
0.001	4.9E-11	0.000007	0.7	7.1289E-10	7.6176E-10	0.0000276	2.76
0.002	2.025E-09	0.000045	2.25	3.61E-10	2.401E-09	0.000049	2.45
0.003	2.5E-09	0.00005	1.66666667	1.681E-09	4.225E-09	0.000065	2.16666667
0.004	8.281E-09	0.000091	2.275	0	8.281E-09	0.000091	2.275
0.005	7.744E-09	0.000088	1.76	2.601E-09	1.0404E-08	0.000102	2.04

Tableau 11 : calcul des différents paramètres de justesse après correction

3.3.9 Calcul des Intervalles de Tolérance

Le calcul se fait à partir des données du critère de fidélité et de justesse pour chaque niveau de concentration.

Niveau	C (mg/ml)	Recouvrement (%)	LTI(%)	LTS(%)	LAI(%)	LAS(%)
1	0.001	106.38	99.36	112.4	85	115
2	0.002	101.99	97.7	106.28	85	115
3	0.003	103.5	99.47	107.52	85	115
4	0.004	105.94	102.12	109.77	85	115
5	0.005	106.91	103.28	110.53	85	115

Tableau 12: Critères d'établissement du profil d'exactitude

Les résultats nous démontrant que le facteur de correction est efficace pour s'affranchir du recouvrement, permettant de valider la méthode.

3.3.10 Profil d'exactitudeaprèscorrection

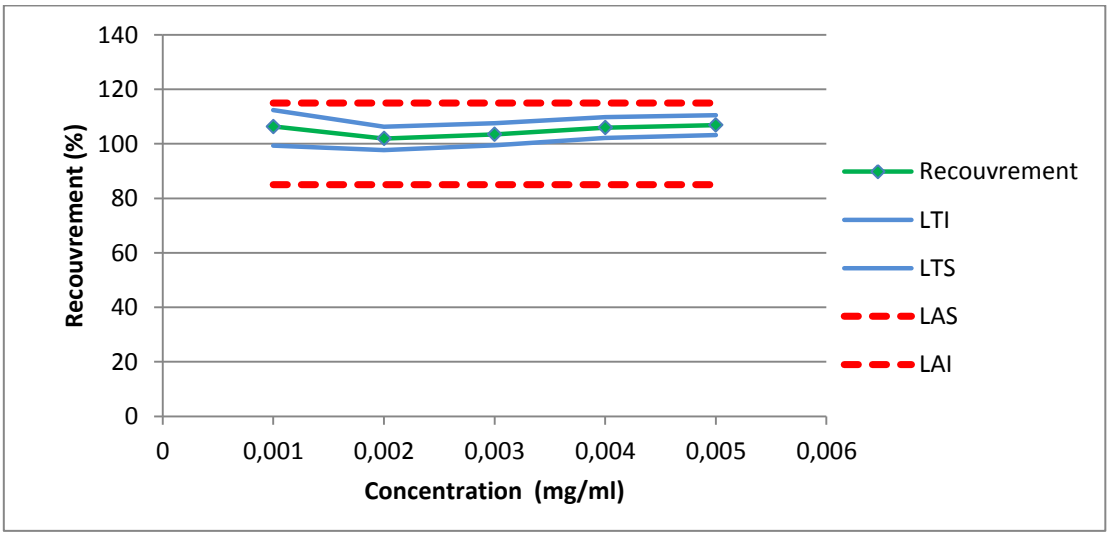

Figure 22 : Profil d'erreur totale par la fonction quadratique pondérée (1/X) à ß= 85%aprèscorrection

Onconstatequ'aprèsavoir introduit lefacteurdecorrection,leslimitesdetolérancesetrouventclairementàl'intérieurdeslimites d'acceptation.

La méthode peut dès lors être considérée comme exacte (valide),etcapable de fournir des résultats validesau niveau de confiance de 85%.

3.3.11 Limite de quantification

La limite de quantification est calculée à partir de la méthode par détermination sur blanc (eau ultra pure)comme suit :

Blanc	Aire
1	8243.1
2	8111.2
3	7651.7
4	8210.2
5	8276.6
6	7964.2
7	8774.8
8	8545.6
9	8279
10	8257.2

a0	a1	Ȳ (blanc)	S (blanc)	Xbar (blanc)	DDl	T crit	Xld	Xlq
8781.6	9932.36	8231.36	302.1151	-0.055398717	10	1.833112933	0.00036	0.001198

Tableau 13 : Calcul des limites de quantification et de détection

D'après le profil d'exactitude et le calcul de la limite de quantification on peut conclure que la méthode de dosage de fer est valide dans le domaine qui s'étend de 0,001 à 0.005mg/ml ; ainsique les intervalles de tolérance sont compris dans l'intervalle d'acceptabilité fixé à ±15%.

→ Donc la méthode est déclarée comme valide, et que sa procédure garantit que 85 fois sur 100 les futures mesures fournies par celle-ci seront comprises dans les limites d'acceptation fixées.

Conclusion Générale

L'accréditation par la norme ISO 17025 est un concept plus fort, il est donc plus approprié pour un laboratoire de se faire accréditer s'il veut donner la confiance nécessaire à la réalisation de ses essais (analyses). Pour faciliter ce processus et contribuer à la mise en place de la norme **ISO 17025**au sein du CUAE2TI, la validation d'une méthode reste le véritable point de départ.

Pour cet effet, nous avons réalisé une étude sur le système de management de qualité au sein de CUAE2TI à travers une lecture de la norme ISO NM 17025 version 2017, ainsi nous avons travaillé sur la validation de la méthode de dosage de fer par ICP/AES afin de garantir la qualité et la fiabilité de ses résultats. Ce Travail vise à préparer le centre non seulement à la certification de ses activités mais aussi à l'accréditationdeeessais qu'il réalise.

Nous avons utilisé comme méthodologie l'approche de l'erreur totale qui combine entre les deux erreurs (aléatoires + systématiques), et permet de générer plusieurs modèles et choisir le plus adéquat. Les résultats obtenus montrent que les différents critères de validation analytique ont été acceptables, ce qui nous a permis de prendre comme décision que la méthode du dosage est valide au niveau de confiance ß=85% à tous les niveaux de concentration. On peut ainsi garantir que 85% des futures mesures fournies par celle-ci seront comprises dans les limites d'acceptation fixées à 15%.

Références bibliographique

[1]. Norme ISO/CEI 17025 : Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais, (05- 2005)

[2]. http://www.demarcheiso17025.com/analyse_iso17025.html

[3]. file:///C:/Users/Lenovo/Downloads/accreditation%2022-03-2010%20Jrad%20(2).pdf

[4].http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-07032007-221300/unrestricted/05_Introduction.pdf

[5]. -Code of Federal Regulations – Parts 210 and 211, FDA, http://www.fda.gov/cder/dmpq/cgmpregs.htm, 2 janvier 2004.

[6]. NF EN ISO 17025 (2005) Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais, ISO, Genève.

[7]. Feinberg M. (2010c) Interprétation du profil d'exactitude. *In* Validation des méthodes d'analyse quantitative par le profil d'exactitude. *Le Cahier des Techniques de l'Inra,*numéro spécial : 45-59

[8]. Guide CITAC/EURACHEM, Guide pour la qualité en chimie analytique, édition 2002 http:// www.lne.fr.

[9]. Feinberg, M. (2006) Approche globale et harmonisée de la validation. *Spectra Analyse*, 249,avril-mai 2006, 16-23.

[10]. Feinberg M. (2010a) Principes et vocabulaire *in* Validation des méthodes d'analyse quantitative par le profil d'exactitude. Le *Cahier des Techniques de l'Inra*, numéro spécial, 13-25

[11].https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectrom%C3%A9trie_%C3%A0_plasma_%C3%A0_couplage_inductif

[12]. Projet Master : Mise en application de processus analytique complexe Analyse de métaux par ICP-AES – année 2011

[13]. catalogue de la société Perkin Elmer

[14]. https://www.shimadzu.fr/spectroscopie-emission-icp