

POUR UNE APPROCHE GLOBALE DE LA VALIDATION

Résumé de l'intervention de M. FEINBERG (INRA Paris) lors de l'assemblée générale 2006

Dans le cadre des exigences de la norme ISO 17025:2005, les laboratoires doivent valider leurs méthodes alternatives et estimer leur incertitude de mesure associée. Pour combiner ces deux types d'exigences, une procédure globale, la méthode du profil d'exactitude, constitue une nouvelle approche. Cette procédure qui constituera le corps de la révision de la norme NF V 03-110 est composée de plusieurs étapes qui sont décrites ci-dessous.

Le cycle de vie d'une méthode comprend différentes étapes :

- La sélection, la conception, et le développement
- La validation (intra et/ou inter-laboratoires),
- L'estimation de l'incertitude,
- L'utilisation en routine et le contrôle des performances.

Avec la mise en place des systèmes d'assurance qualité dans les laboratoires, la validation des méthodes d'analyse et l'estimation de l'incertitude associée, requises par la norme ISO 17025:2005, sont devenues aujourd'hui des objectifs importants. Les clauses suivantes précisent les exigences auxquelles doivent répondre les laboratoires pour vérifier si une méthode est bien adaptée à ses objectifs :

- 5.4.5.1. La validation est la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation déterminée sont remplies, et
- 5.4.5.2. Le laboratoire doit valider les méthodes non-normalisées, les méthodes conçues / développées par le laboratoire, les méthodes normalisées employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ainsi que les amplifications ou modification de méthodes normalisées, afin de confirmer que les méthodes sont aptes à l'emploi prévu,

La stratégie de validation qui revient à vérifier que la méthode donne un résultat différent de la cible est inadaptée. En effet, elle débouche sur des échecs dus au fait que les méthodes les moins précises sont plus faciles à valider.

C'est pourquoi, la validation s'oriente aujourd'hui sur une approche différente :

- La définition d'une limite d'acceptabilité, représentant "l'emploi prévu" de la méthode.
- La définition de la probabilité de résultats non acceptables :
 - Connaître le pourcentage de futures mesures non acceptables,
 - Définir un intervalle dans lequel se trouvera une proportion connue de futures mesures (intervalle de tolérance) et vérifier s'il est contenu dans la zone d'acceptabilité.

Le profil d'exactitude

La méthode du profil d'exactitude qui constitue le corps de la révision de la norme NF V 03-110 permet de répondre à ces questions.

Cette nouvelle approche de validation intra-laboratoire se déroule en plusieurs étapes :

- La collecte des données d'étalonnage,
- La collecte des données de validation,
- La prédiction des concentrations retrouvées,
- Le calcul des intervalles de tolérance,
- La construction du profil d'exactitude.

• **La collecte des données d'étalonnage**

L'objectif de cette étape est d'établir la fonction réponse instrumentale. Le plan d'expérience comprend des mesurages sur des échantillons à plusieurs niveaux et sur plusieurs séries de mesurages (la série pouvant représenter le jour, l'opérateur ou l'instrument).

Cette étape n'est nécessaire que dans le cadre d'une méthode ne donnant pas directement les concentrations de l'analyte recherché.

• **La collecte des données de validation**

Cette étape sert à vérifier dans les conditions d'application du mode opératoire, les performances de la méthode.

Plusieurs séries de mesurages sur des échantillons à plusieurs niveaux de concentration sont nécessaires pour obtenir les données requises à cette vérification. Les valeurs de référence assignées aux différents échantillons, peuvent être obtenues de différentes façons : ajouts dosés, méthode de référence, matrices reconstituées ou solutions pures, dilution isotopique...

• **La prédiction des concentrations**

La première phase est la construction et le choix des modèles d'étalonnage à partir des données d'étalonnage. Différents modèles mathématiques peuvent être utilisés pour calculer la fonction de réponse de la méthode, mais la régression par la méthode des moindres carrés est la plus accessible.

La deuxième phase est la détermination des concentrations retrouvées dans les échantillons de validation par prédiction inverse (application de la

fonction inverse de la fonction de réponse déterminée lors de la phase 1 de cette même étape).

- **Le calcul des intervalles de tolérance**

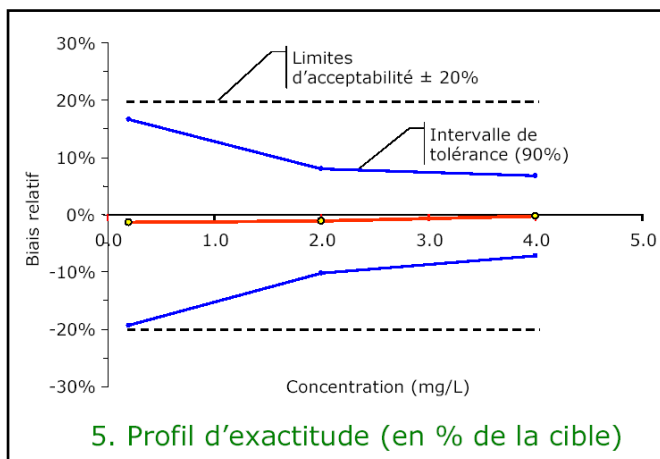
Les calculs statistiques sont réalisés sur les données de concentrations retrouvées par prédiction inverse.

Ainsi, pour chaque niveau, on calcule la variance de répétabilité, la variance inter-séries et la variance de fidélité intermédiaire, selon les principes décrits dans la norme ISO 5725.

On peut ensuite en déduire, par niveau, un intervalle de tolérance β dans lequel on s'attend à trouver une proportion β (généralement 90%) de futurs résultats de la méthode à valider.

- **La construction du profil d'exactitude**

Le profil d'exactitude est défini comme une combinaison sous forme graphique d'un ou plusieurs intervalles de tolérance calculés à différents niveaux et d'un intervalle d'acceptabilité. Il permet une vision globale de l'adéquation des performances de la méthode aux spécifications exigées dans le domaine d'application.



Le principe de la méthode du profil d'exactitude est une approche globale combinant justesse et fidélité de la méthode validée. La prise de décision de la validité de la méthode testée est réalisée directement sur l'illustration graphique. Elle présente également l'avantage de pouvoir utiliser de nombreux modèles d'étalonnage pour calculer la fonction réponse instrumentale, d'être adaptée à de larges domaines d'application et également d'intégrer l'utilisation d'un facteur de correction.

Cependant, la fixation de limites d'acceptabilité est un préalable à cette méthode. Un inconvénient éventuel de cette approche tient au fait qu'on suppose que les données se distribuent selon la loi Normale. Or, il existe des situations où cette hypothèse est fautive, comme pour les comptages microbiologiques. Cependant, une simple transformation des données en log permet de contourner cette limite comme on a pu le montrer sur plusieurs exemples.