EPN Mathématiques et Statistiques
Department of Mathematics and Statistics

Analyse et validation des systèmes de mesure

L. Jaupi
Mathématiques&Statistiques
EPN6-Cnam

1

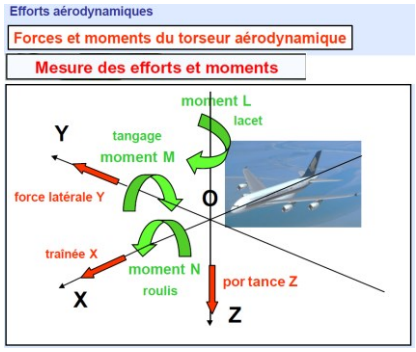
1

Sommaire

- Introduction
- Processus de mesure
- Principales caractéristiques d'un système de mesure
- Validation/évaluation
- Linéarité
- Exactitude/justesse
- Fidélité (répétabilité, reproductibilité)
- Limité de détection
- Validation d'un titrage

2

Mesures de grandeurs diverses, avec des objectifs variés



3

Mesures de grandeurs diverses, avec des objectifs variés

Exemple de poste de mesure

Poste 6 AD2 La Hague

Mesure d'activité
- -alpha,
- -beta
- -gamma
- -neutron

Le poste de mesure est constitué d'un puits entouré de blocs de polyéthylène dans lesquels sont répartis 36 détecteurs

4

Qu’est-ce que la mesure ?

La mesure est définie comme «l’attribution de nombres (de valeurs) à des choses matérielles (produit, échantillon, une pièce…) pour représenter leurs relations par rapport à des propriétés particulières».

Le processus d'attribution des nombres est défini comme **processus de mesure** et la valeur attribuée est définie comme **valeur de mesure**.

5

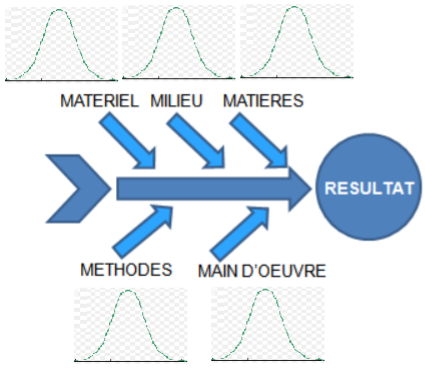
Qu’est-ce que le système de mesure?

Le processus de mesure est l'ensemble des instruments, normes, méthodes, opérations, matériels, personnel, environnement, logiciels et des hypothèses utilisés pour établir une évaluation de la caractéristique à mesurer.

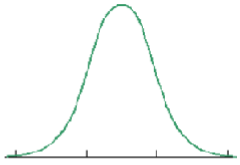
Voir un système de mesure de cette manière est utile, car il nous permet de faire appel à tous les concepts et outils qui ont déjà démontré leur utilité dans le domaine de la maîtrise statistique des processus : MSP

6

Les résultats obtenus par le système de mesure sont-ils fiables ?



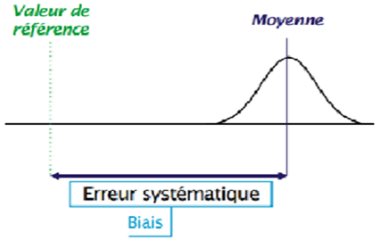
Deux composantes essentielles :
insertitude,
biais



Un résultat de mesure découle d'un processus de mesure.

7

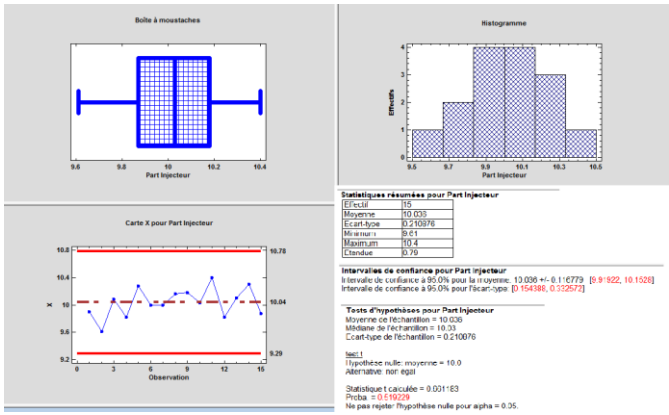
Des mesures effectuées dans des conditions identiques ne donnent pas en général des résultats identiques



	Part Injecteur	
Nr	Référence=10	Biais
1	9.9	-0.1
2	9.61	-0.39
3	10.08	0.08
4	9.82	-0.18
5	10.27	0.27
6	10	0
7	10	0
8	10.16	0.16
9	10.18	0.18
10	10.03	0.03
11	10.4	0.4
12	9.82	-0.18
13	10.1	0.1
14	10.3	0.3
15	9.87	-0.13

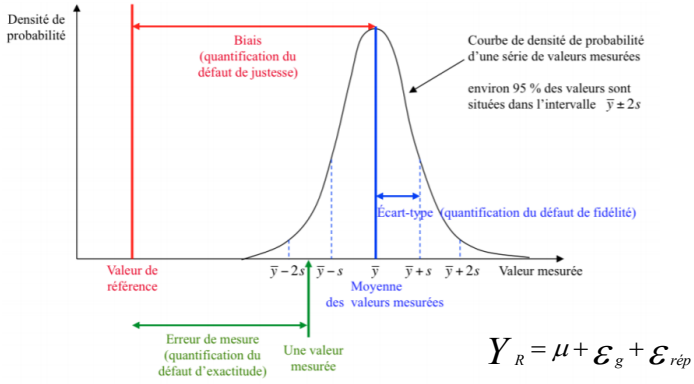
8

Analyse du système de mesure



9

Adéquation entre le résultat de mesure et la valeur de référence : exactitude (ISO 5725)



$$Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép}$$

Représentation de l'erreur de mesure, du biais et de l'écart-type

10

Les résultats obtenus par le système de mesure sont-ils fiables ?

Norme ISO 5725

Cela signifie dans le langage du métrologue, sont-ils **exacts**, c'est-à-dire **justes** et **fidèles** ?

$$Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép}$$

Exactitude : adéquation (étroitesse de l'accord) entre le résultat de l'essai et la valeur de référence acceptée.

Le terme « exactitude », appliqué à un ensemble de résultats d'essai, implique une combinaison de composantes aléatoires et d'une erreur systématique ou une composante de biais, (IS0 5725).

$$\sigma_R^2 = \sigma_g^2 + \sigma_r^2$$

Les concepts de **justesse** et de **fidélité** décrivent **les performances essentielles** du processus de mesure.

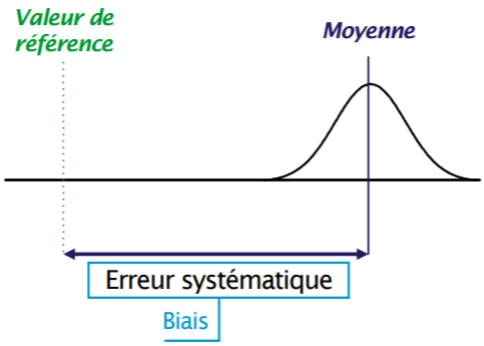
11

La justesse (Norme ISO 5725)

Justesse : adéquation (étroitesse d'accord) entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et la valeur de référence acceptée, (IS0 5725)

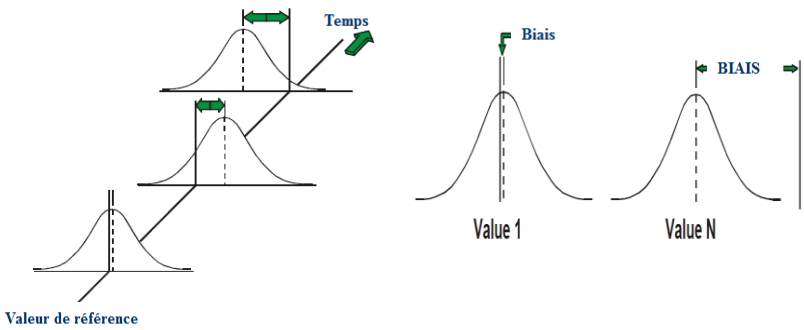
12

Biais : la justesse



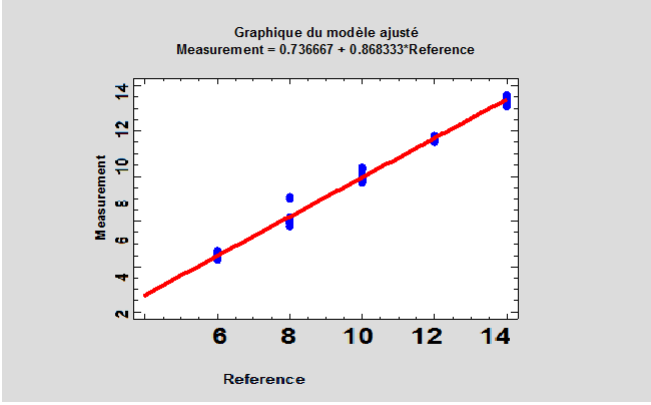
13

Exemples : biais



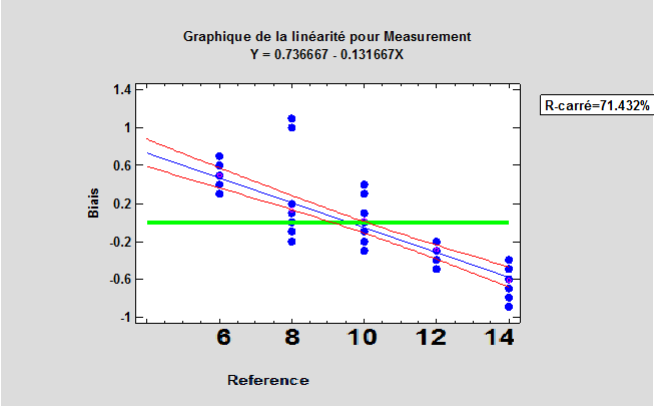
14

Linéarité / justesse des mesures



15

Linéarité / justesse des mesures



16

Fidélité (ISO 5725)

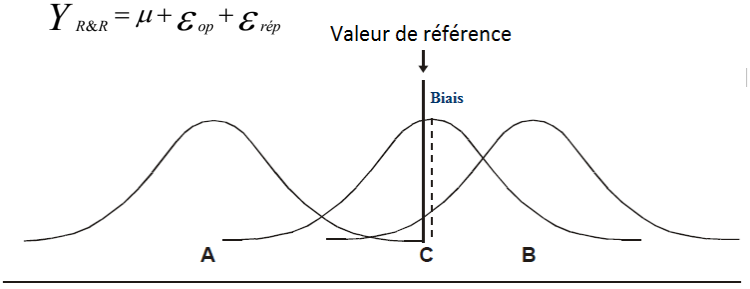
- **Le terme général pour la variabilité entre des essais répétés est fidélité**
- La **fidélité** est une combinaison de composantes aléatoires dépendant des conditions prescrites,
- Dans la plupart des cas pratique deux composantes de la fidélité sont jugées nécessaires pour la description de la variabilité d'un système de mesure : **la répétabilité et la reproductibilité**

17

La fidélité (ISO 5725, ICH,…)

$$Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép} \qquad \sigma_R^2 = \sigma_g^2 + \sigma_r^2$$

$$Y_{R\&R} = \mu + \varepsilon_{op} + \varepsilon_{rép}$$



18

Le processus de mesure

Y = le résultat / la valeur mesurée

Y = F(objet/étalon, instruments, materiels, conditions d'ambiace, procedures, opérateurs/acteurs, temps écoulé,…)

Y= F(A, B, C, D, E, …) F(.) = ?

Modèle : Y = I + A+ B + C + D + E +…+ AB + …

$$Y_{R\&R} = \mu + \varepsilon_{op} + \varepsilon_{rép} \qquad Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép}$$

19

Quelles sont les caractéristiques qui permettent d'évaluer les performances d'un système de mesure ?

Les caractéristiques principales permettant d'évaluer les performances d'un système de mesure comprennent, entre autres :

- l'intervalle de mesure
- la linéarité
- l'exactitude (!) (la justesse)
- la fidélité (répétabilité, reproductibilité,)
- limite de détection
- limite de quantification
- robustesse
- ……..

!! Référentiel utilisé !!

- **ISO 17025 , ISO 5725**
- **Guides ICH : The International Council for Harmonisation**
- **AIAG –MSA : Automotive Industry Action Group - Measurement System Analysis**
- **……..**

20

le cnam

EPN Mathématiques et Statistiques
Department of Mathematics and Statistics

Validation des performances d'un système de mesure

Méthodes d'analyse

21

21

Remarque

Une méthode d'analyse est un processus de mesure qui est utilisée pour mesurer la quantité d'analyte (substance/produit d'intérêt) présente dans l'échantillon.

La validation d'une méthode d'analyse est une étape indispensable permettant de garantir l'obtention d'un résultat aussi proche que possible de la valeur vraie de référence d'un échantillon.

22

Remarque

Les dosages biologiques ne permettent généralement pas d'obtenir directement un titre (une estimation du titre) à partir d'une mesure individuelle. Il y a pratiquement toujours intervention :

- **de gamme d'étalonnage**
- **de doses progressives**
- **de répétions**

pour obtenir en final un résultat unique valide de la concentration de substance présente dans l'échantillon.

23

VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1)

Texte ICH Q2A
Texte ICH Q2B

Liste des caractéristiques considérées comme les plus importantes pour la validation des différentes types de procédures analytiques

24

24

Principales caractéristiques de la validation ICH Q2

Toute méthode d'analyse doit être validée pour démontrer que la méthode choisie correspond bien à l'usage pour lequel elle est prévue.

Les principales caractéristiques de validation décrites dans les guides sont les suivantes :

- la spécificité
- la linéarité de la méthode
- l'intervalle de mesure
- l'exactitude
- la fidélité
- la limite de détection
- la limite de quantification
- robustesse

Liste des caractéristiques considérées comme les plus importantes pour la validation des différentes types de procédures analytiques

25

25

Méthodes statistiques nécessaires :

- Statistiques descriptives
- Estimations
- Intervalles statistiques
- Tests statistiques
- Méthodes de régression
- ANOVA
- Modèle linéaire général
- Plans d'expériences

.....

26

26

Objectif: démontrer que la quantité mesurée par la méthode est proportionnelle avec la quantité attendue

Evaluation de la linéarité d'une méthode analytique

27

Etude de linéarité d'une méthode analytique

Définition :

La linéarité d'une procédure analytique donnée est son aptitude à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration de substance présente dans l'échantillon

(on utilise un échantillon de titre connu)

Il faut démontrer la proportionnalité entre :

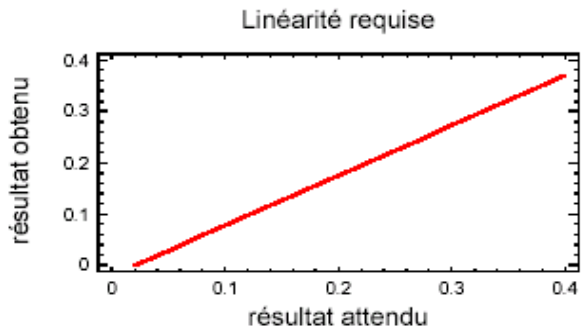
- résultat obtenu (quantité mesuré par la méthode)
- résultat attendu (quantité introduite)

28

28

Il faut démontrer la proportionnalité entre :

- résultat obtenu (quantité mesuré par la méthode)
- résultat attendu (quantité introduite)



(on utilise un échantillon de titre connu)

29

29

Recommandations ICH :

Pour évaluer la linéarité de la technique il est recommandé :

- de tester 5 concentrations régulièrement espacées avec 3 déterminations indépendantes par concentration de manière à obtenir une estimation pertinente de la variabilité et une puissance satisfaisante des tests statistiques
- d'analyser les résultats par des méthodes statistiques appropriées
- de faire une évaluation visuelle des diagrammes de la réponse en fonction de la concentration de la substance dans l'échantillon

30

30

- dans certain cas d'appliquer une transformation mathématique aux résultats d'essais avant d'effectuer l'analyse de la régression, (donc si la relation ne semble pas linéaire, faire une transformation appropriée des données)

- évaluer la courbe de régression par la méthode des moindres carrés

- le coefficient de corrélation, l'ordonnée à l'origine, la pente de la droite de régression, la somme des carrés résiduelles, le diagramme de dispersion,…doivent être inclus dans le dossier de validation…r, b_0, b_1, SSE, …

- L'utilisation d'autres approches doit être justifiée.

31

31

Schéma expérimental d'évaluation de linéarité:

Concentrations attendues	Concentrations obtenues		
	Séance 1	Séance 2	Séance 3
1	r11	r21	r31
2	r12	r22	r32
3	r13	r23	r33
4	r14	r24	r34
5	r15	r25	r35

« Séances différentes » : des séries de dosages effectués dans des conditions reflétant la variabilité maximale de la technique (différents lots de réactifs, différents opérateurs, différents jours,…)

Remarque :

Ces résultats pourront également être exploités pour évaluer l'exactitude de la méthode.

32

32

Exemple 1

C1 estérase circule dans le sang à des concentrations variables

Le déficit en cette protéine signifie le gonflement des vaisseaux sanguins.

Méthode : dosage de l'inhibiteur

Echantillons testés : concentré de protéines plasmatiques

La concentration est calculée (estimée) par rapport à un étalon plasma calibré en U/ml

Les gammes (doses) réalisées pour l'étalon et les échantillons à tester (titrer) sont les mêmes :

- **trois doses : d=3 (en progression arithmétique)**
- **quatre répétitions par traitement : n=4**

Dosage multiple : un étalon et quatre échantillons

33

33

Le calcul du titre d'un échantillon (l'estimation) est effectué à partir de 24 essais

Douze essais pour l'étalon : (3 doses) x (4 répétitions)
Douze essais pour l'échantillon : (3 doses) x (4 répétitions)

Les réponses (unités de DO par minute) sont analysées selon le modèle à rapport de pente.

Les résultats obtenus (les estimations) sont des concentrations en U/ml de solution

34

34

Le domaine de linéarité

Le domaine de linéarité étudié est concentré sur 0,240 U/ml. L'intervalle s'étend de 33% à 167%, soit de 0,08 U/ml à 0,4 U/ml bornes inférieure et supérieure incluses.

Dosage de l'inhibiteur C1 estérase

Les données de linéarité :

Concentrations attendues	Concentrations obtenues		
	Séance 1	Séance 2	Séance 3
0.08	0.081	0.038	0.047
0.16	0.101	0.128	0.163
0.24	0.158	0.214	0.301
0.32	0.303	0.321	0.269
0.4	0.417	0.329	0.34

35

35

Ex1 linearite.sf3

	X_conctrAttend	Y_Concrt_Obtc
1	0.08	0.081
2	0.16	0.101
3	0.24	0.158
4	0.32	0.303
5	0.4	0.417
6	0.08	0.038
7	0.16	0.128
8	0.24	0.214
9	0.32	0.321
10	0.4	0.329
11	0.08	0.047
12	0.16	0.163
13	0.24	0.301
14	0.32	0.269
15	0.4	0.34
16		

Dosage de l'inhibiteur C1 estérase

36

36

Tests des variances

Dosage de l'inhibiteur C1 estérase

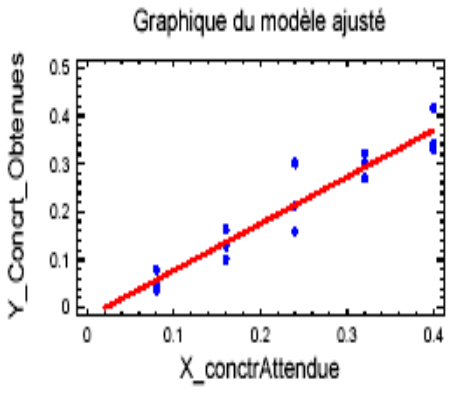
Test C de Cochran: 0.53699 Proba. = 0.229791
Test de Bartlett: 1.45574 Proba. = 0.536428
Test de Hartley: 10.0953
Test de Levene: 0.585199 Proba. = 0.680709

Le test de Cochran n'identifie pas d'hétérogénéité significative entre les cinq variances.

37

37

Estimation des paramètres de la droite de régression, par la méthode des moindres carrés, entre X et Y :



38

38

Test de l'écart à la linéarité (le test de manque d'ajustement ou le test « lack-of-fit »)

Analyse de variance avec manque d'adéquation

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Proba.
Modèle	0.182676	1	0.182676	118.42	**0.0000**
Résidu	0.020054	13	0.00154261		
Manque adéquation	0.0007153	3	0.000238433	0.12	**0.9442**
Erreur pure	0.0193387	10	0.00193387		
Total (Corr.)	0.20273	14			

(Test de Fisher au seuil α = 0,05= 5%)

Le test de l'écart à la linéarité n'est pas significatif.

Le modèle semble adéquat.

39

39

Conclusion :

La linéarité de la méthode, dans le domaine étudié, (intervalle de mesure) est démontrée.

NB. : !!! Vérification des hypothèses du modèle

40

40

Evaluation de l'exactitude d'une méthode analytique

41

41

Etude de l'exactitude d'une méthode analytique

Définition : (ICH) (Accuracy)

L'exactitude d'une procédure analytique donnée exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur acceptée conventionnellement comme vraie ou valeur de référence, et la valeur trouvée.

Remarque

L' « exactitude » selon ICH **correspond** à la « justesse » de l'ISO 5725.

défaut d'exactitude = biais

ISO 5725 : « Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure ». Exactitude : Justesse - Fidélité

42

42

Objectif

Démontrer que la quantité mesurée est équivalente à la quantité attendue

Méthodologie

Plusieurs approches sont possibles :

- Application de la procédure analytique à un échantillon de titre connu ou estimé
- Comparaison des résultats respectivement obtenus par la méthode à valider et par une seconde procédure de référence (ou bien caractérisée)
- Comparaison de résultas à ceux obtenus par un laboratoire de référence

L'utilisation d'autres approches doit être justifiée.

43

43

Recommandations ICH :

Pour évaluer l'exactitude de la technique il est recommandé :

- d'évaluer l'exactitude sur la base d'au moins 9 déterminations, avec au minimum 3 concentrations couvrant l'intervalle de mesure spécifié
- d'analyser les résultats par des méthodes statistiques appropriées

44

44

Schéma expérimental d'évaluation de l'exactitude:

Concentrations attendues	Concentrations obtenues		
	Séance 1	Séance 2	Séance 3
1	r11	r21	r31
2	r12	r22	r32
3	r13	r23	r33

« Séances différentes » : des séries de dosages effectués dans des conditions reflétant la variabilité maximale de la technique (différents lots de réactifs, différents opérateurs, différents jours,…)

45

45

Analyse des résultats et critères d'acceptabilité

Les résultats expérimentaux (obtenus) sont comparés à la quantité attendue

1. soit par exploitation des résultats de l'étude de linéarité,
2. soit par le calcul des recouvrements,
3. soit par comparaison directe avec le titre théorique

Dans tous les cas un test de conformité doit être réalisé. Si celui-ci est non significatif, la méthode est exacte.

46

46

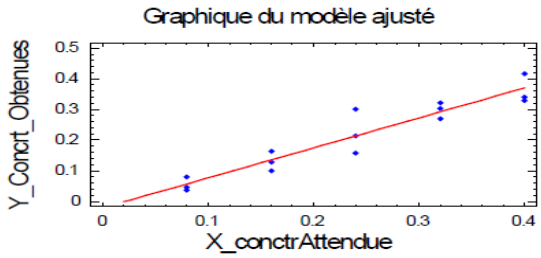
I. Exploitation des résultats de l'étude de linéarité

On considère que la linéarité de la méthode a été démontrée et on dispose les données de linéarité

On réalise un test de conformité par rapport à la valeur 1 pour la pente de la droite de régression, et par rapport à la valeur 0 pour l'ordonnée à l'origine

$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i \qquad (i=1,\ldots,n)$

$\hat{Y} = b_0 + b_1 X$



47

47

Trois cas sont possibles :

Cas 1 : $\beta_1 = 1 \qquad \beta_0 = 0$

La technique est exacte

La quantité mesurée est équivalente à la quantité attendue

48

48

Cas 2 : $\beta_1 = 1$ $\beta_0 \neq 0$

La technique n'est pas exacte !

La quantité mesurée est décalée par rapport à la quantité attendue

La droite estimée est parallèle à la droite théorique, mais elle est décalée. Par exemple vers le bas lors d'une perte systématique à l'extraction.

L'ordonné à l'origine b_0, est une estimation du défaut d'exactitude.

49

49

Cas 3 : $\beta_1 \neq 1$ **(quel que soit β_0)**

La technique n'est pas exacte !

La quantité mesurée est décalée par rapport à la quantité attendue, le décalage n'est pas constant dans tout l'intervalle de mesure étudié. C'est le cas par exemple d'une perte d'extraction proportionnelle au résultat attendu : $\beta_1 < 1$

Le défaut d'exactitude varie en fonction de la concentration du produit dosé.

Si possible réduire l'intervalle de mesure, ou retour au développement de la méthode.

50

50

C1 circule dans le sang à des concentrations variables. Le déficit en cette protéine signifie le gonflement des vaisseaux sanguins.

Application 1 dosage d'un inhibiteur

Méthode : dosage de l'inhibiteur C1

Echantillons testés : concentré de protéines plasmatiques

La concentration est calculée (estimée) par rapport à un étalon plasma calibré en U/ml

Les gammes (doses) réalisées pour l'étalon et les échantillons à tester (titrer) sont les mêmes :

- trois doses : d=3 (en progression arithmétique)
- quatre répétitions par traitement : n=4

51

51

Le domaine de linéarité

Le domaine de linéarité étudié est concentré sur 0,240 U/ml. L'intervalle s'étend de 33% à 167%, soit de 0,08 U/ml à 0,4 U/ml bornes inférieure et supérieure incluses.

Les données de linéarité :

Concentrations attendues	Concentrations obtenues		
	Séance 1	Séance 2	Séance 3
0.08	0.081	0.038	0.047
0.16	0.101	0.128	0.163
0.24	0.158	0.214	0.301
0.32	0.303	0.321	0.269
0.4	0.417	0.329	0.34

52

52

Tests d'hypothèses

Hypothèse nulle: valeur à l'origine égale à 0.0
Hypothèse alternative: valeur à l'origine non égale à 0.0
Statistique t calculée = -0.845146
Probabilité = **0.413314**
Pas de rejet de l'hypothèse nulle pour alpha = 0.05.

Hypothèse nulle: pente = 1.0
Hypothèse alternative: pente non égale à 1.0
Statistique t calculée = -0.27426
Probabilité = 0.788194
Pas de rejet de l'hypothèse nulle pour alpha = 0.05.

Conclusion :

La méthode est exacte dans le domaine étudié [0,080 ; 0,400] U/ml.

$$Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép}$$

53

53

Evaluation de la fidélité d'une méthode d'analyse

54

54

Etude de la fidélité d'une méthode analytique

Définition :

La fidélité d'une procédure analytique donnée exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures obtenues à partir de plusieurs prises d'essais provenant d'un même échantillon homogène, dans les conditions prescrites.

Dépendant des conditions prescrites elle peut être considérée à trois niveaux :

- **Répétabilité**
- **Fidélité intermédiaire**
- **Reproductibilité**

Série de mesures …plusieurs prises d'essais = il s'agit de mesures répétées … : la viabilité

55

55

Répétabilité (ICH)

La répétabilité est la fidélité obtenue dans des conditions opératoires identiques et dans un court intervalle de temps, (appelée aussi « fidélité intra essais »)

Sous des conditions de répétabilité les dosages sont réalisés avec la même méthode sur un échantillon initial homogène, dans le même laboratoire (sur le même lieu), par le même opérateur utilisant le même équipement, dans un court intervalle de temps.

56

56

$$Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép}$$

Fidélité intermédiaire **(ICH)** $\sigma_R^2 = \sigma_g^2 + \sigma_r^2$

La fidélité intermédiaire est l'expression de la variabilité intra laboratoire (mesures effectuées dans des jours différents, par des analystes différents, avec des équipements différents, …)

Reproductibilité **(ICH)**

La reproductibilité est l'expression de la variabilité inter laboratoires (études collaboratives, généralement conduites aux fins de standardisation de la méthode).

57

57

Objectif de l'étude de fidélité:

L'objectif de l'étude est d'évaluer la variabilité de la méthode dans des conditions normales d'utilisation

La fidélité d'une procédure analytique, ainsi que ses composantes, sont exprimées en termes de variance, d'écat-type

$$Y_R = \mu + \varepsilon_g + \varepsilon_{rép}$$

$$\sigma_R^2 = \sigma_g^2 + \sigma_r^2$$

58

58

Recommandations

Pour évaluer les composantes de la fidélité, (répétabilité et fidélité intermédiaire), il est recommandé d'utiliser le même schéma expérimental

Schéma expérimental d'évaluation de la fidélité :

	Groupes d'essais			
	Groupe 1	Groupe 2	…	Groupe k
Essais	r11	r21	…	rk1
	r12	r22	…	rk2
	r13	r23	…	rk3
			…	
	…	…	…	…
	r1n	r2n	…	rkn

Niveaux d'un facteur aléatoire

kn >= 18

59

59

Application 1 dosage d'un inhibiteur

Méthode : dosage de l'inhibiteur C1

C1 circule dans le sang à des concentrations variables. Le déficit en cette protéine signifie le gonflement des vaisseaux sanguins.

Echantillons testés : concentré de protéines plasmatiques

La concentration est calculée (estimée) par rapport à un étalon plasma calibré en U/ml

Les gammes (doses) réalisées pour l'étalon et les échantillons à tester (titrer) sont les mêmes :

- trois doses : d=3 (en progression arithmétique)
- quatre répétitions par traitement : n=4

60

60

Objectif : l'incertitude sur un résultat de routine doit être inférieure à 5% de la concentration (de la valeur) estimée :

(la demi-amplitude de l'intervalle de confiance du titrage doit être inférieure à 5% de la valeur estimée)

Schéma expérimental et les résultats obtenus :

Essais	Séances 1	2	3	4	5
1	0.202	0.203	0.192	0.200	0.193
2	0.200	0.208	0.198	0.201	0.187
3	0.199	0.211	0.197	0.202	0.190
4	0.200	0.210	0.196	0.202	DM

Fidélité à la valeur :

0.200 U/ml

D. routine

k, n ?

0.2 +/- 0.01

DM : donnée manquante, (tube cassé)

Remarque : Toute donnée manquante doit être justifiée

61

61

Analyse de variance à facteurs imbriqués

Variable à expliquer: Concentration_Obtenue
Facteurs:
"Groupe"
Repetabilite

Nombre d'observations complètes: 19

Analyse de la variance pour Concentration_Obtenue

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	Comp. Var.	Pct.
TOTAL (CORRIGE)	0.000714737	18			
'Groupe'	0.000630487	4	0.000157622	0.0000400066	86.92
Repetabilite	0.00008425	14	0.00000601786	0.00000601786	13.08

62

62

2. Calcul de la variance de fidélité intermédiaire : S_R^2

$$S_R^2 = S_r^2 + S_g^2 = 0.00000601786 + 0.0000400066$$

$$S_R^2 = 0{,}000046 \qquad \sigma_R^2 = \sigma_g^2 + \sigma_r^2$$

écart-type de fidélité intermédiaire = $S_R \approx 0{,}007$

63

63

Intervalle de confiance des résultats de routine

L'intervalle de confiance est donné par :

$$IC_R = résultat \quad obtenu \pm t_{\alpha,\nu}\sqrt{\frac{S_g^2}{k} + \frac{S_r^2}{kn}}$$

k = nombre de séances (à déterminer)
n = nombre de répétition par séance (à déterminer)
ν = N-1= 18 ddl (N est connu)

$N = \sum_{j=1}^{k} n_j = (20-1) = 19$ (nombre total d'essais pour l'évaluation de la fidélité intermédiaire)

64

64

Table d'intervalles de confiance calculés pour un *résultat obtenu* = 0,200 U/ml ; et différentes valeur de k et n :

+/- 0,014

+/- 0,01

	k=1	k=2
n=1	0.186 -- 0.214	0.190 -- 0.210
n=2	0.186 -- 0.214	0.190 -- 0.210
n=3	0.187 -- 0.213	0.190 -- 0.210
n=4	0.187 -- 0.213	0.191 -- 0.209

D. routine

k, n ?

0.2 +/- 0.01

65

65

Objectif : l'incertitude sur un résultat de routine doit être inférieure à 5% de la concentration (de la valeur) estimée :

(la demi-amplitude de l'intervalle de confiance du titrage doit être inférieure à 5% de la valeur estimée)

Dosage de routine

Pour que le résultat satisfasse aux objectifs de la méthode pour (l'incertitude sur un résultat de routine doit être inférieure à 5% de la concentration estimée), il est proposé de réaliser deux dosages répartis en deux séances (k=2) de un titrage (n=1)

66

66

Limite de détection

67

67

Limite de détection d'une méthode analytique

Définition (ICH)

La limite de détection d'une procédure analytique est la plus petite quantité de substance considérée qui peut être détectée, dans un échantillon, sans forcement pouvoir être quantifiée de façon exacte.

Remarque

La limite de détection est un paramètre intervenant dans les analyses quantitatives pour les composés présents à faible concentration dans des matrices échantillons ; elle est notamment utilisée pour le dosage des impuretés et/ou des produits de dégradations.

68

68

Méthodologie et recommandations ICH

Selon que la limite de détection est exprimée en quantité ou en signal deux approches peuvent être utilisées :

Limite de détection exprimée en quantité

La limite de détection exprimée en quantité peut être évaluée par analyse d'échantillons contenant la substance à des concentrations connues puis la détermination de la concentration minimale à laquelle une détection fiable est possible. Si possible le schéma expérimental adopté sera le même que celui préconisé pour étudier la fidélité de la méthode.

69

69

Limite de détection exprimée en signal

La limite de détection exprimée en signal peut être évaluée à partir des caractéristiques (résultat moyen, écart-type des réponses) d'un blanc (ou témoin négatif). Si possible le schéma expérimental adopté sera le même que celui préconisé pour étudier la fidélité de la méthode.

70

70

Exemple **Recherche de traces d'antibiotiques**

Méthode : essai de pureté limite par diffusion selon la méthode de dosage microbiologique des antibiotiques

Echantillons testés : disques de 10 mm imbibé de (100 ml) solutions d'antibiotique à des concentrations variables et déposés à la surface d'un milieu gélosé ensemencé à l'aide d'un germe sensible

Le milieu de culture est ensemencé avec *Micrococcus luteus*

Les antibiotiques étalons sont la pénicilline et l'amoxicilline.

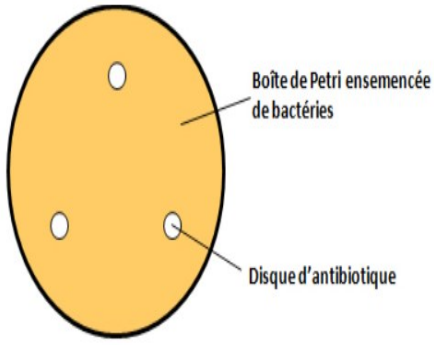
Des solutions témoins sont préparées aux concentrations de :

0.1 ; 0.05 ; 0.01 ; 0.005 ; 0.0025 µg/ml

Après un temps donné d'incubation, on constate autour de chaque disque, un cercle d'inhibition.

71

71



72

Les réponses : diamètres des zones d'inhibition

Seules les solutions dont les zones d'inhibition sont supérieures au diamètre du disque (exprimé en 1/10e de mm) donnent un résultat positif.

Les résultats obtenus : résultat +
résultat –

Le schéma expérimental adopté est le même que celui utilisé pour étudier la **fidélité** de la méthode

73

73

Recherche de traces de pénicilline

Quantité théorique	Résultats observés				
	Séance 1	Séance 2	Séance 3	Séance 4	Séance 5
0,1 µg	+	+	+	+	+
0,05 µg	+	+	+	+	+
0,01 µg	+	+	+	+	+
0,005 µg	+	+	+	+	+
0,0025 µg	-	-	-	-	-

La limite de détection correspond à la dernière quantité d'antibiotique pour laquelle le résultat est positif dans toutes les séances, soit 0.005 µg

La limite de détection de la méthode pour des traces de pénicilline est de 0.005 µg

74

74

Recherche de traces d'amoxicilline

Quantité théorique	Résultats observés				
	Séance 1	Séance 2	Séance 3	Séance 4	Séance 5
0,1 µg	+	+	+	+	+
0,05 µg	+	+	+	+	+
0,01 µg	+	+	+	+	+
0,005 µg	-	-	+	-	+
0,0025 µg	-	-	-	-	-

La limite de détection correspond à la dernière quantité d'antibiotique pour laquelle le résultat est positif dans toutes les séances, soit 0.01 µg

La limite de détection de la méthode pour des traces d'amoxicilline est de 0.01 µg

75

75

76

76