



CRÉER  
LA  
CONFIANCE

LICENCE PROFESSIONNELLE : MÉTROLOGIE CHIMIQUE ET NUCLÉAIRE

## VALIDATION DE MÉTHODE

DR BÉATRICE LALERE

Février 2020

LABORATOIRE  
NATIONAL  
DE MÉTROLOGIE  
ET D'ESSAIS



## Validation de Méthodes

### EXIGENCES NORMATIVES



## EXIGENCES DE LA NF EN ISO/IEC 17025

### 7.2.1 Sélection et vérification des méthodes

7.2.1.1 Le laboratoire doit appliquer des méthodes et procédures appropriées pour toutes les activités de laboratoire et, le cas échéant, pour l'évaluation de l'incertitude de mesure ainsi que pour les techniques statistiques utilisées pour l'analyse de données.

NOTE Le terme «méthode» tel qu'utilisé dans le présent document peut être considéré comme synonyme du terme «procédure de mesure» (ou procédure opératoire) tel que défini dans le Guide ISO/IEC 99.

7.2.1.2 Toutes les méthodes, les procédures et la documentation associée, telles que les instructions, normes, manuels et données de référence se rapportant aux activités de laboratoire doivent être tenues à jour et être facilement accessibles au personnel (voir 8.3).

7.2.1.3 Le laboratoire doit assurer qu'il utilise la dernière version valide d'une méthode, sauf si cela n'est pas approprié ou possible. Quand cela est nécessaire, des précisions doivent être apportées à cette méthode pour en assurer une application cohérente.

NOTE Il n'est pas nécessaire de compléter ou de réécrire sous forme de procédures internes des normes internationales, régionales, nationales ou autres spécifications reconnues contenant des informations suffisantes et concises sur la manière d'effectuer les activités de laboratoire, si ces normes sont rédigées sous une forme utilisable par le personnel opérationnel d'un laboratoire. Il peut se révéler nécessaire de fournir une documentation supplémentaire pour des étapes facultatives de la méthode ou des détails complémentaires.

7.2.1.4 Lorsque le client ne spécifie pas la méthode à utiliser, le laboratoire doit sélectionner une méthode appropriée et informer le client de la méthode choisie. Les méthodes publiées dans des normes internationales, régionales ou nationales, par des organisations techniques de renom ou dans des textes ou revues scientifiques spécialisés, ou spécifiées par le fabricant d'équipement, sont recommandées. Des méthodes développées ou modifiées par le laboratoire peuvent également être adoptées.

7.2.1.5 Le laboratoire doit vérifier qu'il peut correctement appliquer des méthodes avant de les mettre en œuvre en s'assurant qu'il peut atteindre la performance requise. Les enregistrements de la vérification doivent être conservés. Si la méthode est révisée par l'organisme éditeur, il faut procéder à une nouvelle vérification aussi étendue que nécessaire.



## CE QUE DOIT FAIRE LE LABORATOIRE

Le laboratoire doit :

- comprendre les besoins et attentes du client,
- parvenir à un accord sur une méthode capable de répondre à ses exigences,
- vérifier que le laboratoire peut mettre en œuvre cette méthode avec succès.

Chaque contrat doit être acceptable pour le laboratoire et le client :

- Le besoin du client est-il défini, documenté, compris ?
- Le laboratoire a-t-il la capacité et les ressources pour satisfaire à ces exigences ?
- La méthode choisie est-elle capable de répondre aux exigences du client ?

Il ne faut certainement pas s'arrêter à ce qu'il spécifie

Mais il faut « chercher à élucider la demande » et considérer

- ce qu'il ne spécifie pas mais dont il aura besoin pour utiliser l'information qui lui sera remise,
- les exigences réglementaires et légales,
- les informations nécessaires à la mise en œuvre de la méthode.

S'intéresser à l'information qui va être inférée à partir du résultat de mesure

- l'information est-elle relative à l'échantillon qui est fourni au laboratoire ?
- l'information est-elle relative au lot d'où est extrait l'échantillon ?

### 3 ÉTAPES POUR RÉPONDRE

- Définir le mesurande (VIM)

- grandeur que l'on veut mesurer

- Définir la méthode

- Identifier les facteurs d'influence

➤ C'est aussi se préoccuper des questions de prélèvement et d'échantillonnage (la norme ISO / CEI 17025 comporte un paragraphe complet sur ce point § 5.7)

➤ Examiner les documents de référence : normes, spécifications, contrats qui peuvent aider à définir le mesurande

➤ La définition du mesurande peut nécessiter des indications relatives à des grandeurs telles que la température, la pression.

condition de mesurage

condition d'expression du résultat (valeur ramenée dans les conditions normales de pression...)

« mesurande » ou « résultat d'analyse »

5

LP 3 – Exigences normatives



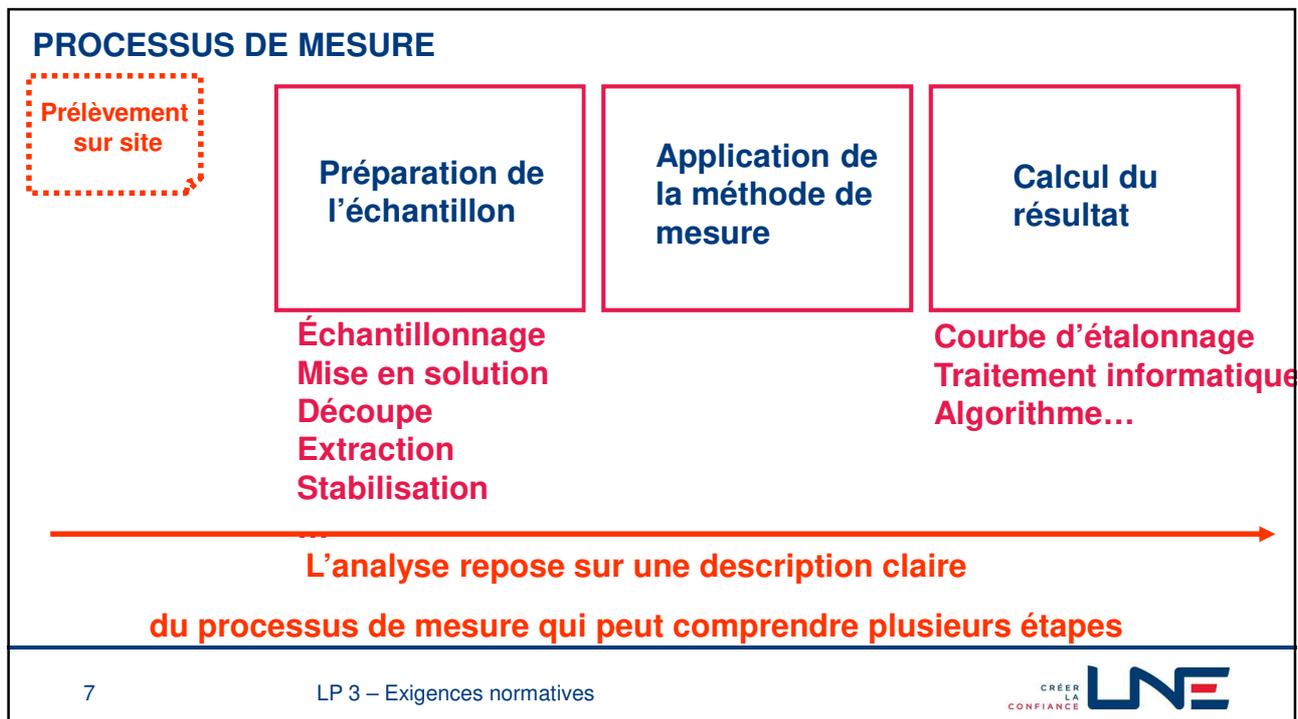
### MESURANDE (VIM)

- Grandeur que l'on veut mesurer
- Attention : la grandeur mesurée peut différer du mesurande. Dans ce cas, une correction appropriée est nécessaire
  - Exemple longueur d'un étalon à 20°C mesuré à 23 °C
- Dans l'édition précédente (VIM2) la définition était grandeur particulière soumise à mesurage

6

LP 3 – Exigences normatives





**EXIGENCES DE LA 17025**

**7.2.2 Validation des méthodes**

**7.2.2.1** Le laboratoire doit valider les méthodes non normalisées, les méthodes développées par le laboratoire et les méthodes normalisées employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ou autrement modifiées. La validation doit être aussi étendue que l'impose la réponse aux besoins pour l'application ou le domaine d'application donné.

**NOTE 1** La validation peut également porter sur des procédures pour l'échantillonnage, la manutention et le transport des objets d'essai ou d'étalonnage.

**7.2.2.2** Lorsque des modifications sont apportées à une méthode validée, les incidences des modifications introduites doivent être déterminées et, s'il a été constaté qu'elles ont compromis la validation d'origine, une nouvelle validation de méthode doit être effectuée.

**7.2.2.3** Les caractéristiques de performance des méthodes validées telles qu'estimées en vue de l'emploi prévu, doivent correspondre aux besoins du client et être conformes aux exigences spécifiées.

**NOTE** Les caractéristiques de performances peuvent comprendre, sans toutefois s'y limiter, l'intervalle de mesure, l'exactitude, l'incertitude de mesure des résultats, les limites de détection, la limite de quantification, la sélectivité de la méthode, la linéarité, la répétabilité ou reproductibilité, la robustesse par rapport à des influences extérieures ou la sensibilité croisée aux interférences provenant de la matrice de l'échantillon ou de l'objet d'essai, ainsi que le biais.

**7.2.2.4** Le laboratoire doit conserver les enregistrements de validation suivants:

- la procédure de validation utilisée;
- la spécification des exigences;
- la détermination des caractéristiques de performance de la méthode;
- les résultats obtenus;
- une déclaration relative à la validité de la méthode, donnant des précisions sur son aptitude à l'emploi prévu.

CRÉER LA CONFIANCE **LINE**

## VALIDATION

VIM : vérification, où les exigences spécifiées sont adéquates pour un usage déterminé (exemple : une procédure de mesure habituellement utilisée pour le mesurage de la concentration en masse d'azote dans l'eau, peut aussi être validée pour le mesurage dans le sérum humain)

9

LP 3 – Exigences normatives



## VALIDATION : DIFFÉRENTES ÉTAPES

1. Définir le mesurande et le mode opératoire
2. Préciser le domaine d'application ou de validation de la méthode
3. Définir les exigences (EMA, U, LQ...) et les caractéristiques à vérifier
4. Lister les facteurs d'influence
5. Sélectionner les échantillons
6. Déterminer les essais à réaliser
7. Réaliser les essais et enregistrer les résultats
8. Analyser les résultats
9. Conclure quant à la validité de la méthode
10. Constituer le dossier de validation

10

LP 3 – Exigences normatives



## INCERTITUDES : LES EXIGENCES DE LA NORME ISO/CEI 17025 §7.6

7.6.1 Le laboratoire doit identifier les contributions à l'incertitude de mesure. Lors de l'évaluation de l'incertitude de mesure, toutes les contributions importantes, y compris celles issues de l'échantillonnage, doivent être prises en compte, en utilisant des méthodes d'analyse appropriées.

7.6.2 Un laboratoire procédant à des étalonnages, y compris de ses propres équipements, doit évaluer l'incertitude de mesure de tous les étalonnages.

7.6.3 Un laboratoire procédant à des essais doit évaluer l'incertitude de mesure. Lorsque la méthode d'essai ne permet pas une évaluation rigoureuse de l'incertitude de mesure, il faut faire une estimation sur la base d'une connaissance scientifique des principes théoriques ou d'une expérience pratique de la performance de la méthode.

NOTE 1 Dans les cas où une méthode d'essai bien établie précise des limites pour les valeurs des principales sources d'incertitude de mesure et spécifie le format de présentation des résultats calculés, le laboratoire est considéré comme ayant satisfait aux exigences de 7.6.3 s'il suit la méthode d'essai et les instructions sur la façon de rendre compte des résultats.

NOTE 2 Pour une méthode donnée dont l'incertitude de mesure associée aux résultats a été établie et vérifiée, il n'est pas nécessaire d'évaluer l'incertitude de mesure pour chaque résultat, sous réserve que le laboratoire puisse démontrer que les facteurs critiques d'influence identifiés sont sous contrôle.

NOTE 3 Pour de plus amples informations voir le Guide ISO/IEC 98-3, l'ISO 21748 et la série de l'ISO 5725.

## FAUT-IL VALIDER UNE MÉTHODE RECONNUE ?

### Avant-propos de la NF T90-210

Le présent document s'applique aux méthodes normalisées adoptées par le laboratoire et à celles adaptées ou développées par le laboratoire. Il fournit en particulier des outils statistiques pour évaluer dans des conditions de fidélité intermédiaire :

- la fonction d'étalonnage lorsque c'est nécessaire ;
- l'exactitude de la méthode sur l'ensemble du domaine d'application, en particulier au niveau de la limite de quantification présumée ;
- le rendement d'extraction d'une méthode d'analyse lorsque cela est nécessaire.

Les interférences devront être étudiées pour les méthodes adaptées ou développées par le laboratoire.

## Validation de Méthodes

### DIFFÉRENTES APPROCHES

13

#### **GUIDE SANCO**

Guidance Document for single laboratory validation of quantitative analytical methods – Guidance used in support of pre-ans-post-registration data requirements for plant protection and biocidal products

#### **NF T 90-210**

Qualité de l'eau – Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire

#### **NF V 03-110**

Analyse des produits agricoles et alimentaires – Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude

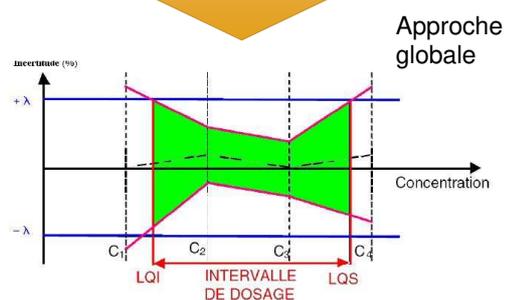
14

## DIFFÉRENCES DE PHILOSOPHIE

Guide Sanco  
+  
NF T 90-210

- Sélectivité
- Linéarité
- Fidélités
- Limite de Quantification...
- .....

NF V 03-110



15

## Validation de Méthodes

### ECHANTILLONNAGE

16

## DÉFINITIONS

### ECHANTILLONNAGE

Procédure définie par laquelle une partie d'une substance, matériau ou produit, est prélevée pour fournir, à des fins d'essais ou d'étalonnage, un échantillon représentatif de la totalité

### PRELEVEMENT

Action de prélever une quantité de matière (en une seule fois) en vue de son analyse

### ECHANTILLON

Ensemble d'un ou de plusieurs individus prélevés dans un lot et destinés à fournir des informations sur ce lot.

17

LP 3 – Echantillonnage



## PRÉLÈVEMENT

Quel est l'objectif visé?

Quels types d'échantillons sélectionnés?

Quelle quantité d'échantillons?

Où?



Quand?



Comment?



**Représentativité de l'échantillon**

18

LP 3 – Echantillonnage



## ECHANTILLONNAGE : DÉFINIR LE PLAN

3 métiers, 3 compétences pour obtenir les informations



**Echantillonneur**

**Statistiques et planification  
d'expériences**



**Préleveur**

**Connaissance du terrain et  
gestion des échantillons**



**Analyste**

**Analyse des  
échantillons,  
métrologie**

19

LP 3 – Echantillonnage



## MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE (1/2)

Qualification d'un échantillonnage : réduction de la masse du lot

### ECHANTILLONNAGE PROBABILISTE



quand il donne à tous les éléments constitutifs du lot une égale probabilité d'être sélectionnés

### ECHANTILLONNAGE NON-PROBABILISTE



quand il résulte d'un choix déterministe des éléments retenus ou quand il donne aux éléments constitutifs d'un certain sous ensemble du lot une probabilité nulle d'être sélectionnés

➤ Préférence pour l'échantillonnage probabiliste sinon perte d'information = conséquence sur fiabilité des résultats

20

LP 3 – Echantillonnage



## MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE (2/2)

### ECHANTILLON PONCTUEL



échantillons discrets représentatifs de la qualité de l'eau qu'à l'instant et à l'endroit du prélèvement



### ECHANTILLON PRELEVE DE MANIERE DISCONTINU



dépendance du temps (intervalle de temps et volume fixes)  
dépendance du volume (à chaque unité de volume écoulé)  
dépendance du débit (intervalle de temps constant et volume fonction du débit)



21

LP 3 – Echantillonnage

CRÉER  
LA  
CONFIANCE



## ECHANTILLONNAGE AU LABORATOIRE

S  
O  
U  
S  
-  
é  
c  
h  
a  
n  
t  
i  
l  
l  
o  
n  
s

Echantillon brut ou primaire



Echantillon de Laboratoire  
ou de travail

**Intégrité de l'échantillon :** Nécessité de bien maîtriser la « propreté » des matériels utilisés pour la préparation des échantillons

### CONSERVATION

- type de flaconnage (plastique, verre) = évite pertes par adsorption, diffusion,
- température (ambiante, réfrigération, congélation),
- protection lumière = évite la photo dégradation de certaine molécules organiques,
- ajout de stabilisant,
- humidité,
- contaminations croisées.

### TAILLE ET QUANTITE DEPENDENT DE

- concentration de l'analyte,
- sensibilité de la méthode,
- performances de l'équipement analytique.

22

LP 3 – Echantillonnage

CRÉER  
LA  
CONFIANCE



## CONCLUSION

Un échantillon DOIT être REPRESENTATIF du milieu duquel il est issu et au regard de la grandeur suivie

Conception d'une stratégie

- ▶ visant à réduire au minimum l'hétérogénéité de distribution
- ▶ intégrant les contraintes technico-économiques de l'étude

Choix d'une technique de prélèvement

- ▶ assurant l'intégrité de chaque échantillon récolté
- ▶ adaptée au type de lot, au polluant, au type d'information recherché

## Validation de Méthodes

### SÉLECTIVITÉ - SPÉCIFICITÉ

## SÉLECTIVITÉ (VIM)

Propriété d'un système de mesure, utilisant une procédure de mesure spécifiée, selon laquelle le système fournit des valeurs mesurées pour un ou plusieurs mesurandes, telles que les valeurs de chaque mesurande sont indépendantes des autres mesurandes ou d'autres grandeurs dans le phénomène, le corps ou la substance en cours d'examen

25

LP 3 – Sélectivité spécificité



## FD V 01-000 (DÉCEMBRE 1999)

### SELECTIVITE

Aptitude d'un **élément de la méthode** d'analyse (appareil de mesure, milieu de culture, etc.) à discerner un analyte donné dans un mélange complexe.

### SPECIFICITE

Propriété d'une **méthode d'analyse** de convenir exclusivement à la caractéristique ou à l'analyte, avec la garantie que le résultat de la méthode d'analyse ne provient que de l'analyte.

Très souvent la spécificité se fonde sur une absence d'interférences.

NOTE On obtient la spécificité par différents moyens. Elle peut être inhérente à la technique (par exemple : identification par spectrométrie infrarouge ou spectrométrie de masse), elle peut être obtenue par séparation préalable (par exemple : chromatographie), de façon mathématique (par exemple : résolution d'équations simultanées) ou de façon biochimique (réactions à l'aide d'enzymes).

26

LP 3 – Sélectivité spécificité



## CE QUI DIT LA NORME NF T90-210

### § 5.4 Etude des interférences

- S'appuyer sur une revue bibliographique ...concernant l'analyte, la technique analytique et la matrice.
- Le laboratoire doit démontrer la mise en œuvre des moyens adaptés à la mise en évidence d'éventuelles interférences et à leur prise en compte
- Identifier les interférences :
  - Spécifiques : directement sur la réponse de l'analyte (variation pente étalonnage, effets de sels, variation de rendements d'ionisation...)
  - Non spécifiques : présence d'un composé (différent de l'analyte) qui produit un signal y compris en l'absence de l'analyte.

27

LP 3 – Sélectivité spécificité



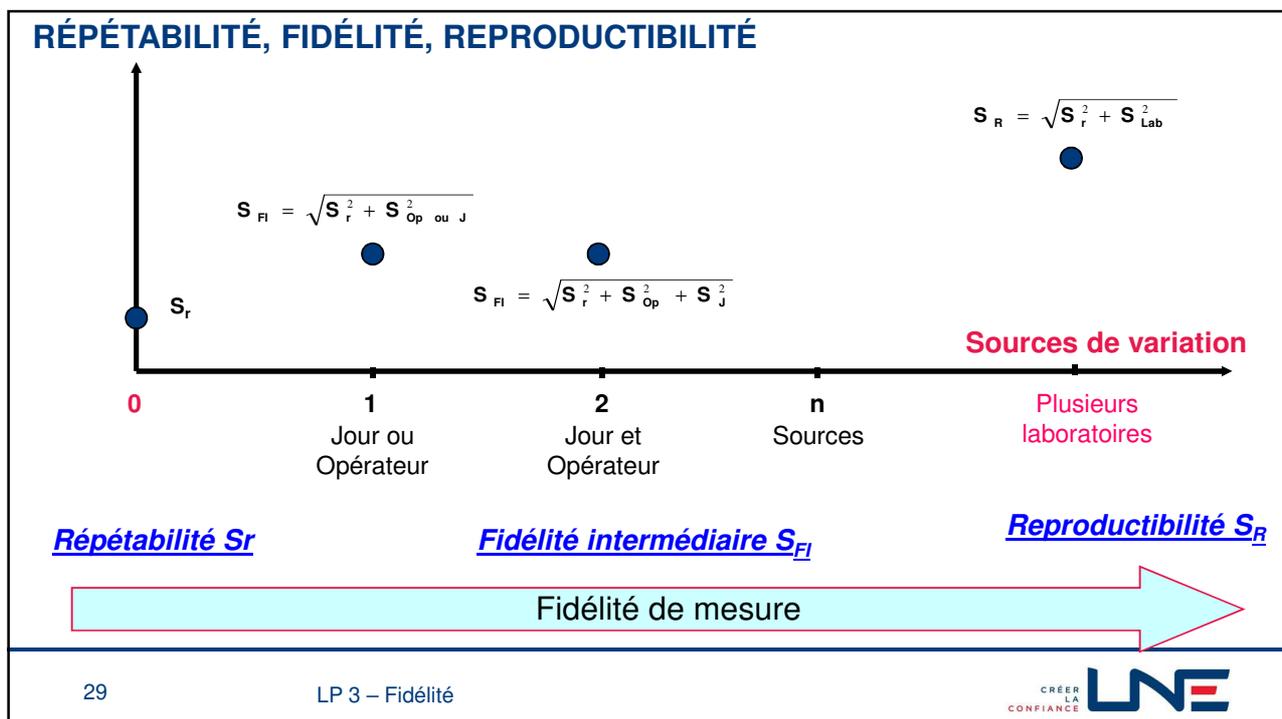
## Validation de Méthodes

### FIDÉLITÉ

28

LP 3 – Fidélité





## RÉPÉTABILITÉ

Répétabilité (VIM, §2.21)

Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité

Conditions de répétabilité (VIM, §2.20)

Conditions de mesure dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps.

Écart-type de répétabilité (NF T 90-210 § 3.2.2.1)

Écart-type de nombreuses répétitions obtenues dans un seul laboratoire par un même opérateur sur un même instrument, c'est-à-dire dans des conditions de répétabilité.

**Lorsqu'une de ces conditions varie (par exemple l'opérateur), il s'agit de fidélité intermédiaire**

## FIDÉLITÉ INTERMÉDIAIRE (1/2)

### Fidélité intermédiaire de mesure (VIM, §2.23) :

Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de fidélité intermédiaire.

### Conditions de fidélité intermédiaire (VIM, §2.22)

Conditions de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, le même lieu et des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une période de temps étendue, mais peuvent comprendre d'autres conditions que l'on fait varier.

**NOTE 1** Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre de nouveaux **étalonnages, étalons**, opérateurs et **systèmes de mesure**.

**NOTE 2** Il convient qu'une spécification relative aux conditions contienne, dans la mesure du possible, les conditions que l'on fait varier et celles qui restent inchangées.

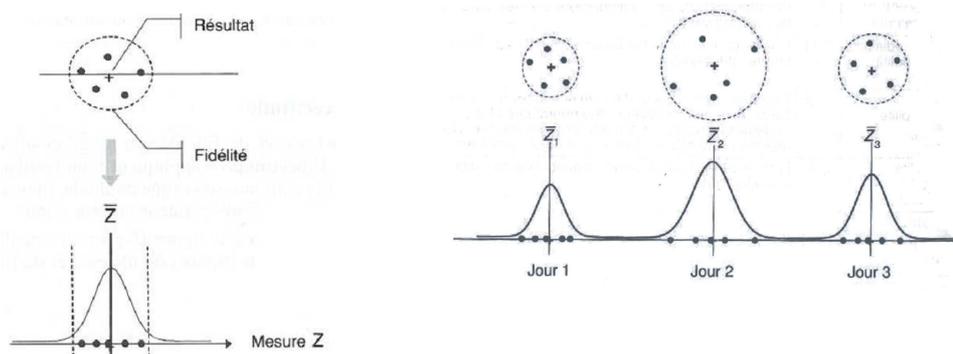
**NOTE 3** En chimie, on utilise quelquefois le terme « condition de fidélité inter-série » pour désigner ce concept.

31

LP 3 – Fidélité



## FIDÉLITÉ INTERMÉDIAIRE (2/2)



Concept de **fidélité intermédiaire** : utile pour la validation interne des méthodes

- variations : jours ou opérateurs ou réglages instrumentaux...
- répétabilité et reproductibilité intra laboratoires = 1 seul laboratoire impliqué

32

LP 3 – Fidélité



## REPRODUCTIBILITÉ

### Reproductibilité (VIM §2.25)

Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de reproductibilité.

### Conditions de reproductibilité (VIM, § 2.24)

Condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires.

### Écart type de reproductibilité

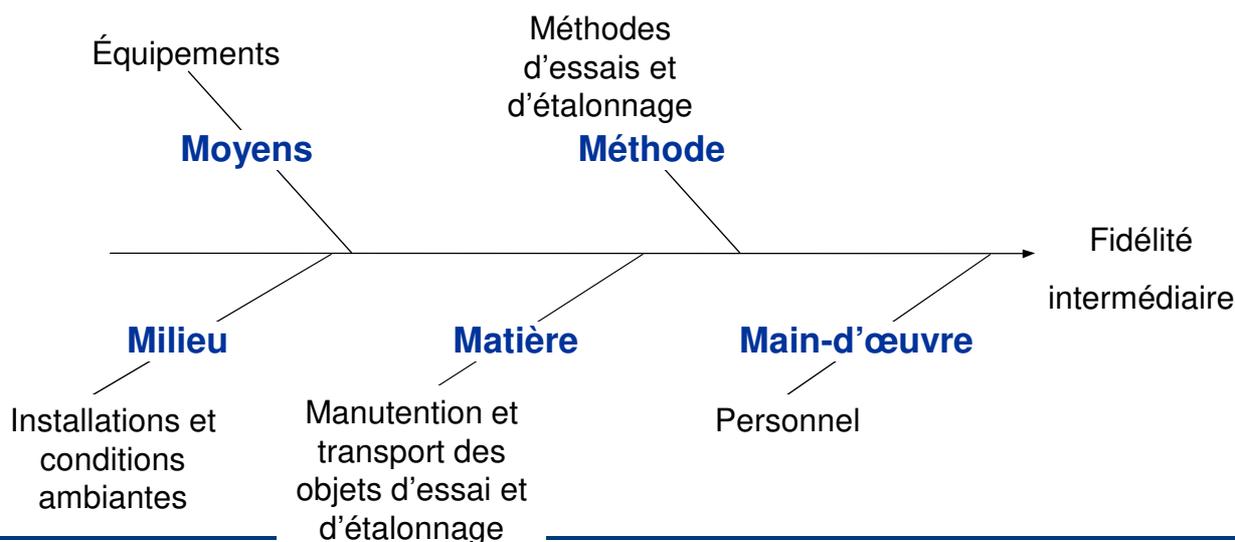
Utilisé pour les analyses inter-laboratoires (normes NF/ISO 5725) pour méthodes utilisées par un grand nombre de laboratoires à des fins de comparaison (exemple : méthodes normalisées)

33

LP 3 – Fidélité



## PRINCIPALES SOURCES DE VARIATION



34

LP 3 – Fidélité



## Validation de Méthodes

### FONCTION D'ÉTALONNAGE

35

LP 3 – Fonction d'étalonnage



### QUESTION

Quelle est la différence entre étalonnage et calibration ?



~~CALIBRATION~~

36

LP 3 – Fonction d'étalonnage



## ETALONNAGE

### VIM (2012, §2.39)

Opération qui, dans des conditions spécifiées, établit en une première étape une relation entre les **valeurs** et les **incertitudes de mesure** associées qui sont fournies par des **étalons** et les **indications** correspondantes avec les incertitudes associées, puis utilise en une seconde étape cette information pour établir une relation permettant d'obtenir un **résultat de mesure** à partir d'une indication.

**Note 1 :** Un étalonnage peut être exprimé sous la forme d'un énoncé, d'une fonction d'étalonnage, d'un **diagramme d'étalonnage**, d'une **courbe d'étalonnage** ou d'une table d'étalonnage. Dans certains cas, il peut consister en une **correction** additive ou multiplicative de l'indication avec une incertitude de mesure associée.

**Note 2 :** Il convient de ne pas confondre l'étalonnage avec **l'ajustage d'un système de mesure**, souvent appelé improprement « auto-étalonnage », ni avec la **vérification** de l'étalonnage.

**Note 3 :** La seule première étape dans la définition est souvent perçue comme étant l'étalonnage.

37

LP 3 – Fonction d'étalonnage



## DIFFÉRENTES FONCTIONS D'ÉTALONNAGE



Détermination de la concentration de pesticides par HPLC/MS<sup>2</sup>

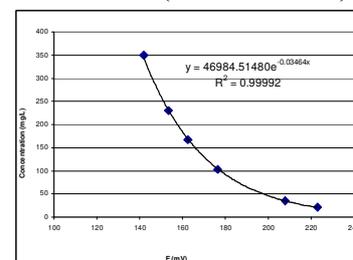
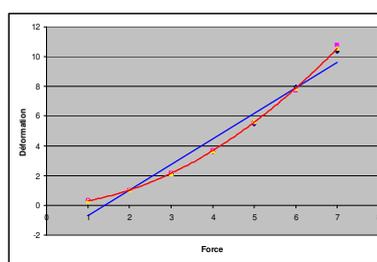
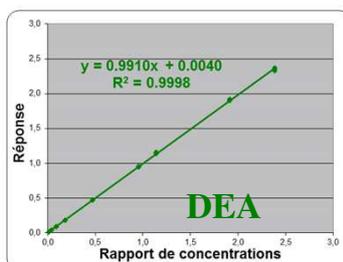
Etalonnage d'un dynamomètre

Détermination de la concentration en chlorures (électrode sélective)

$$\text{Signal} = b_0 + b_1 \times \text{grandeur mesurée}$$

$$\text{Signal} = b_0 + b_1 \times \text{grandeur mesurée} + b_2 \times \text{grandeur mesurée}^2$$

$$\text{Signal} = b_0 + b_1 \times \ln(\text{grandeur mesurée})$$



38

LP 3 – Fonction d'étalonnage



## ETALONNAGE

Que faire ?

39

LP 3 – Fonction d'étalonnage

## ETUDE DE LA FONCTION D'ÉTALONNAGE : §5.1.

### Comment

- Choix de  $k \geq 5$  niveaux de concentration dans le domaine d'étalonnage correspondant au domaine d'application
- Préparer et analyser  $p \geq 5$  gammes d'étalonnage dans des conditions de fidélité intermédiaire
- Données :
  - Calculées à partir des valeurs d'information
  - Fournies par les appareils
- Tableaux pour soutenir l'interprétation
- Interprétation
  - Approche EMA<sub>étalonnage</sub>
  - Approche statistique globale

Tableau 1 — Organisation des essais : plan A  
Tableau des valeurs d'informations obtenues sur des étalons de concentration théorique

	Etalon de concentration théorique				
	Niv 1	...	Niv j	...	Niv k
Gamme n°1					
...					
Gamme n°j			$y_j$		
...					
Gamme n°p					

Où  $y_j$  est la  $i^{\text{ème}}$  valeur d'information pour l'étalon de niveau  $j$  de concentration théorique  $x_{ij}$ .

40

LP 3 – Fonction d'étalonnage

## DIFFÉRENTS TABLEAUX

Tableau 2 — Tableau des concentrations calculées

	Étalon de grandeur théorique				
	Niv 1	...	Niv j	...	Niv k
Gamme n°1					
...					
Gamme n°i			$\hat{x}_{ij}$		
...					
Gamme n°p					

A partir de ces données, construire le Tableau 3

Tableau 3 — Tableau des différences

	Étalon de concentration théorique				
	Niv 1	...	Niv j	...	Niv k
Gamme n°1					
...					
Gamme n°i			$d_{ij} = \hat{x}_{ij} - x_{ij}$		
...					
Gamme n°p					
Moyenne des différences			$\bar{d}_j$		
Écart-type des différences			$s_{d_j}$		

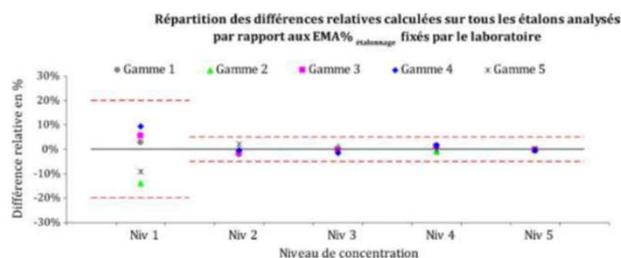


Figure 1 — Exemple de l'approche EMA<sub>étalonnage</sub>

Tableau 4 — Test d'adéquation à la fonction d'étalonnage

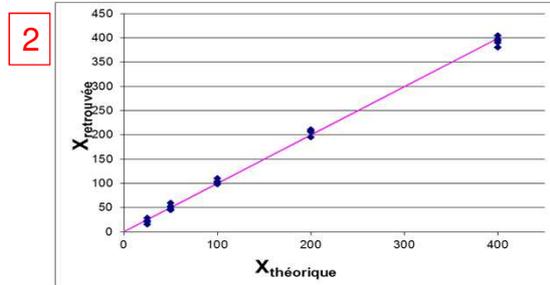
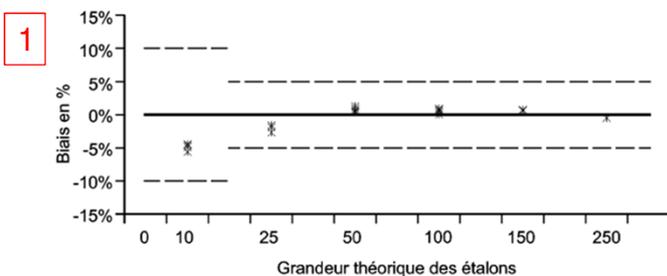
Sources de variation	Sommes des carrés d'écart	Degrés de liberté	Variances	Critère calculé	Valeur critique au risque $\alpha = 1\%$
Modèle	$SCE_{mod}$	$k$	$s_{mod}^2 = \frac{SCE_{mod}}{k}$	$C_{mod} = \frac{s_{mod}^2}{s_{exp}^2}$	$FC_{mod} = F(k, k(p-1), \alpha)$
Expérimentale	$SCE_{exp}$	$k(p-1)$	$s_{exp}^2 = \frac{SCE_{exp}}{k(p-1)}$		
Totale	$SCE_{tot}$	$kp$			

## ETUDE DE LA FONCTION D'ÉTALONNAGE : §5.1.

### Objectifs

Evaluation de la fonction soit par comparaison :

1. Des différences observées sur chaque étalon à des EMA<sub>étalonnage</sub>
2. De l'erreur de modèle observée à l'erreur expérimentale observée



## COMMENT FIXER L'EMA ?.

### Solution de référence certifiée

- EMA = incertitude de la solution certifiée (au minimum)

### Exigence réglementaire ou normative

- $U_{\max} < 50 \%$ , prélèvement, fidélité, rendement d'extraction..
- EMA = 3 %

### Limites d'une carte de contrôle

- Données acquises lors du développement par exemple
- Calcul de la moyenne et de l'écart-type  $s$
- EMA =  $3 \times s$

43

LP 3 – Fonction d'étalonnage



## CE QUI DIT LA NORME NF T90-210

### Avertissement

Ne pas confondre le test d'adéquation au modèle et le test de signification de la régression

### Actions ultérieures

Si fonction non acceptée :

- Réalisation d'un nouveau test en réduisant le domaine
- Le domaine peut être segmenté en plusieurs domaines
- Une autre fonction d'étalonnage est envisagée s'appliquant mieux à la méthode, réalisation à nouveau du processus.

44

LP 3 – Fonction d'étalonnage



## TRAÇABILITÉ DES ÉTALONS (1/2)

### NF ISO 17025 § 6.4.6.

**6.4.6** Les équipements de mesure doivent être étalonnés lorsque:

- l'exactitude de mesure ou l'incertitude de mesure affectent la validité des résultats rapportés; et/ou
- l'étalonnage de l'équipement est exigé afin d'établir la traçabilité métrologique des résultats rapportés.

**NOTE** Les types d'équipement ayant un effet sur la validité des résultats rapportés peuvent comprendre:

- ceux utilisés pour un mesurage direct du mesurande, par exemple l'utilisation d'une balance pour effectuer une mesure de masse;
- ceux utilisés pour apporter des corrections à la valeur mesurée, par exemple les mesures de la température;
- ceux utilisés pour obtenir un résultat de mesure calculé à partir de plusieurs grandeurs.

## TRAÇABILITÉ DES ÉTALONS (2/2)

### NF ISO 17025 § 6.5 : traçabilité métrologique

**6.5.1** Le laboratoire doit établir et maintenir la traçabilité métrologique de ses résultats de mesure au moyen d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure, tout en reliant ces résultats à une référence appropriée.

**NOTE 1** Dans le Guide ISO/IEC 99, la traçabilité métrologique est définie comme étant la «propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure».

**NOTE 2** Voir l'[Annexe A](#) pour des informations complémentaires sur la traçabilité métrologique.

**6.5.2** Le laboratoire doit assurer la traçabilité des résultats de mesure par rapport au Système international d'unités (SI) au moyen

- a) d'un étalonnage assuré par un laboratoire compétent, ou

**NOTE 1** Les laboratoires répondant aux exigences du présent document sont considérés comme étant compétents.

- b) de valeurs certifiées de matériaux de référence certifiés fournies par un producteur compétent, avec une traçabilité métrologique au SI déterminée, ou

**NOTE 2** Les producteurs de matériaux de référence qui satisfont aux exigences de l'ISO 17034 sont considérés comme étant compétents.

- c) de réalisations directes des unités SI garanties au moyen d'une comparaison, effectuée directement ou indirectement, avec des étalons nationaux ou internationaux.

**NOTE 3** Des précisions sur la mise en pratique des définitions de quelques unités importantes sont données dans la Brochure SI.

**6.5.3** Lorsqu'il est techniquement impossible d'établir la traçabilité métrologique aux unités SI, le laboratoire doit démontrer la traçabilité métrologique à une référence appropriée, par exemple:

- a) les valeurs certifiées des matériaux de référence certifiés fournies par un producteur compétent;
- b) les résultats de la mise en œuvre de procédures de mesure de référence, de méthodes spécifiées ou de normes consensuelles clairement décrites et acceptées comme fournissant des résultats de mesure aptes à l'emploi prévu et garantis par une comparaison appropriée.

## Validation de Méthodes

### EXACTITUDE

47

LP 3 – Exactitude



### EXACTITUDE/JUSTESSE

#### Exactitude (VIM §2.13)

Étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'un mesurande

#### Notes

1. L'exactitude de mesure n'est pas une grandeur et ne s'exprime pas numériquement. Un mesurage est quelquefois dit plus exact s'il fournit une plus petite erreur de mesure.
2. Il convient de ne pas utiliser le terme « exactitude de mesure » pour la justesse de mesure et le terme « fidélité de mesure » pour l'exactitude de mesure. Celle-ci est toutefois liée aux concepts de justesse et de fidélité.
3. L'exactitude de mesure est quelquefois interprétée comme l'étroitesse de l'accord entre les valeurs mesurées qui sont attribuées au mesurande.

#### Justesse (VIM §2.14)

Étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence

#### Notes

1. La justesse de mesure n'est pas une grandeur et ne peut donc pas s'exprimer numériquement, mais l'ISO 5725 donne des caractéristiques pour l'étroitesse de l'accord.
2. La justesse de mesure varie en sens inverse de l'erreur systématique mais n'est pas liée à l'erreur aléatoire.
3. Il convient de ne pas utiliser le terme « exactitude de mesure » pour la justesse de mesure et vice versa.

48

LP 3 – Exactitude



### EXACTITUDE/JUSTESSE

Ni juste ni fidèle

Fidèle mais pas juste

Juste mais pas fidèle

Juste et fidèle

49 LP 3 – Exactitude

CRÉER LA CONFIANCE **LINE**

### EXACTITUDE/JUSTESSE

JUSTESSE  
Erreurs systématiques

FIDÉLITÉ  
Erreurs aléatoires

EXACTITUDE  
Erreur totale

Valeur de Référence

Résultats des mesurages

$x_j$  Résultat d'un mesurage

$m$

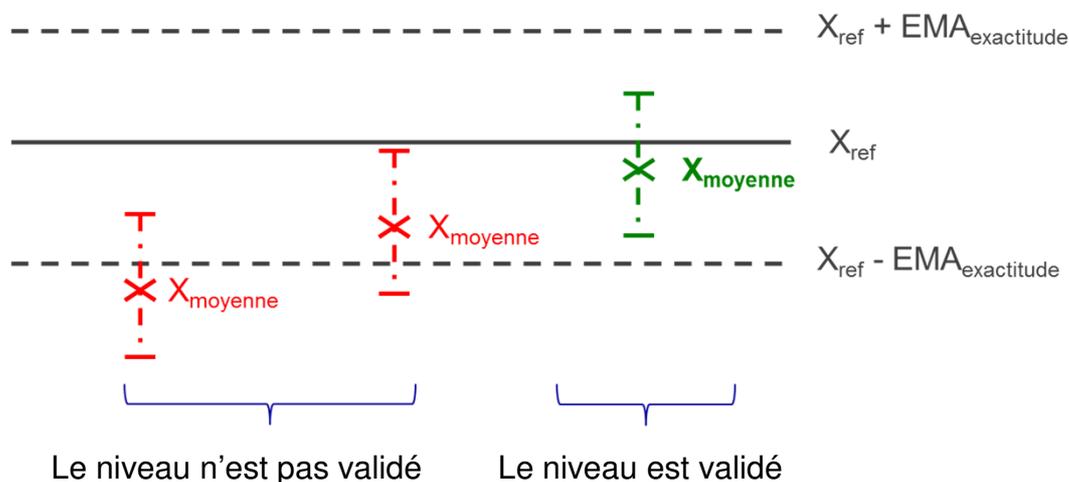
Une interprétation de l'exactitude =  
écart entre un mesurage individuel et la valeur de référence

50 LP 3 – Exactitude

CRÉER LA CONFIANCE **LINE**

## NF T90-210 : OBJECTIFS

Pour chaque niveau, étude menée sur des échantillons jugés représentatifs



51

LP 3 – Exactitude

CRÉER  
LA  
CONFIANCE

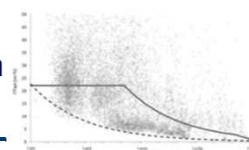
## NF T90-210 : ORGANISATION DE L'ÉTUDE D'EXACTITUDE (1/2)

Définir  $k \geq 3$  niveaux de concentration :

- Niveau bas : soit limite basse , soit la limite de quantification présumée
- Niveau moyen
- Niveau haut

Pour chaque niveau :

- EMA imposé : issu d'une exigence réglementaire ou normative, guide technique, exigence client
- EMA fixé par la NF T90-210 : 60 % d'exactitude à la LQ
- EMA défini par le laboratoire à partir :
  1. de la reproductibilité interlaboratoires d'une méthode normalisée
  2. des essais d'aptitude : écart-type
  3. du modèle développé par Horwitz et modifié par Thompson
  4. De son expérience, sa connaissance



52

LP 3 – Exactitude

CRÉER  
LA  
CONFIANCE

## NF T90-210 : ORGANISATION DE L'ÉTUDE D'EXACTITUDE (2/2)

### Sélection des échantillons

- Pour chaque niveau, 6 échantillons représentatifs avec même valeur de référence

Pour estimer l'exactitude d'une méthode = valeur de référence assignée à un échantillon de validation :

- Matériau de référence certifié (COMAR : <http://www.comar.bam.de/en/>)
- Méthode de référence
- Ajouts / Rendements
- Essais inter laboratoires (EPTIS : <http://www.eptis.bam.de/en/index.htm>)

53

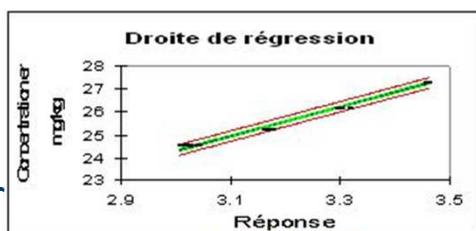
LP 3 – Exactitude

## LES DIFFÉRENTS TYPES DE MATÉRIAUX DE RÉFÉRENCE

Substances de haute pureté et solutions étalons



ETALONNAGE DE L'INSTRUMENT DE MESURE



Matériaux de Référence à matrice



CARACTERISATION DE LA METHODE

Valeur de référence ( $x_{ref}$ )

Valeur mesurée ( $x_i$ )

$$E_N = \frac{\bar{x}_i - x_{ref}}{\sqrt{u_i^2 + u_{ref}^2}} < 2$$

54

LP 3 – Exactitude

## MR / MRC : QUELLE DIFFÉRENCE? (1/2)

**Matériau de référence**, MR (VIM, 5,13) matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne des propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue pour un mesurage ou pour l'examen de propriétés qualitatives

NOTE 2 Des matériaux de référence avec ou sans **valeurs** assignées peuvent servir à contrôler la **fidélité de mesure**, tandis que seuls des matériaux à valeurs assignées peuvent servir à l'**étalonnage** ou au contrôle de la **justesse de mesure**.

**Matériau de référence certifié**, MRC (VIM, 5,14)

matériau de référence, accompagné d'une documentation **délivrée par un organisme faisant autorité** et fournissant une ou plusieurs valeurs de propriétés spécifiées avec **les incertitudes et les traçabilités associées**, en utilisant des procédures valables

NOTE 2 Des procédures pour la production et la certification de matériaux de référence certifiés sont données, par exemple, dans les **Guide ISO 34 et Guide ISO 35**.

NOTE 4 Les valeurs de grandeurs spécifiées des matériaux de référence certifiés exigent une traçabilité métrologique avec une incertitude de mesure associée (voir Accred. Qual. Assur.:2006).

55

LP 3 – Exactitude



## MR / MRC : QUELLE DIFFÉRENCE? (2/2)

Type de matériau	Ce que cela permet de faire	Ce que cela ne permet pas de faire
Matériau de référence avec valeur certifiée	<ul style="list-style-type: none"> <li>MRC étalon (composés purs, étalon de haute pureté) : Démontrer /Etablir la traçabilité métrologique des mesures Démontrer fidélité + justesse = exactitude de l'étalonnage</li> <li>MRC en matrice: Démontrer fidélité + justesse = exactitude de la méthode Construire des cartes de contrôle</li> </ul>	
Matériau de référence	<ul style="list-style-type: none"> <li>Démontrer la fidélité</li> <li>Développement de méthode</li> <li>Démontrer le maintien des compétences dans le temps</li> <li>Construire des cartes de contrôle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Démontrer la traçabilité métrologique des mesures</li> <li>Démontrer la justesse de l'étalonnage ou de la méthode</li> </ul>

56

LP 3 – Exactitude



## COMMENT RECONNAÎTRE UN MRC?

**Certified Mass Fraction Values for Selected PAHs:** The certified mass fraction values in Table 1 are for selected PAHs and are reported on a dry-mass basis.

Table 1. Certified Mass Fraction Values (Dry-Mass Basis) for Selected PAHs in SRM 1649b

	Mass Fractions <sup>(a)</sup> (mg/kg)
4H-Cyclopenta[ <i>de</i> ]phenanthrene <sup>(b,c,d,e)</sup>	0.255 ± 0.023
Pyrene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	4.98 ± 0.14
1-Methylfluoranthene <sup>(b,c,d)</sup>	0.114 ± 0.015
3-Methylfluoranthene <sup>(b,c,d)</sup>	0.328 ± 0.031
1-Methylpyrene <sup>(b,c,d)</sup>	0.363 ± 0.005
Retene <sup>(b,c,d)</sup>	0.238 ± 0.011
Benzo[ <i>c</i> ]phenanthrene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	0.460 ± 0.013
Chrysene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	3.045 ± 0.028
Triphenylene <sup>(f,g)</sup>	1.324 ± 0.004
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthene <sup>(b,d)</sup>	6.18 ± 0.18
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthene <sup>(b,d)</sup>	1.725 ± 0.043
Benzo[ <i>h</i> ]fluoranthene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	1.702 ± 0.049
Benzo[ <i>a</i> ]pyrene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	2.974 ± 0.053
Perylene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	0.614 ± 0.011
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pyrene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	2.89 ± 0.16
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracene <sup>(b,c,d,e)</sup>	0.305 ± 0.027
Benzo[ <i>g</i> ]chrysene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	0.339 ± 0.043
Picene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	0.399 ± 0.022
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]fluoranthene <sup>(b,c,d,e,f)</sup>	0.670 ± 0.053
Dibenzo[ <i>a,e</i> ]pyrene <sup>(b,c,d,e)</sup>	0.567 ± 0.025

<sup>(a)</sup> The certified values are weighted means of the mass fractions from multiple analytical methods [18]. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean [19,20], with coverage factor,  $k=2$ , calculated by combining within method variances with a between method variance [20] following the ISO/IEC Guides [21,22]. The measurand is the total mass fraction for the PAHs listed in Table 1. **Metrolological traceability is to the SI derived unit for mass fraction (expressed as milligrams per kilogram on a dry-mass basis).**

<sup>(b)</sup> GC/MS (Ia) on a 50 % phenyl-substituted methylpolysiloxane phase after Soxhlet extraction with dichloromethane.

<sup>(c)</sup> GC/MS (Ib) on a proprietary relatively non-polar phase using same extracts as GC/MS (Ia).

<sup>(d)</sup> GC/MS (Ic) on a dimethyl 50 % liquid crystal polysiloxane phase using same extracts as GC/MS (Ia).

<sup>(e)</sup> GC/MS (IIa and IIb) on a proprietary relatively non-polar phase after PFE at 100 °C and at 200 °C with dichloromethane at 13.8 MPa.

<sup>(f)</sup> GC/MS (III) on a 50 % phenyl-substituted methylpolysiloxane phase after PFE at 100 °C with dichloromethane at 13.8 MPa.

<sup>(g)</sup> GC/MS (IV) on a proprietary relatively non-polar phase after PFE with toluene at 100 °C and 13.8 MPa, 150 °C and 13.8 MPa, 200 °C and 13.8 MPa, and 200 °C and 20.7 MPa.

## Certificate of Analysis Certipur® Reference Material

ICP Multi Element Standard Solution IV Certipur®  
L11355.010

Lot-No. OC486693

This product is intended for use as a reference material in atomic spectrometry. It has been produced from high purity salts, using gravimetric procedures. The concentration of the elements in this solution is analysed by ICP-OES real-time internal standardization using NIST standard reference materials for calibration.

Composition and concentration	NIST Standard Reference Material
Ag (Silver)	SRM 3151 Batch Code 982212
Al (Aluminium)	SRM 3101a Batch Code 310708
B (Boron)	SRM 3107 Batch Code 991937
Ba (Barium)	SRM 3104a Batch Code 925937
Bi (Bismuth)	SRM 3106 Batch Code 992212
Ca (Calcium)	SRM 3109a Batch Code 000422
Co (Cobalt)	SRM 3108 Batch Code 890312
Cr (Chromium)	SRM 3113 Batch Code 000330
Cu (Copper)	SRM 3112a Batch Code 990607
Fe (Iron)	SRM 3114 Batch Code 891611
Ga (Gallium)	SRM 3156a Batch Code 000506
In (Indium)	SRM 3119a Batch Code 890709
K (Potassium)	SRM 3114a Batch Code 982219
Li (Lithium)	SRM 3113a Batch Code 893312
Mg (Magnesium)	SRM 3129a Batch Code 000505
Mn (Manganese)	SRM 3132a Batch Code 981107
Na (Sodium)	SRM 3132 Batch Code 890503
Ni (Nickel)	SRM 3127a Batch Code 890907
Pb (Lead)	SRM 3116a Batch Code 000512
Se (Selenium)	SRM 3125a Batch Code 991504
Tl (Thallium)	SRM 3158a Batch Code 990906
Zn (Zinc)	SRM 3169a Batch Code 001402

Matrix: Nitric acid 1 mol/l  
Density: 1.090 g/ml (20°C)  
Package: 100 ml PE-bottles

It is recommended to shake the solution thoroughly prior to use. Never pipet directly from the bottle. Prepare working solutions upon requirement by dilution with 1 molar nitric acid.

Date of release: 29. July 2004

Minimum shelf life: 31. August 2007

*W. Gernand*  
Wolfgang Gernand  
(responsible laboratory manager quality control)

CRÉER LA CONFIANCE 

## AJOUT CONNU OU RENDEMENT

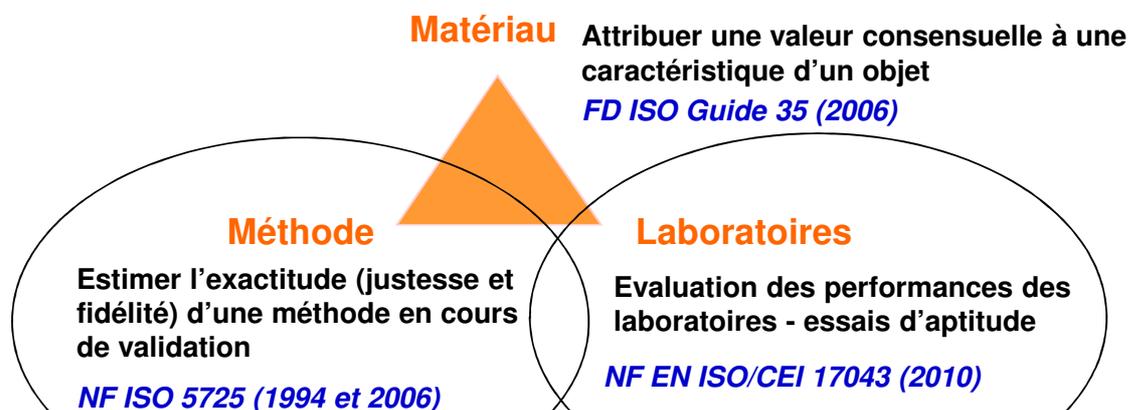
La méthode est divisée en 3 étapes :

- Echantillon analysé seul
- Echantillon analysé avec un ajout d'une quantité connu
- Vérification de la justesse : comparaison du rendement moyen par rapport au biais relatif maximum acceptable

Attention : toutes les sources d'erreur ne sont pas évaluées

## COMPARAISONS INTER LABORATOIRES

### 3 objectifs possibles:



59

LP 3 – Exactitude



## NF T90-210 : RÉALISATION DES ESSAIS

Analyse pour chaque niveau des échantillons avec  $p \geq 6$  séries d'analyses dans des conditions de fidélité intermédiaire. Dans chaque série,  $n \geq 2$  répétitions dans des conditions de répétabilité du processus

### NF T90-210 : ESTIMATION DES PARAMÈTRES

	Niveau 1		Niveau $k$
Valeur de référence	$REF_1$		$REF_k$
Incertitude-type sur la valeur de référence	$u_{REF1}$		$u_{REFk}$
$EMA_{exactitude}$	$EMA_1$		$EMA_k$
Nombre de séries	$p_1$		$p_k$
Nombre de répétitions par série	$n_1$		$n_k$
Moyenne générale	$\bar{z}_1$		$\bar{z}_k$
Biais	$b_1$		$b_k$
Biais relatif	$b_1\%$		$b_k\%$
Écart-type de fidélité intermédiaire	$S_{FL1}$		$S_{FLk}$
CV de fidélité intermédiaire en %	$CV_{FL1}$		$CV_{FLk}$

60

LP 3 – Exactitude

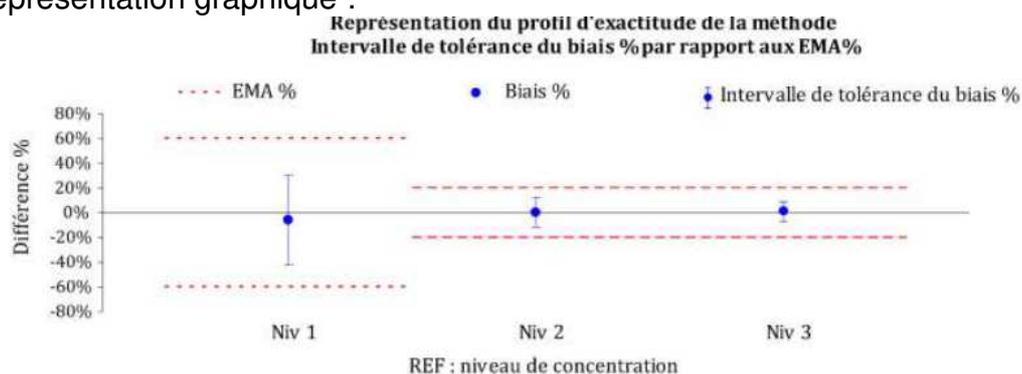


## NF T90-210 : INTERPRÉTATION

Pour chaque niveau, s'assurer de :  $\bar{z} - 2 \times S_{FI} > REF - EMA$

$$\bar{z} + 2 \times S_{FI} < REF + EMA$$

Représentation graphique :



61

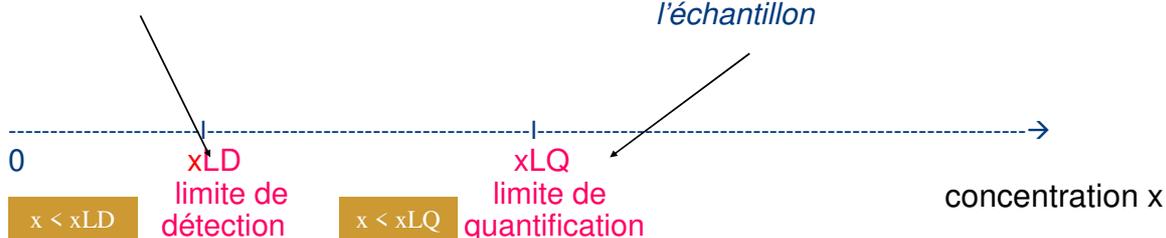
LP 3 – Exactitude



## LIMITE DE DÉTECTION, LIMITE DE QUANTIFICATION

**capacité de détection :**  
*aptitude à détecter la présence de l'analyte dans l'échantillon*

**capacité de quantification :**  
*aptitude à détecter l'analyte et à quantifier sa concentration dans l'échantillon*



Diversité des pratiques :

- appellation, définition et méthode de calcul des limites
- expression des résultats proches des limites

62

LP 3 – Exactitude



## VALIDATION

### Déterminer ces limites

- étape 1 : estimer
- étape 2 : vérifier

Certaines normes traitent seulement de l'étape de vérification  
(ex : vérifier une limite de quantification issue d'une réglementation)

### Utiliser ces limites

- analyser des traces
- comparer des techniques entre elles
- montrer qu'une méthode est apte à doser la quantité d'analyte réglementée

 connaissance plus ou moins fine de ces limites

63

LP 3 – Exactitude

CRÉER  
LA  
CONFIANCE 

## MÉTHODES D'ESTIMATION DE LA LQ

### •Approche répétabilité donnée

1) la répétabilité à la LQ est généralement de 10%

$$y_{LQ} = 10 * s(y_{LQ}) \quad (\text{IUPAC})$$

2) Extensions / Modifications

- utilisation de s( blanc ) → approche Signal / Bruit  
 $y_{LQ} = k * s(\text{ blanc }) \quad k = 5,6 \text{ ou } 10$   
 correct si la répétabilité est constante de 0 à  $y_{LQ}$ .
- utilisation de l'incertitude-type relative,  $u(y_{LQ})\%$

### •Approche étalonnage

$x_{LQ}$  est le 1<sup>er</sup> point d'étalonnage

### •Détermination simultanée des 2 limites

$$x_{LD} = x_{LQ}/3 \quad \text{ou} \quad x_{LQ} = x_{LD} * 3$$

### ***Approche répétabilité données***

#### •Procédure

- ✓ préparer des solutions dont la concentration varie de LD à 2-3 fois la LQ
- ✓ mesurer au minimum 10 fois chaque solution
- ✓ calculer la répétabilité relative de chaque solution
- ✓ modéliser l'évolution du RSD en fonction de la concentration (courbe de Horwitz)
- ✓ la LQ est obtenue à RSD = 10%

#### •Exemple

Dosage du plomb total dans les emballages par ICP après minéralisation acide sous micro-ondes

64

LP 3 – Exactitude

CRÉER  
LA  
CONFIANCE 

### EXEMPLE DES DIFFÉRENTES APPROCHES

Analyses de pesticides par LC/MS<sup>2</sup>

Approches	1	2	3
DEA	0,012	0,013	0,013
Isoproturon	0,002	0,006	0,003

- 1 : rapport signal/bruit
- 2 : rapport signal/bruit avec étude dispersion
- 3 : utilisation d'une droite d'étalonnage

Limites de quantification exprimées en pg/μl

Différentes approches ⇔ résultats cohérents

### DIFFÉRENTES LIMITE DE DÉTECTION, LIMITE DE QUANTIFICATION



#### REPRESENTATIVITE DE L'ECHANTILLON



## NF T90-210 : ETUDE DES RENDEMENTS

Si étalons subissent l'intégralité du processus d'analyses, pas de nécessité à évaluer ce facteur

En utilisant les données de l'évaluation de l'exactitude : estimer les rendements.

	Niveau 1		Niveau $k$
Valeur de référence	$REF_1$		$REF_k$
Moyenne générale	$\bar{z}_1$		$\bar{z}_k$
Biais relatif	$b_1\%$		$b_k\%$
Rendement en %	$Rend_1\%$		$Rend_k\%$

Acceptabilité ? Correction ?

67

LP 3 – Exactitude



## Validation de Méthodes

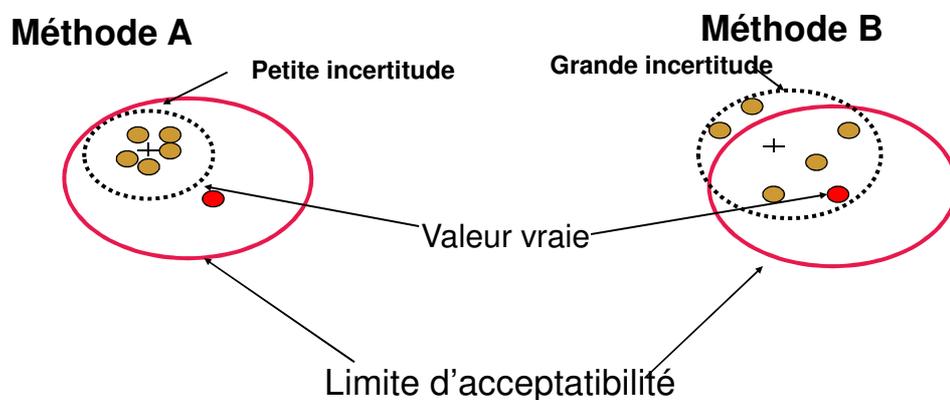
### PROFIL D'EXACTITUDE

68

LP 3 – Profil d'exactitude



## PROFIL D'EXACTITUDE : POURQUOI ?



Sans limite d'acceptabilité : risque de déclarer une méthode non valide

Stage ME33

69

## DÉFINITIONS NF V03-110

### Profil d'exactitude:

Combinaison sous une forme graphique d'un ou plusieurs intervalles de tolérance d'espérance  $\beta$  calculés à différents niveaux de concentration et d'un ou plusieurs intervalles d'acceptabilité

### Intervalle de tolérance d'espérance $\beta$ :

Intervalle qui contient en moyenne une proportion  $\beta\%$  définie de futurs mesurages obtenus selon un mode opératoire donné pour une concentration donnée

### Intervalle d'acceptabilité :

Spécification de la performance exigée de la méthode, exprimée comme un écart acceptable autour de la valeur de référence

## PROFIL D'EXACTITUDE : PROCÉDURE DE VALIDATION SELON NF V 03 110

1. Définition de la quantité mesurée
2. Définition des objectifs
3. Sélection des échantillons de validation
4. Plan de validation
5. Plan d'étalonnage
6. Réalisation des essais
7. Calcul des critères de validation
8. Construction du profil
9. Calculs des concentrations retrouvées
10. Interprétation du profil

71

LP 3 – Profil d'exactitude



## PROFIL D'EXACTITUDE : OBJECTIFS

1. Définition de la quantité mesurée (mesurande)
2. Définition des objectifs
  - Domaine de validation
  - Limites d'acceptabilité
    - législation
    - pratiques de la profession
    - de façon empirique
    - à partir de la limite de quantification

L'objectif est d'obtenir des estimations correctes et de minimiser le risque tant au niveau du producteur de résultat que du futur utilisateur

72

LP 3 – Profil d'exactitude



**PROFIL D'EXACTITUDE : PRODUCTION DE PREUVES****3. Sélection des échantillons de validation**

- choix de la matrice : stabilité et homogénéité
- choix des valeurs de référence :
  - MRC, MRE, MRI
  - échantillons dopés
  - méthode de référence

**Sinon : valeur moyenne ou médiane mais alors pas d'estimation du biais de justesse**

73

LP 3 – Profil d'exactitude

**PROFIL D'EXACTITUDE : PRODUCTION DE PREUVES****4. Plan de validation**

**Organisation des essais selon le mode utilisé en routine**

**La norme s'appuie sur la NF ISO 5725-2**

**5. Plan d'étalonnage**

**Le plan doit refléter au mieux la pratique de routine**

**Construction du plan très semblable à NF T 90-210**

74

LP 3 – Profil d'exactitude



## PROFIL D'EXACTITUDE : PRODUCTION DE PREUVES

### 6. Réalisation des essais

#### Calcul des critères de performances pour construire le profil

- ➡ Respecter les conditions de fidélité intermédiaire
- ➡ Couvrir le domaine d'application
- ➡ Synchroniser les plans d'étalonnage et de caractérisation

75

LP 3 – Profil d'exactitude



## PROFIL D'EXACTITUDE : CONSTRUCTION DU PROFIL

### 7. Calculs des concentrations prédites inverses

**Calcul des modèles d'étalonnage** : le modèle est calculé pour chaque série, il prend en compte les variations inter-séries

**Calcul des concentrations retrouvées à partir de la fonction inverse** : la synchronisation des plans d'étalonnage et de validation est fondamentale pour cette étape

### 8. Calcul des intervalles de validation par niveau

**Calcul des critères de justesse par série** : exprimés par des biais

**Calcul des critères de justesse et fidélité par niveau**

**Calcul des intervalles de tolérance**

76

LP 3 – Profil d'exactitude



## PROFIL D'EXACTITUDE : CONSTRUCTION DU PROFIL

### 9. Construction du profil d'exactitude

Le profil peut être construit de différentes façon suivant les données disponibles

### 10. Interprétation

La méthode s'appuie sur 2 concepts complémentaires :

- La limite d'acceptabilité qui sert à chiffrer les objectifs de la méthode, le plus souvent issue de la réglementation
- L'intervalle de tolérance qui délimite un intervalle dans lequel se trouvera en moyenne une proportion de futures mesures ; il caractérise les mesurages et non pas une statistique

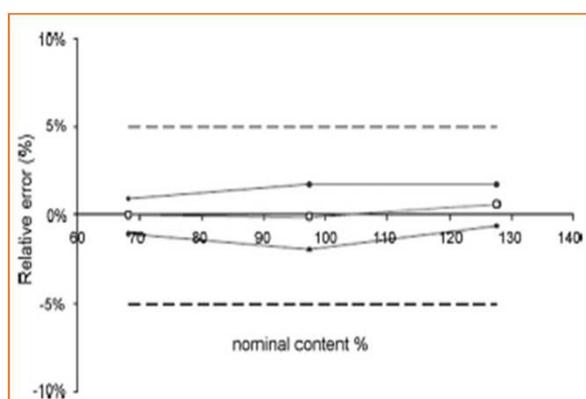
77

LP 3 – Profil d'exactitude

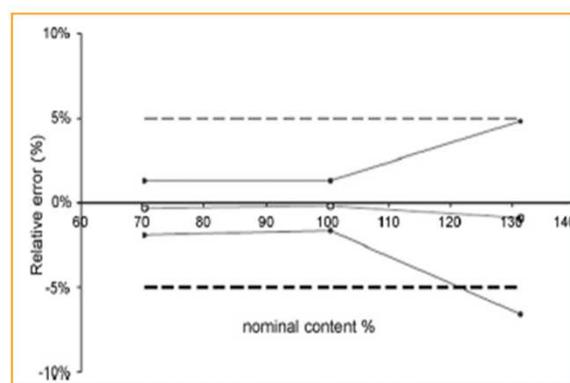


## PROFIL D'EXACTITUDE : EXEMPLE 1

Détermination de substances actives par HPLC dans un comprimé



Composé A



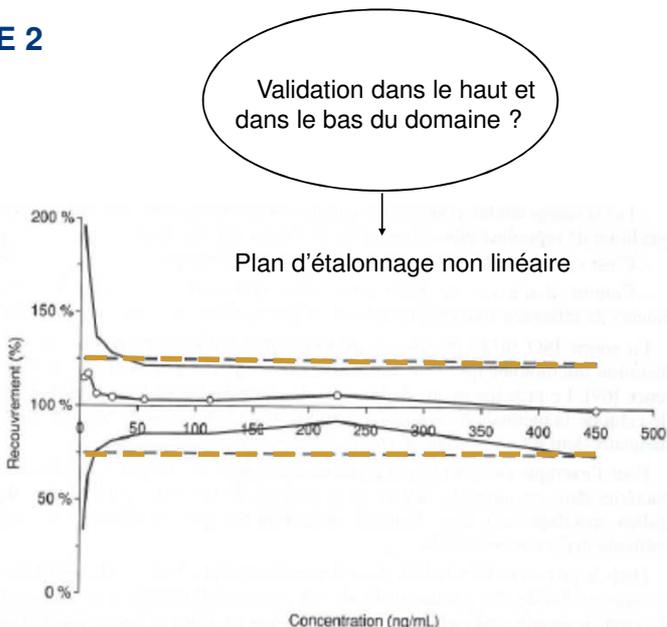
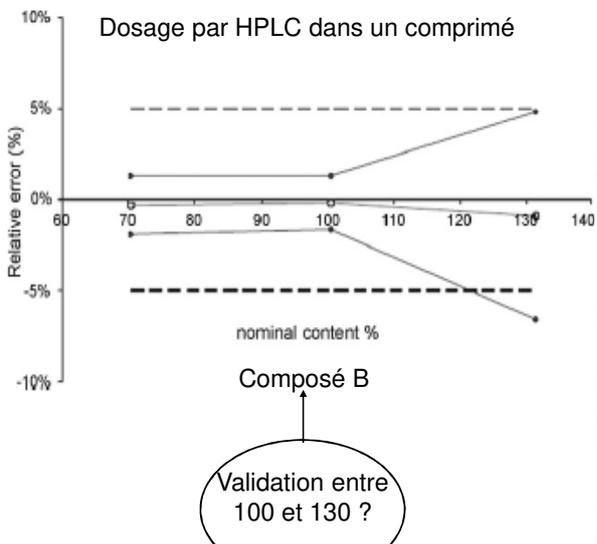
Composé B

78

LP 3 – Profil d'exactitude



### PROFIL D'EXACTITUDE : EXEMPLE 2



### PROFIL D'EXACTITUDE : POINTS À RETENIR

3 étapes importantes :



Définition des objectifs de la méthode



Production de preuves tangibles



Vérification de l'adéquation des critères

## Validation de Méthodes

### PROFIL D'EXACTITUDE : LIMITE DE QUANTIFICATION

81

LP 3 – Profil d'exactitude



## INTRODUCTION

### Principe du profil d'exactitude :

- a) intervalle de tolérance qui contient une proportion  $\beta$  de futurs résultats  
intervalle calculé via l'estimation de l'erreur totale (biais + fidélité) de la méthode
- b) intervalle d'acceptabilité
- c) méthode validée dans le domaine où l'intervalle de tolérance est compris dans les limites d'acceptabilité.

### Quid des définitions et du calcul des limites ?

#### 1) Limite de quantification

- . définition de la LQ compatible
- . exemple de la LQ
- . conclusion sur la LQ

#### 2) Limite de détection

- . la LD serait en dehors de ce contexte basé sur la quantification
- . néanmoins, définition et informations sur le calcul pas toujours cohérentes

82

LP 3 – Profil d'exactitude



## LIMITE DE QUANTIFICATION

Définition ( Pr NF V 03 – 110, § 3.2 – 28) :

"Plus petite et/ou plus grande concentration de l'analyte pouvant être quantifiée dans des conditions expérimentales décrites de la méthode.

Elle correspond à la concentration la plus petite et/ou la plus grande du domaine de validité. Voir Annexe E.

Annexe E : " .. il existe une concentration à partir de laquelle au-moins une des bornes de l'intervalle de tolérance coupe une des limites d'acceptabilité. .. Tout naturellement, on peut proposer de définir ce seuil comme la limite de quantification (LQ) de la méthode."

### Commentaires

-> définition proche

Domaine de validité : les futurs résultats fournis par la méthode sont jugés valides

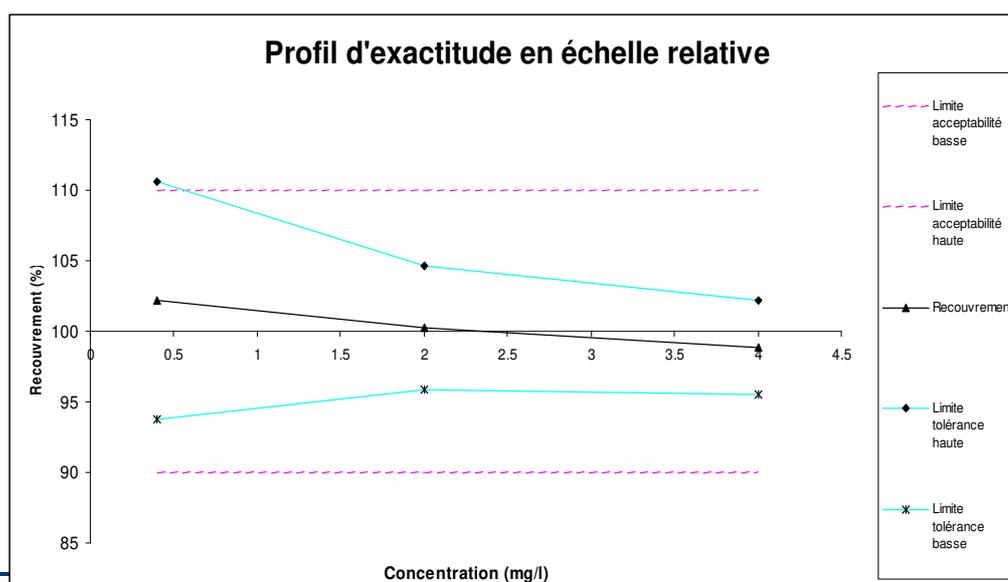
En pratique, la limite de quantification est déterminée par l'intersection entre la limite d'acceptabilité et la limite de tolérance (qu'il s'agisse des limites supérieures ou des limites inférieures)

83

LP 3 – Profil d'exactitude



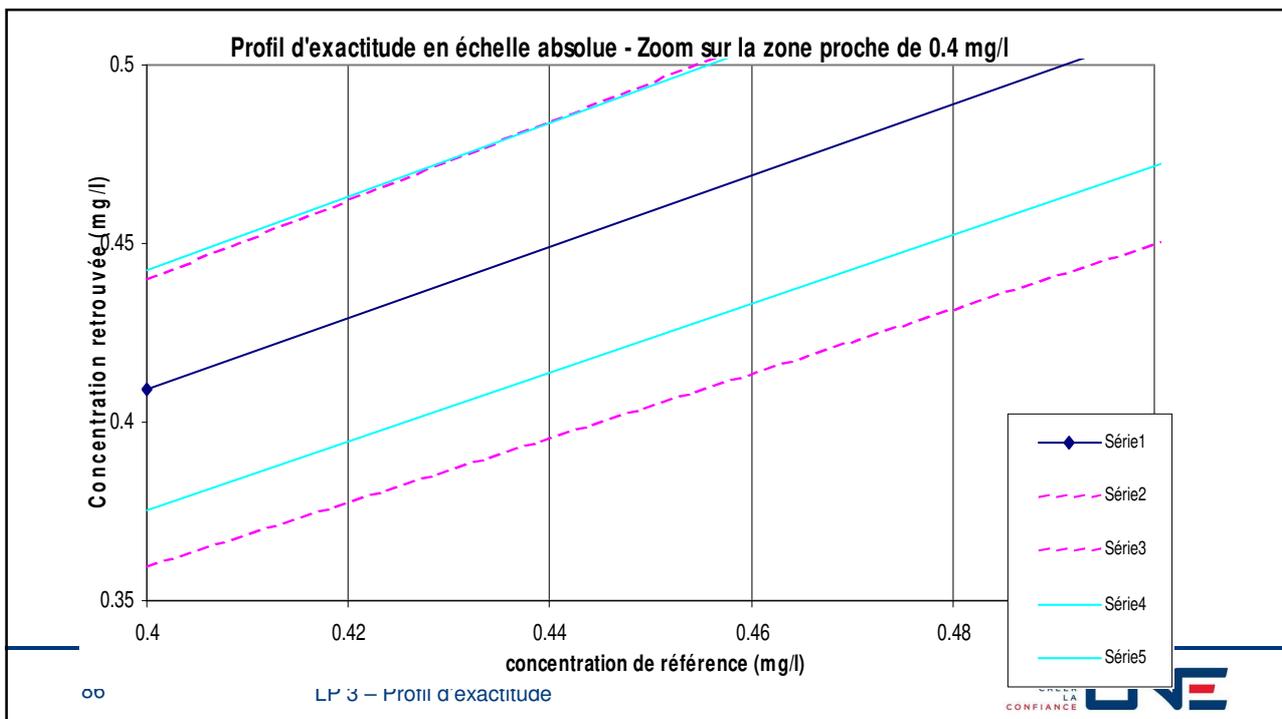
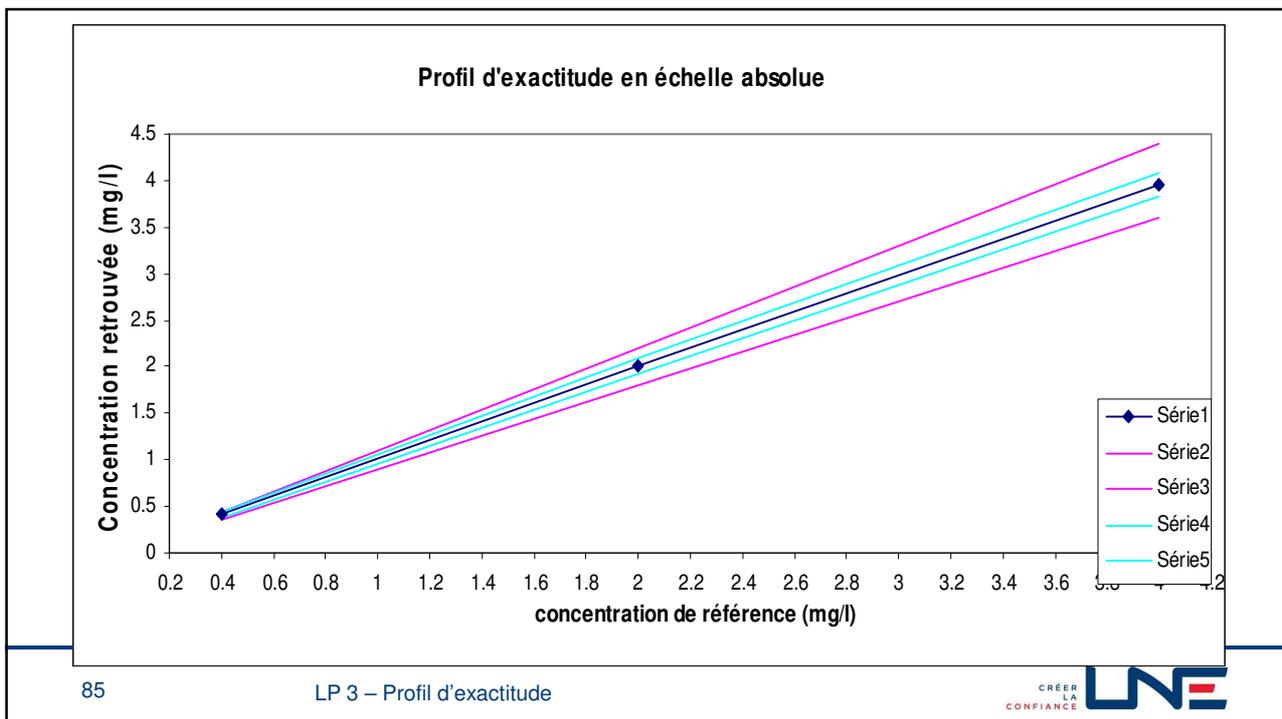
## EXEMPLE



84

LP 3 – Profil d'exactitude









CRÉER  
LA  
CONFIANCE

LICENCE PROFESSIONNELLE : MÉTROLOGIE CHIMIQUE ET NUCLÉAIRE

## EVALUATION DES INCERTITUDES

DR BÉATRICE LALERE

Février 2020

LABORATOIRE  
NATIONAL  
DE MÉTROLOGIE  
ET D'ESSAIS



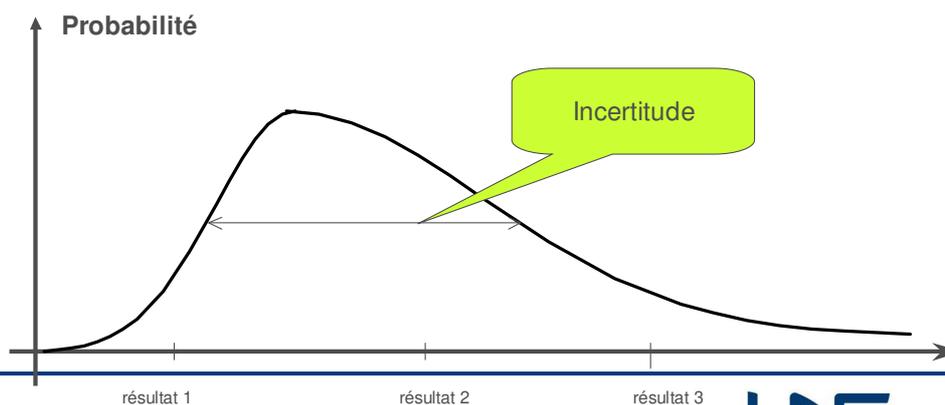
## Incertitude de mesure selon la NF ISO 11352

### INCERTITUDES : GÉNÉRALITÉS

## RÉSULTAT DE MESURE

Ensemble de valeurs attribuées à un mesurande complété par toute autre information pertinente disponible

Le résultat de mesure n'est pas une valeur unique, mais une distribution de valeurs

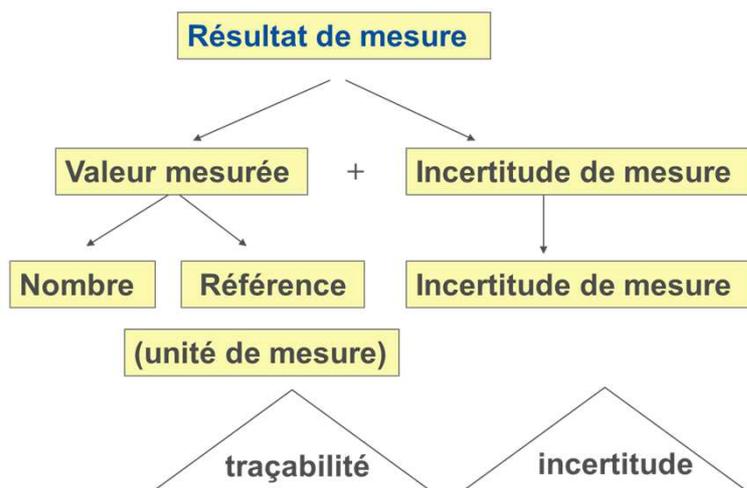


91

LP 3 – Incertitudes

CRÉER  
LA  
CONFIANCE

## CONCEPT DE BASE



92

LP 3 – Incertitudes

CRÉER  
LA  
CONFIANCE

## INCERTITUDE

VIM (§ 2.26) : Paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées.

93

LP 3 – Incertitudes



## COMMENT ÉVALUER L'INCERTITUDE?

Guide 98-3 : Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure :

- *4 étapes*
- *Modèle*

NF ISO 11352 :

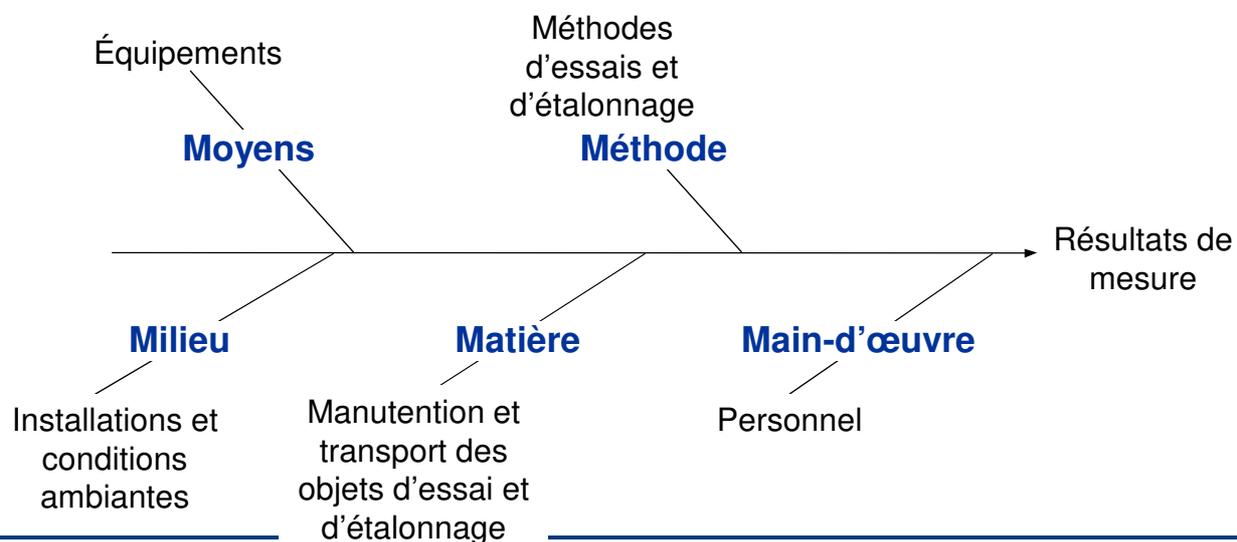
- *Approche basée sur les résultats du contrôle qualité et sur des données de validation*
- *Combinaison d'une estimation de la fidélité et de l'incertitude associée au biais*

94

LP 3 – Incertitudes



## PRINCIPAUX FACTEURS D'INFLUENCE



95

LP 3 – Incertitudes



## Incertitude de mesure selon la NF ISO 11352

INCERTITUDES : NF ISO 11352 (2012)

96

LP 3 – Incertitudes



## PRINCIPES

- Incertitude déterminée pour un ensemble de résultats de mesures similaires
- Conditions contrôlées
- Mesurande
- Mode opératoire de mesure
- Domaine d'application de la méthode analytique (matrices, plages de concentration)
- Estimation de l'incertitude basée sur les résultats du contrôle analytique et les données de validation qui permettent d'estimer la fidélité intermédiaire et le biais

### Incertitude-type composée

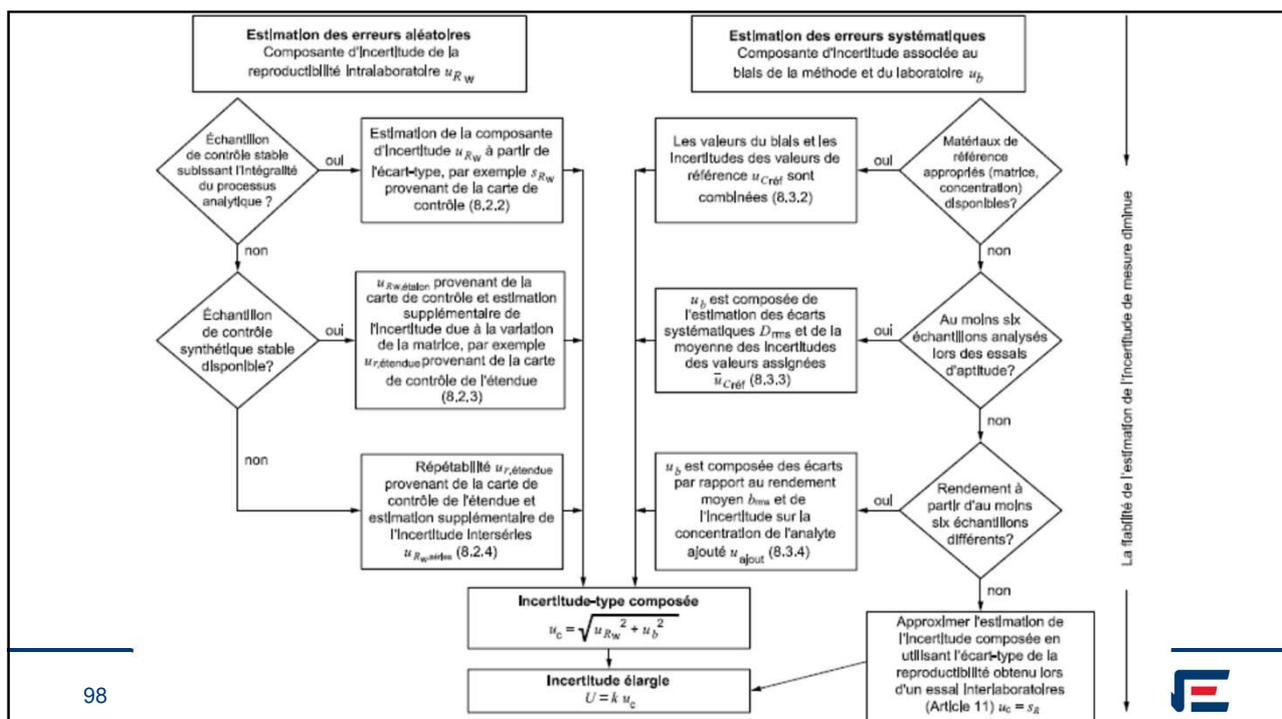
$$u_c = \sqrt{u_{RW}^2 + u_b^2}$$

Avec :

- $u_{RW}$  : incertitude liée à la fidélité intermédiaire
- $u_b$  : incertitude liée au biais

97

LP 3 – Incertitudes



98



## Incertitude de mesure selon la NF ISO 11352

### EVALUATION DES DONNÉES DE FIDÉLITÉ INTERMÉDIAIRE ET DU BIAIS

99

LP 3 – Incertitudes



### DONNÉES DISPONIBLES

- Fidélité intermédiaire ?
- Biais ?

100

LP 3 – Incertitudes



## DONNÉES DISPONIBLES

- Données représentatives du :
  - Mode opératoire : prise en compte de la totalité du processus
  - Fidélité : toutes les conditions de réalisation (opérateurs, appareils...)
  - Type de mesure : toutes matrices et interférences

101

LP 3 – Incertitudes



## Incertitude de mesure selon la NF ISO 11352

### EVALUATION DE LA FIDÉLITÉ INTERMÉDIAIRE

102

LP 3 – Incertitudes



## DONNÉES DISPONIBLES

- Echantillons de contrôle subissant l'intégralité du processus
  - $u_{R_w} = s_{R_w}$  avec  $s_{R_w}$  écart-type des résultats QC
- Utilisation de solutions étalons comme échantillons de contrôle qualité
  - $u_{R_w} = \sqrt{u_{R_w, \text{étalon}}^2 + u_{r, \text{étendue}}^2}$  avec
    - $u_{R_w, \text{étalon}}$  solution étalon comme échantillon de contrôle qualité
    - $u_{r, \text{étendue}}$  carte de contrôle de l'étendue
- Echantillons de contrôles instables
  - $u_{R_w} = \sqrt{u_{r, \text{étendue}}^2 + u_{R_w, \text{séries}}^2}$
  - $u_{r, \text{étendue}}$  carte de contrôle de l'étendue
  - $u_{R_w, \text{séries}}$  résultant des variations interséries

103

LP 3 – Incertitudes

## CARTE DE CONTRÔLE DE L'ÉTENDUE

- Echantillons dopés subissant l'intégralité du processus
- Minimum 8 mesures et minimum de 2 répétitions
- Etendue relative :

$$R_{j,rel} = \frac{x_{i,max} - x_{i,min}}{\bar{x}_j}$$

- J : nombre de séries de mesures

$$u_{r, \text{étendue}} = \frac{\bar{R}_{rel}}{d_2}$$

Nombre de valeurs ayant servi à calculer l'étendue	Facteur $d_2$
2	1,128
3	1,693
4	2,059
5	2,326

104

LP 3 – Incertitudes

## Incertitude de mesure selon la NF ISO 11352

### EVALUATION DES DONNÉES DU BIAIS

105

LP 3 – Incertitudes



### DONNÉES DISPONIBLES

- Analyses de matériaux de référence appropriés
- Participation à des comparaisons inter laboratoires
- Etudes de rendement avec des échantillons appropriés

106

LP 3 – Incertitudes



## MATÉRIAUX DE RÉFÉRENCE

- Matériaux analysés dans au moins six séries d'analyses
- Estimation fiable : plusieurs matériaux de référence couvrant le domaine d'application

### Plusieurs Matériaux de référence

$$u_b = \sqrt{\bar{u}_{C_{réf}}^2 + b_{rms}^2} \quad \text{avec} \quad b_{rms} = \sqrt{\frac{\sum (b_i)^2}{n_r}}$$

- $u_{C_{réf}}$  : incertitude moyenne des valeurs de référence
- $b_{rms}$  : moyenne quadratique des valeurs individuelles du biais
- $b_i$  : différence entre la valeur moyenne mesurée et la valeur consensuelle de référence du ième matériau de référence
- $n_r$  : nombre de matériaux de référence

### Un Matériau de référence

$$u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{s_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{C_{réf}}^2}$$

- $b$  : différence entre la valeur moyenne mesurée et une valeur consensuelle de référence
- $s_b$  : écart-type des valeurs mesurées pour le matériau de référence
- $n_M$  : nombre de mesurages du biais sur le matériau de référence
- $u_{C_{réf}}$  : incertitude sur la valeur de référence

107

LP 3 – Incertitudes



## PARTICIPATION À DES ESSAIS INTER LABORATOIRES

- Bonne estimation de la valeur de référence
- 6 échantillons différents minimum

$$u_b = \sqrt{D_{rms}^2 + \bar{u}_{C_{réf}}^2}$$

$D_{rms}$   
moyenne quadratique des différences

$$D_{rms} = \sqrt{\frac{\sum D_i^2}{n_{ilc}}}$$

Avec :

- $D_i$  : différence entre le résultat de mesure et la valeur assignée au ième échantillon
- $n_{ilc}$  : nombre d'échantillons analysés lors d'EIL

$\bar{u}_{C_{réf}}$   
incertitude moyenne des valeurs assignés

$$\bar{u}_{C_{réf}} = \frac{\sum u_{C_{réf},i}}{n_{ilc}}$$

- Si médiane ou moyenne robuste :

$$u_{C_{réf},i} = 1,25 \times \frac{S_{R,i}}{\sqrt{n_{p,i}}}$$

- Si moyenne arithmétique :  $u_{C_{réf},i} = \frac{S_{R,i}}{\sqrt{n_{p,i}}}$

Avec :

- $u_{C_{réf},i}$  : u de l'échantillon i
- $S_{R,i}$  : écart-type de reproductibilité pour échantillon i

108

LP 3 – Incertitudes



## RENDEMENTS

- 6 échantillons différents de la matrice pertinente

$$u_b = \sqrt{b_{rms}^2 + u_{ajout}^2}$$

$b_{rms}$  : différence entre le rendement observé et le rendement théorique

$$b_{rms} = \sqrt{\frac{\sum b_i^2}{n_n}}$$

- $b_i$  : différence obtenue pour la  $i^{\text{ème}}$  étude de rendement
- $n_n$  : nombre d'études de rendement

$u_{ajout}$  : incertitude sur la concentration de l'analyte ajouté

## L'INCERTITUDE DE MESURE

- Estimation doit être la plus représentative possible
- Plusieurs valeurs pour l'incertitude dans le domaine d'application

L'incertitude élargie s'obtient en multipliant l'incertitude composée par un facteur d'élargissement  $k$

$$U = k u_c(y)$$

La valeur du facteur d'élargissement est choisie sur la base du niveau de confiance requis pour l'intervalle  $[y - U, y + U]$ , en général  $k = 2$  (95%)

## COMBIEN DE CHIFFRES SIGNIFICATIFS ?

$$C = 118,9 \mu\text{mol} / \text{mol} \pm 1,2 \mu\text{mol} / \text{mol}$$

2 chiffres  
significatifs

Pour la valeur numérique du résultat, le dernier chiffre à retenir est celui qui à la même position que le deuxième chiffre significatif dans l'expression de l'incertitude

111

LP 3 – Incertitudes



## RÈGLES D'ARRONDISSEMENT

L'arrondissement consiste à remplacer un nombre donné par un autre nombre, appelé le nombre arrondi, sélectionné dans la série des multiples entiers d'un intervalle d'arrondissement choisi

- ❑ Règle 1 : s'il n'y a qu'un seul multiple entier qui soit le plus voisin du nombre donné, c'est alors ce multiple qui est pris comme nombre arrondi
- ❑ Règle 2 : s'il existe deux multiples entiers également voisins du nombre donné, le multiple de rang pair est choisi comme nombre arrondi

### Exemple 1

Intervalle d'arrondissement 0,1

Nombre donné	Nombre arrondi
12,223	12,2
12,251	12,3
12,27	12,3

### Exemple 2

Intervalle d'arrondissement 0,1

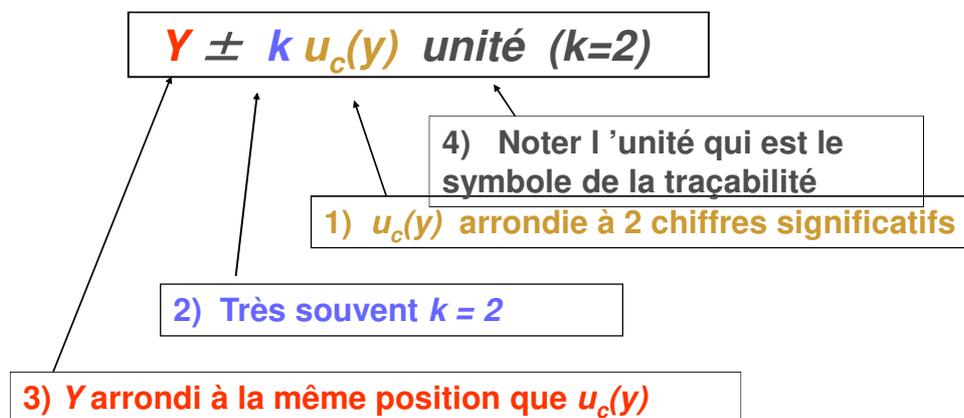
Nombre donné	Nombre arrondi
12,25	12,2
12,35	12,4

112

LP 3 – Incertitudes



## EN RÉSUMÉ



113

LP 3 – Incertitudes



## Validation de Méthodes

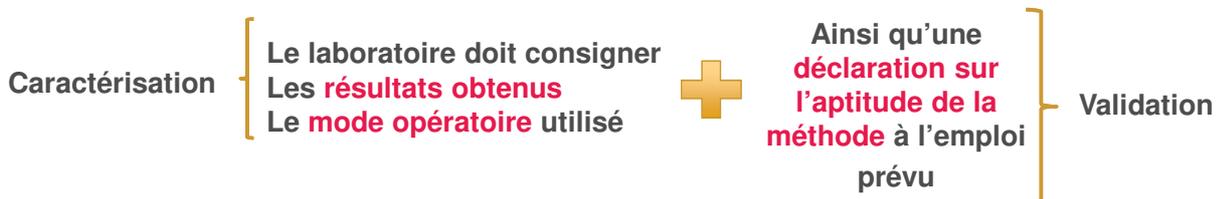
### DOSSIER DE VALIDATION

114

LP 3 – Exactitude



## LES EXIGENCES DE LA NORME ISO / CEI 17025 (§ 5.2.2.4)



7.2.2.4 Le laboratoire doit conserver les enregistrements de validation suivants:

- la procédure de validation utilisée;
- la spécification des exigences;
- la détermination des caractéristiques de performance de la méthode;
- les résultats obtenus;
- une déclaration relative à la validité de la méthode, donnant des précisions sur son aptitude à l'emploi prévu.

115

LP 3 – Dossier de validation



## PERSONNEL (§ 6.2.6 NF EN ISO/IEC 17025)

6.2.6 Le laboratoire doit autoriser des membres de son personnel à exécuter des activités de laboratoire spécifiques, comprenant, sans toutefois s'y limiter, les activités suivantes:

- développement, modification, vérification et validation des méthodes;
- analyse des résultats, y compris les déclarations de conformité ou les avis et interprétations;
- compte rendu, revue et approbation des résultats.

116

LP 3 – Dossier de validation



## FORMALISATION

### Méthode :

- Une définition claire et non ambiguë du domaine d'application

### Dossier :

- La liste des caractéristiques utilisées pour définir les performances (caractéristiques de la méthode)
  - Le ou les modes opératoires utilisés pour valider la méthode
  - Les résultats techniques des opérations de validation
- Un dossier par méthode

### Validation :

- Adéquation, déclaration de l'aptitude

**1 dossier par méthode**

117

LP 3 – Dossier de validation



## SURVEILLANCE D'UNE MÉTHODE

Cartes de contrôle (MRC par exemple)

§ 7.7.2 (NF EN ISO/IEC 17025)

Essai inter laboratoires



Outil incontournable pour assurer la qualité des mesures

Redondance des mesures

Participation à des essais obligatoire quand ils existent (accréditeurs)

118

LP 3 – Dossier de validation



# Des questions

119

Date

