

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1

FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE



Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en pharmacie

Intitulé :

Comparaison entre deux guidelines de validation analytique (Application à un historique des données)

Présenté et soutenu par :

- ❖ LOUNIS FERAL
- ❖ DOUKHI FAICAL
- ❖ DJERD MOHAMMED BENSAAD

Encadré par :

Dr. BENLEGHZAL.I Maitre-assistant en Biophysique.

Jury d'évaluation :

- | | |
|--|--------------|
| ▪ Dr. IMOUDACHE.H Maitre-assistant en Chimie minéral | Président |
| ▪ Dr. BOUHAMIDA.S Maitre-Assistante en chimie analytique | Examinatrice |
| ▪ Dr. ZOUANI.A Maitre-Assistante en toxicologie | Examinatrice |

Année universitaire 2022-2023

REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous remercions Allah le tout puissant, le miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la patience afin d'accomplir ce travail modeste.

En second lieu, nous tenons à remercier vivement notre promoteur Dr. BENLEGHZAL.I Maitre- assistante en biophysique à l'Université SAAD DAHLAB de BLIDA, pour son suivi et pour son énorme soutien, qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de notre travail.

Nous sommes conscients de l'honneur que nous a fait Dr. IMOUDACHE.H président du jury et Dr. BOUHAMIDA.S examinatrice et Dr. ZOUANI.A examinatrice et nous les remercions profondément d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Enfin, nous tenon à exprimer nos sincères gratitudees à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*C'est avec profonde gratitude et
sincère mots, Je dédie ce
modeste travail de fin d'étude :*

*A ma très chère
maman **Houria**
A mon très cher
père **Mohamed***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour
éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez
consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez
depuis mon enfance.*

*Puisse Dieu, le très Haut, vous accorde santé, bonté, longue vie
Inshallah et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je
puisse vous combler de bonheur.*

*À mes adorables frères **Islam, Abd Errahmane** et mes chères sœurs
Salsabil et Soulef*

*Vous vous êtes toujours souciés de moi ; que dieu vous garde pour
moi.*

*Je dédie ce succès à l'âme de ma chère grand-mère
Soubhia, qui a toujours voulu me voir sur ce site, et à
mon grand-père **Laid**, qui se vantait toujours de mes
succès passés devant ses amis.*

*À l'âme de mon grand-père **Taher** et de ma grand-mère
Fatna de mon père aussi*

*A mon cher **Malak** qui a fait de moi son modèle dans la
vie, je vous souhaite le meilleur et le succès*

*A toute la famille **LOUNIS** et **DJEDDOU***

Nous avons pu mener ce travail à terme.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment

Ferial

Dédicace

*Je tiens avec grands plaisir à dédie ce
modeste travail :*

*À mes chers parents **Kouider** et **Zineb**
qui ont œuvré ma réussite de par leur
amour, leur soutien, tous les sacrifices
consentis et leur précieux conseils,
pour toute leur assistance et présence
dans ma vie, reçois à travers ce travail
aussi modeste soit-il, l'expression de
mes sentiments et de mon éternelle
gratitude.*

*À mes sœurs **Fatima**, **Imane** qui m'ont
soutenue et encouragée. Je leurs
souhaite tout le succès et le bonheur du
monde.*

*À mes amis **Chrif**, **Bolbol**, **Adel**,
Abdnour, **Aziz**, **Laid**, **Asaad**, **Hakim**,
Maissoum et **Tarek** qui m'ont
soutenu, on a partagé des moments
inoubliables.*

*À mon collègue **Faiçal** avec qui j'ai
partagé les meilleurs moments, et à
mes enseignants qui m'ont aidé à tracé
le chemin de réussite.*

*A mon collègue **Yasmine** merci pour
votre aide énorme tout au long de
l'année, votre soutien est vraiment
apprécié.*

Merci d'être toujours là pour moi.

Mohammed

Dédicace

*Je tiens avec grands plaisir à dédie ce
modeste travail :*

*À mes chers parents **Saad** et **Khadidja**
qui ont œuvré ma réussite de par leur
amour, leur soutien, tous les sacrifices
consentis et leur précieux conseils,
pour toute leur assistance et présence
dans ma vie, reçois à travers ce travail
aussi modeste soit-il, l'expression de
mes sentiments et de mon éternelle
gratitude.*

*À mes sœurs **Meriem**, **Djahida**,
Marwa qui m'ont soutenue et
encouragée. Je leurs souhaite tout le
succès et le bonheur du monde.*

*À mes amis **Abdelkader**, **Zaki**, **Adel**,
Abdnour, **Aziz**, **Ali**, **Asaad**, **Hakim**, et
Tarek qui m'ont soutenu, on a partagé
des moments inoubliables.*

*À mon collègue **Mohammed** avec qui
j'ai partagé les meilleurs moments, et à
mes enseignants qui m'ont aidé à tracé
Le chemin de réussite.*

*A mon amie **khaoula** merci pour
votre aide énorme tout au long de
l'année, votre soutien est vraiment
apprécié.*

Merci d'être toujours là pour moi.

Faïçal

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists.

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché.

ANDA: Abbreviated New Drug Applications

BPF: Bonnes Pratiques de Fabrication.

BPL : Bonnes Pratiques de Laboratoire.

BLA: Biologics License Applications.

CFR: Federal Code of Regulation.

CGMP: Current Good Manufacturing Practice.

EEPA: Ecole Européenne des Philosophies et Psychothérapie Appliquées.

EMA: European Medicines Agency.

FDA: Food and Drug Administration.

ICH: International Council for Harmonization.

ISO: International Organization for Standardization.

NDA: New Drug Applications.

NF: National Formulary.

SCR: Substance Chimique de Référence.

SOP: Standard Operating Procedure.

USP: United States Pharmacopeia.

FDA: Food and Drug Administration.

USP: United States Pharmacopeia.

SFSTP: Société française des sciences techniques pharmaceutique

PMA : Pharmaceutical Manufactures Association

PDV : plan directeur de validation

ANSM : Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé

Liste des figures

Numéro des Figures	Titre du Figure	Page
Figure 1	<i>La mise en œuvre d'une méthode peut se décomposer en quatre grandes phases généralement successives.</i>	18
Figure 2	<i>Cycle de vie d'une méthode d'analyse</i>	20
Figure 3	<i>Méthodologie de la validation</i>	26
Figure 4	<i>Critères et procédures de validation liés au cycle de vie d'une méthode d'analyse</i>	31
Figure 5	<i>Critères de validation</i>	31
Figure 6	<i>Fidélité et justesse.</i>	36
Figure 7	<i>Profil d'exactitude</i>	59
Figure 8	<i>Logigramme permettant de sélectionner un protocole de validation</i>	62
Figure 9	<i>Logigramme permettant de sélectionner un protocole de pré validation</i>	64

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau 1	<i>Comparaison de l'évolution de la réglementation entre l'Europe et les Etats-Unis</i>	10
Tableau 2	<i>Les différentes procédures analytiques avec leurs critères de validation selon ICH</i>	28
Tableau 3	<i>Critères de validation en fonction de type de procédure à valider.</i>	29
Tableau 4	<i>Types de fidélité</i>	35
Tableau 5	<i>Les critères de validation analytique selon SFSTP pharma 2003-2006 et ICH</i>	75
Tableau 6	<i>Définition de spécificité selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	76
Tableau 7	<i>Comparaison du critère de spécificité dans les deux guidelines</i>	77
Tableau 8	<i>Définition de fonction de réponse selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	80
Tableau 9	<i>Comparaison du critère de fonction de réponse dans les deux guidelines.</i>	80
Tableau 10	<i>Définition de linéarité selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	82
Tableau 11	<i>Comparaison du critère de linéarité dans les deux guidelines</i>	83
Tableau 12	<i>Définition d'exactitude selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	85
Tableau 13	<i>Comparaison du critère d'exactitude dans les deux guidelines</i>	86
Tableau 14	<i>Définition de fidélité selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	89
Tableau 15	<i>Comparaison du critère de fidélité dans les deux guidelines</i>	90
Tableau 16	<i>Définition de justesse selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	93
Tableau 17	<i>Comparaison du critère de justesse dans les deux guidelines</i>	94
Tableau 18	<i>Définition de limite de détection selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	95
Tableau 19	<i>Comparaison du critère de limite de détection dans les deux guidelines</i>	96
Tableau 20	<i>Définition de limite de quantification selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	97
Tableau 21	<i>Comparaison du critère de limite de quantification dans les deux guidelines.</i>	99
Tableau 22	<i>Définition de robustesse selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006</i>	101
Tableau 23	<i>Comparaison du critère de robustesse dans les différentes guidelines</i>	101

Table de matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Sommaire	
Introduction.....	01
Problématique	04
Objectifs.....	06

PARTIE THEORIQUE

Chapitre 1 : contexte réglementaire

1-Historique	9
2 - Contexte réglementaire en vigueur	10
2.1 <i>Bonnes pratiques de fabrication (BPF) européenne</i>	10
2.2 <i>Bonnes pratiques de fabrication(BPF) algérienne</i>	12
2.3 ISO (Organisation internationale de santé).....	12
2.4 Food and Drug administration (FDA).....	12
2.5 <i>Current Good Manufacturing Practice (CGMP) américaine</i>	13
2.6 <i>Guides de validation analytique : rapports des commissions de la SFSTP</i>	14
2.7 <i>ICH (Conseil international d'harmonisation)</i>	14
2.8 EMA (Agence européenne des médicaments)	15

Chapitre 2 : Introduction à la validation

1-Cycle de vie d'une méthode d'analyse	17
1.1 <i>La sélection</i>	18
1.2 Développement	20
1.3 La validation.....	20
1.4 <i>Utilisation en routine</i>	21
1.5 Revalidation	22
2- Définition	22
3- But de la validation.....	24
4- Avantages de la validation.....	25
5- Types de validation.....	25
5.1 Validation des procédés.....	25

5.2 Validation des équipements	25
5.3 Validation des méthodes.....	25
5.4 Validation des méthodes analytiques	25
5.5 Validation des méthodes de nettoyage	26
5.6 Validation des systèmes informatiques.....	26
6- Méthodologie d'une validation	26
7- Types de procédures analytiques à valider.....	27
7- <i>Champs d'application de la validation analytique</i>	30
7.1- <i>Au niveau Européen</i>	31
7.2- <i>Au niveau Américain</i>	31
8- Critères de validation	32
8.1 Spécificité/Sélectivité	33
8.2 Fonction de réponse	33
8.3 Exactitude.....	33
8.4 Linéarité	34
8.4 Fidélité.....	34
8.5 Justesse	36
8.6 Sensibilité.....	36
8.7 Limite de détection (LD)	37
8.8 Limite de quantification.....	37
8.9 Robustesse	37
8.10 Stabilité des solutions	38
8.11 L'intervalle de dosage	38

Chapitre 3 : La validation des méthodes analytiques

1- Validation analytique selon l'ICH	41
1.1 Texte sur la validation des procédures analytiques.....	42
1.1.1 <i>Types de procédures analytiques validées</i>	42
1.1.2 <i>Critères de validation</i>	43
1.1.2.1 <i>Spécificité</i>	43
1.1.2.2 <i>Exactitude</i>	43
1.1.2.3 <i>Fidélité</i>	43
1.1.2.4 <i>Limite de détection</i>	44
1.1.2.5 <i>Limite de quantification</i>	44

1.1.2.6	Linéarité	44
1.1.2.7	Gamme	44
1.1.2.7	Robustesse	44
1.2	Validation des procédures analytiques	44
1	Spécificité	45
2	Linéarité.....	46
3	Gamme	46
4	Exactitude	47
5	Fidélité	48
6	Limite de détection	48
7	Limite de quantification	49
8	Robustesse.....	50
9	Vérification du système de suitability	50
2-	Validation analytique selon SFSTP 2003-2006.....	51
1.	Domaines d'application.....	52
2.	Critères de validation.....	52
1.	Spécificité-sélectivité	52
2.	Fonction de réponse (courbe de d'étalonnage)	52
3.	Justesse	53
4.	Fidélité	53
5.	Exactitude.....	54
6.	Linéarité	54
7.	Limites de détection (LD).....	54
8.	La limite de quantification (LQ)	54
9.	Intervalle de dosage.....	55
10.	Sensibilité.....	55
11.	Stabilité	55
12.	Rendement d'extraction	55
13.	Effet de la dilution	55
3-	Les règles de décision.....	56
4-	Profil d'exactitude	56
4.1	Méthode du profil d'exactitude.....	56
4.2	Critères de validation et intervalles de tolérance.....	56
4.3	Construction du profil d'exactitude et interprétation des résultats.....	58

4.1 La limite de quantification	59
5 Protocole de validation	61
6 Protocoles en phase De pré validation.....	62

Chapitre 4 : Etude critique et comparaison entre ICH et SFSTP pharma 2003-2006

1- Méthode analytique.....	66
2- Objectif d'une procédure analytique.....	67
3- validation analytique.....	69
4- Objectif de la validation analytique.....	70
5- Champ d'application	71
6- Comparaison des critères de validation selon les différentes guidelines	72
6.1- Les critères de validation.....	72
6.2-Spécificité / Sélectivité.....	73
6.2.1 - Définition	73
6.2.2 - Plan expérimental	74
6.3- Fonction de réponse.....	76
6.3.1 - Définition	77
6.3.2 - Plan expérimental.....	77
6.4- Linéarité.....	79
6.4.1 - Définition	79
6.4.2 - plan expérimental.....	80
6.5- Exactitude	82
6.5.1 - Définition	82
6.5.2 - plan expérimental.....	82
6.6- Fidélité.....	84
6.6.1 - Définition	84
6.6.2 Plan expérimental.....	85
6.7- La justesse.....	88
6.7.1 Définition	88
6.7.2 Plan Expérimental.....	88
6.8- Limite de détection	90
6.8.1 Définition.....	90
6.7.2 Plan expérimental.....	91
6.9 - Limite de quantification	92

6.9.1 Définition	92
6.9.2 Plan expérimental.....	94
6.10- Robustesse.....	95
6.10.1 Définition.....	95
6.10.2 Plan expérimental.....	95

PARTIE PRATIQUE

1- Validation de détermination de la teneur d'un principe actif dans un comprimé selon SFSTP pharma 2003-2006 et ICH.....	100
1- Traitement statistique selon approche ICH.....	107
• Linéarité.....	107
• Fidélité	107
• Justesse	110
2- Traitement statistique selon la SFSTP pharma 2003-2006.....	111
• Linéarité et fonction de réponse : Sur SE (étalonnage)	111
• Fidélité	112
• justesse.....	112
• Erreur totale	113
• Profil d'exactitude	113
• Linéarité de la prédiction inverse.....	114
2- Discussions	115
3- CONCLUSION GENERALE.....	117

Bibliographie.

Conclusion.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le processus de développement d'un médicament comprend plusieurs étapes, telles que la découverte de la molécule active, les essais en laboratoire, les études précliniques, les essais cliniques et les enregistrements réglementaires. Avant sa commercialisation, les agences réglementaires exigent que le médicament soit soumis à des tests portant sur son origine, son dosage, sa pureté et sa stabilité.

La qualité d'un médicament est d'une importance primordiale pour la santé publique. Lorsqu'un nouveau médicament est développé, il est essentiel de garantir sa qualité. Le contrôle de la qualité d'un médicament constitue le premier indicateur permettant de détecter toute altération éventuelle de ses caractéristiques, pouvant affecter son innocuité et son efficacité.

La qualité d'un médicament repose sur deux facteurs interdépendants : son efficacité et son innocuité, ces deux aspects étant essentiels pour répondre à l'usage auquel le médicament est destiné. De plus, sa conformité aux spécifications, telles que l'identité, l'activité et la pureté, est également cruciale. Bien que ces deux groupes de facteurs puissent être envisagés séparément, ils sont étroitement liés.

Tout au long de la production et du cycle de vie d'un médicament, de nombreux contrôles sont effectués pour garantir sa conformité réglementaire et détecter les moindres variations. Des protocoles et des méthodes analytiques sont mis en œuvre, depuis l'arrivée des matières premières dans l'usine jusqu'au contrôle post-commercial de stabilité.

Le contrôle analytique d'un médicament, ou de certains de ses constituants, est indispensable pour s'assurer que le médicament reste sûr et efficace pendant toute sa durée de validité, y compris lors des phases de stockage, de distribution et d'utilisation. Ce contrôle doit être effectué selon des spécifications élaborées et validées lors du développement du produit. Ainsi, les spécifications de qualité s'appliquent non seulement à la préparation pharmaceutique utilisée pour établir les caractéristiques biologiques des principes actifs, mais aussi aux formes galéniques commercialisées. Une fois l'évaluation biomédicale du produit terminée, les spécifications constituent la base d'acceptabilité pour tous les lots ultérieurs.

Les laboratoires pharmaceutiques ont l'obligation éthique de produire et de commercialiser des médicaments de haute qualité. Ces obligations réglementaires et commerciales nécessitent la mise en place d'un système d'assurance qualité à tous les niveaux de l'entreprise, du développement du médicament à sa mise sur le marché. La notion essentielle de qualité impose la nécessité de la validation, qui repose sur des principes scientifiques visant à établir la crédibilité des méthodes et à garantir la conformité du médicament. En effet, si la validité d'une méthode analytique n'est pas confirmée, la décision de conformité des produits finis basée sur les données obtenues par le contrôle qualité utilisant cette procédure analytique devient contestable.

C'est pourquoi l'assurance de la fiabilité de la méthode, garantie par la validation, est non seulement une exigence réglementaire, mais aussi un critère essentiel pour garantir la qualité. Afin d'établir des règles et des normes de qualité, les organismes de santé mondiaux ont proposé des approches de validation qui optimisent la qualité, la sécurité et même le coût des médicaments, bénéfiques à la fois pour les patients et les organismes de l'industrie pharmaceutique.

La validation d'une méthode analytique est le processus permettant de confirmer que la procédure utilisée répond aux exigences de son utilisation spécifique. Les résultats de la validation des méthodes permettent d'évaluer la qualité, la fiabilité et la cohérence des résultats analytiques.

INTRODUCTION

La validation des méthodes analytiques vise à s'assurer que la méthode utilisée donnera des résultats fiables et reproductibles, en fonction de l'objectif de l'analyse. Elle nécessite une définition précise des conditions d'utilisation et de l'objectif de la méthode, et s'applique à toutes les méthodes utilisées par les fabricants de produits pharmaceutiques, qu'elles soient décrites dans une pharmacopée ou non

Ainsi, toute nouvelle méthode d'analyse mise en œuvre au sein d'un laboratoire doit systématiquement faire l'objet d'une validation analytique avant sa mise en routine. Cette validation repose sur un ensemble de mesures expérimentales et de tests statistiques qui permettent de prouver qu'une procédure est suffisamment précise et fiable. De nos jours, de nouvelles tendances et de nouveaux concepts scientifiques émergent, proposant de revoir les bases mêmes de la validation analytique pour une approche harmonisée. L'utilisation du profil d'exactitude comme outil de décision est notamment apparue, permettant de simplifier l'approche de la validation d'une procédure analytique tout en contrôlant le risque associé à son utilisation. **(1)**

PROBLEMATIQUE

PROBLEMATIQUE

Dans le contexte industriel actuel, de nombreuses entreprises sont tenues de prouver que leurs procédés et méthodes d'évaluation des produits manufacturés conduisent aux résultats attendus. Cela s'applique également à l'industrie pharmaceutique, où les laboratoires de contrôle qualité doivent démontrer la validité et la fiabilité de leurs méthodes d'analyse. La validation est donc à la fois une exigence réglementaire et une étape essentielle dans le cycle de vie des médicaments. Les fabricants de médicaments doivent définir les travaux de validation nécessaires pour démontrer leur maîtrise des aspects critiques de leurs méthodes et opérations spécifiques.

Pour atteindre cet objectif, il existe différentes réglementations concernant les bonnes pratiques, telles que les BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) et les GMP (Good Manufacturing Practices), ainsi que des documents normatifs tels que les normes ISO, les recommandations de l'ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) et les directives de l'EMA (Agence européenne des médicaments). Cependant, on constate qu'il existe plusieurs approches de validation analytique dans la littérature et les textes réglementaires, sans qu'il y ait de protocole harmonisé.

Cette absence d'harmonisation pose des problèmes pratiques. Ainsi, dans notre travail, nous nous sommes interrogés sur la meilleure approche de validation analytique, ce qui nous a conduits à étudier et à comparer les différents protocoles afin de déterminer celui qui convient le mieux à chaque type d'analyse.

OBJECTIF

OBJECTIF

L'objectif principal de notre travail est d'étudier les méthodologies de validation analytique les plus couramment utilisées dans l'industrie pharmaceutique, en se concentrant sur le guide proposé par la Conférence Internationale sur l'Harmonisation des Exigences Techniques pour l'Enregistrement des Produits Pharmaceutiques à Usage Humain (ICH), à travers son guide qualité ICH Q2 (R1), ainsi que sur le guide SFSTP 2003-2006 de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques. Notre étude portera sur la méthodologie de validation et les critiques objectives de chaque guide.

En conclusion, notre travail se terminera par une comparaison entre ces deux guides, en utilisant des références solides provenant des documents réglementaires et scientifiques, afin d'évaluer et de discuter des différentes approches, en vue de mieux comprendre leur pertinence et leurs implications pour l'industrie pharmaceutique.

Chapitre 1

Contexte réglementaire

La validation d'une méthode d'analyse correspond à une reconnaissance de son aptitude à satisfaire à l'usage attendu en routine. En effet, il est essentiel que chaque test et expérimentation réalisé sur la molécule thérapeutique soient fiables. La mise au point et la validation des méthodes d'analyse sont aujourd'hui un enjeu important pour les laboratoires pharmaceutiques, elles découlent de la mise en place des systèmes d'assurance qualité.

1-Historique :

Avant le début des années 1960, la validation n'était pas une exigence réglementaire, la seule voie pour les autorités pour prouver qu'un procédé n'avait pas fait ce qu'il devait faire était de prendre des échantillons du produit final, les analyser et montrer des écarts aux spécifications. En 1962, aux États-Unis l'amendement Kefauver-Harris est approuvé, suite aux malformations de nouveau-nés en Europe, liées à la prise de thalidomide pendant la grossesse. L'amendement exige alors que les fabricants de médicaments démontrent l'efficacité et la sécurité de leurs produits, déclarent les effets indésirables à la FDA et diffusent clairement aux médecins les avantages et les risques du médicament. (2), (3), (4)

En 1963 la FDA a pu mettre en place une approche préventive plutôt qu'une approche réactive à un contrôle qualité. (5) Ce fut aussi important dans la mise en œuvre des exigences de validation car cela a donné à l'agence le droit de refuser l'approbation d'un nouveau médicament si les méthodes, les installations et les contrôles utilisés étaient inadéquats. (6)

A la fin des années 1960 et au début des années 1970. Une enquête menée par la FDA a permis de mettre en évidence des hétérogénéités de teneurs résultantes de procédés, de méthodes mal contrôlées. Beaucoup de discours indiquant le besoin d'une validation ont été faits par les autorités et l'expression « procédé validé » a finalement été définie dans le Programme de Conformité d'Inspections de Processus de Médicament (Drug Process Inspections Compliance Program) en 1978. (7) ;(8) ;(9) ;(10)

En 1985 une conférence rassemblant des industriels du médicament regroupés au sein d'une association la PMA (Pharmaceutical Manufacturers Association. Quality Control section) et des représentants de la pharmacopée américaine mit sur pied un processus d'élaboration de recommandations concernant la validation analytique.

En Avril 1986 un texte intitulé « current concept for the validation of compendial assays » fut publié dans pharmacopeial forum ; lequel texte fut discuté de l'automne 1987 jusqu'en 1988. le besoin se fit alors sentir d'inclure un chapitre sur la validation dans l'USP de façon à préciser les règles générales régissant tout changement de procédure analytique appliqué à un médicament.

En juillet 1988 ; un texte fut publié dans pharmacopeial Forum intitulé « <1225> validation of compendial assays guidelines » (p4129). Ce texte étudia les propositions de révision des procédures analytiques mentionnés dans la pharmacopée. Ce même texte inclus dans l'USP XXI ; supplément N°9 ; en juillet 1989 sous le titre « <1225> validation of compendial methods » et repris dans l'USP XXII pour application officielle à partir du 1er janvier 1990. (11)

Pendant les années 1980 la FDA a publié un certain nombre de lettres réglementaires aux fabricants concernés citant le manque de validation adéquate comme une déviation réglementaire vis-à-vis des cGMP, engendrant la non-conformité du médicament. (12)

En Europe, la préparation de nouvelles directives sur la validation commença dans les années 1990 et continua entre 1997 et 2001. En septembre 2001, l'Annexe 15 du Guide européen GMP (intitulée « Qualification et Validation ») (Commission Européenne, 2001) et la « Note for Guidance on Process Validation » (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001) ont été présentées. (13)

La validation des procédés et méthodes pharmaceutiques s'est grandement développée pendant ces dernières années. Pour la plupart des industries, elle est, à l'origine, apparue comme une exigence réglementaire et, de là, était souvent considérée comme un fardeau. Malgré les critiques initiales, la validation est maintenant bien acceptée et considérée comme une partie de la gestion de qualité. (14)

Le Tableau I, ci-après présente le parallèle entre l'évolution de la réglementation de la validation en Europe et aux États-Unis, de 1963 à nos jours. (15) ; (16)

Tableau 1 : Comparaison de l'évolution de la réglementation entre l'Europe et les Etats-Unis

ETATS-UNIS		EUROPE
1 ^{er} guide cGMP	1963	-
-	1971	1 ^{ère} édition du Guide Orange – GMP par le PIC
-	1977	2 ^{ème} édition du Guide Orange – GMP par le PIC
<i>Drug process inspections compliance programme, révision des cGMP</i>	1978	-
-	1983	3 ^{ème} édition du Guide Orange – GMP par le PIC
<i>Directive General Principles on Process Validation</i>	1987	-
-	1989	Guide européen des GMP par la Communauté Européenne
Proposition d'amendements cGMP, incluant les règles de la validation	1996	-
-	2001	Directive EMEA : <i>Note for guidance on process validation</i> Guide GMP : annexe 15 Qualification et Validation
-	2010	<i>En cours</i> : révision directive EMEA de 2001
<i>Nouvelle directive Process Validation: General Principles and Practices</i>	2011	-

L'avenir de la validation est d'un grand intérêt, particulièrement avec l'expansion mondiale de la fabrication pharmaceutique et le désir de normes et d'exigences internationales harmonisées. De nombreux fabricants travaillent sur des stratégies pour réduire le coût de la validation et considèrent la validation dès la conception même du produit et son développement. De nouvelles technologies en développement pour l'analyse à 100 % des médicaments et d'autres innovations dans l'industrie pharmaceutique peuvent aussi avoir un effet significatif sur les concepts de validation de procédé.

2- Contexte réglementaire en vigueur : Les principaux référentiels qui décrivent les procédures de validation analytique sont les suivants :

2.1- Bonnes pratiques de fabrication (BPF) européenne

Sont définies comme une partie de l'assurance qualité, qui assure que les médicaments sont produits et contrôlés de manière cohérente et systématique, conformément aux standards de qualité appropriés pour leur usage. En France, le secteur pharmaceutique doit se conformer au guide des BPF publié en 2017, qui est constitué de 09 chapitres et de 20 Lignes Directrices.

-Toutes les activités de qualification et de validation doivent être planifiées et prendre en considération le cycle de vie des installations, des équipements, des utilités, des procédés et du produit.

-Les activités de qualification et de validation ne doivent être effectuées que par du personnel dûment formé et se conformant aux procédures approuvées.

-Le personnel de qualification/validation doit rendre compte, selon les dispositions décrites dans le système qualité pharmaceutique, même si ce personnel n'en relève pas nécessairement, au service en charge du management de la qualité ou de l'assurance de la qualité. Toutefois, une supervision qualité appropriée doit être effective tout au long du cycle de vie de la validation.

-Les éléments clés du programme de qualification et de validation du site doivent être clairement définis et documentés dans un plan directeur de validation (PDV) ou document équivalent.

-Le PDV ou document équivalent doit définir le système de qualification/validation et inclure ou référencer au minimum des informations sur les éléments suivants :

La politique de qualification et de validation.

La structure organisationnelle incluant les rôles et responsabilités pour les activités de qualification et de validation.

Le récapitulatif des installations, des équipements, des systèmes et des procédés du site et leur statut de qualification et de validation.

La maîtrise des changements et la gestion des déviations appliquées à la qualification et la validation.

Les recommandations pour la détermination des critères d'acceptation.

Les références aux documents existants. La stratégie de qualification et de validation, incluant la requalification, le cas échéant

-Toutes les méthodes analytiques utilisées dans pour la qualification, la validation ou les opérations de nettoyage doivent être validées avec une limite de détection et de quantification appropriée, si nécessaire, comme défini dans le chapitre 6 d'EudraLex, Volume 4, Partie I, tel que transcrit en droit national par décision du directeur général de l'Agence nationale de sécurité du médicaments et des produits de santé (ANSM).

-En cas d'analyse microbiologique du produit, la méthode doit être validée pour confirmer que le produit n'a pas d'incidence sur la croissance des micro-organismes.

-En cas d'analyse microbiologique des surfaces dans une salle propre, la validation doit être

Effectuée sur la méthode de prélèvement pour confirmer que les agents désinfectants n'ont pas d'incidence sur la croissance des micro-organismes. (17)

2.2- Bonnes pratiques de fabrication(BPF) algérienne :

-Le laboratoire de contrôle a aussi pour tâche la validation et la mise en œuvre des procédures de contrôle de qualité, la tenue de l'échantillonnage, la vérification de l'étiquetage des récipients, le contrôle de la stabilité des produits, une participation aux enquêtes effectuées à la suite de plaintes concernant la qualité des produits, etc. toutes ces opérations doivent suivre des procédures écrites.

-Tout document de contrôle de la qualité concernant un lot doit être conservé un an après la date de péremption du lot et au moins 5 ans après la libération du lot.

-Les méthodes d'analyse doivent être validées. Tous les contrôles décrits dans l'autorisation de mise sur le marché doivent être effectués conformément aux méthodes approuvées. (18)

2.3- ISO (Organisation internationale de santé) :

ISO 17025 :

-La NF EN ISO/CEI 17025 : 2005 exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. Ce guide donne des lignes directrices générales sur le processus de validation d'une méthode, propose des modalités pratiques de caractérisation des performances, en présentant pour chaque caractéristique des exemples concrets. (19)

-« Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais ». C'est une norme internationale élaborée dans le but de l'évaluation de la conformité, ainsi que l'organisation en continu de la qualité des laboratoires.(mémoire fin final)

-Validation des méthodes est requise lorsque le laboratoire utilise des méthodes non normalisées

-La validation des résultats constitue un volet important d'un système qualité.

-Tout laboratoire doit instaurer en son sein un contrôle de qualité interne qui lui permet de juger de la qualité des résultats qu'il produit (via des SOPs). (20)

ISO 5725 :

« Exactitude (justesse et fidélité) » des résultats et méthodes de mesure. Elle exprime le profil comme outil de décision.

2.4- Food and Drug administration (FDA):

-Food and Drug Administration FDA, « Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux »est chargée de protéger la santé publique en assurant la sûreté, l'efficacité et la sécurité des médicaments humains et vétérinaires, des produits biologiques, des dispositifs médicaux, de l'approvisionnement alimentaire de notre nation, des cosmétiques et des produits émettant des radiations.

-La validation de la méthode analytique est le processus consistant à démontrer qu'une procédure analytique est adaptée à l'usage auquel elle est destinée.

La méthodologie et l'objectif des procédures analytiques doivent être clairement définis et compris avant d'entreprendre des études de validation.

Cette compréhension est obtenue à partir d'études de développement et d'optimisation de méthodes scientifiquement fondées.

Les données de validation doivent être générées selon un protocole approuvé par le promoteur conformément aux bonnes pratiques de fabrication actuelles avec la description de la méthodologie de chaque caractéristique de validation et des critères d'acceptation prédéterminés et justifiés, en utilisant une instrumentation qualifiée.

Protocoles pour la substance médicamenteuse et les analystes ou mélange d'analystes dans les matrices respectives devraient être développées et exécutées. (21)

2.5- Current Good Manufacturing Practice (CGMP) américaine :

La FDA s'assure de la qualité des médicaments en surveillant de près la conformité des fabricants de médicaments à ses règlements sur les bonnes pratiques de fabrication (CGMP). Les règlements CGMP pour les médicaments contiennent des exigences minimales pour les méthodes, les installations et les contrôles utilisés dans la fabrication, la transformation et l'emballage d'un produit pharmaceutique. Les règlements font en sorte qu'un produit est sûr pour l'usage, et qu'il a les ingrédients et la force qu'il prétend avoir.

21 CFR Part 211. Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals.

Sous-partie I : Contrôles de laboratoire

§ 211.160 : Exigences générales.

Calibrage des instruments, appareils, jauges et dispositifs d'enregistrement à des intervalles appropriés conformément à un programme écrit établi contenant des instructions précises, des calendriers, des limites d'exactitude et de précision et des dispositions correctives pour l'exactitude et / ou la précision des événements les limites ne sont pas respectées. Les instruments, appareils, jauges et dispositifs d'enregistrement ne répondant pas aux spécifications établies ne doivent pas être utilisés.

Sous-partie J : Dossiers et rapports.

§ 211.194 : Dossiers de laboratoire.

Une déclaration de chaque méthode utilisée pour tester l'échantillon. La déclaration doit indiquer l'emplacement des données qui établissent que les méthodes utilisées pour les essais de l'échantillon répondent aux normes d'exactitude et de fiabilité applicables au produit testé. (Si la méthode employée est dans la version actuelle de la pharmacopée des États-Unis, du National Formulary, de l'AOAC INTERNATIONAL, du livre des méthodes ou dans d'autres références normalisées reconnues, ou est détaillée dans une nouvelle demande approuvée, une déclaration indiquant la méthode et la référence suffira). L'adéquation de toutes les méthodes d'essai utilisées doit être vérifiée dans les conditions d'utilisation réelles. (22)

2.6- Guides de validation analytique : rapports des commissions de la SFSTP :

Ils présentent les recommandations réglementaires communément admises et appliquées dans l'industrie pharmaceutique nationale et une démarche statistique pour la validation d'une procédure analytique.

SFSTP « Guide de validation, rapport d'une commission SFSTP »

- Méthodologie (1992) ;

- Exemples d'application (1992).

SFSTP « dosage dans les milieux biologiques par des méthodes chromatographiques »(1997)

SFSTP « validation des procédures analytiques : harmonisation des démarches

- ❖ Partie I : généralités (2003) ;
- ❖ Partie II : statistiques (2006) ;
- ❖ Partie III : exemples d'application (2008).

SFSTP (2012) : approche de capabilité. (Mémoire fin final)

2.7- ICH (Conseil international d'harmonisation) :

Deux guidelines ICH (International Conference on Harmonization) sont dédiés à la validation analytique : Q2 :« validation analytique ».

➤ **ICHQ2A**

Validation of analytical method « definitions and terminology »1995: Textes qui regroupent les définitions et la terminologie qui doivent être prises en compte au cours de la validation des méthodes analytiques.

➤ **ICHQ2B**

Validation of analyticals method «Methodology» 1997:

Son but est de fournir des conseils et recommandations sur la manière d'appréhender les différentes caractéristiques de la validation pour chaque méthode analytique. En outre, le document fournit une indication sur les données qui devraient être présentées dans un dossier d'enregistrement.

➤ **ICHQ2R1**

Validation of analyticals methods « Text and methodology » 2005:

C'est une révision de l'ICHQ 2A et ICHQ 2B, dans le but de regrouper les textes de la terminologie et les définitions avec la méthodologie.

➤ **ICHQ2R2**

Révision complète de la ligne directrice ICHQ2R1 pour inclure une application plus récente des procédures analytiques et pour aligner le contenu sur Q14.

Approbation par les membres de l'Assemblée de l'ICH Sous Étape 2 et mise en consultation publique.

2.8- EMA (Agence européenne des médicaments) :

-Est une agence communautaire créée en 1995. Son organisation est inspirée par celle de l'Agence équivalente des États-Unis : Food and Drug Administration (FDA) qui a régulièrement travaillé à améliorer la transparence et l'indépendance face aux entreprises transnationales de la pharmacie. (17)

-Guideline on bioanalytical method validation. Publiée par (European Medicines Agency). Il définit les recommandations nécessaires à la validation des méthodes bio analytiques applicables au dosage dans les matrices biologiques (sérum, salive...). Cette ligne directrice demeure un guide incontournable pour les études pharmacocinétiques et toxicocinétiques sur l'homme et l'animal. (20)

Chapitre 2

Introduction à la validation

Le principe de la validation des procédures analytiques est, aujourd'hui largement, répandu dans tous les domaines d'activités où des mesures sont réalisées. Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le développement galénique, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et finis et aussi les essais de stabilité de tous les produits chimiques. Dans le domaine pharmaceutique, son exigence est avant tout une pratique réglementaire.

La validation d'une méthode analytique n'est pas seulement une exigence des autorités réglementaires ou un moyen d'accéder à l'accréditation, mais aussi la phase ultime avant l'utilisation de la méthode en question dans la routine.

La validation des méthodes analytiques a pour objectif principal de s'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu le but de l'analyse. Il faut donc définir à la fois les conditions dans lesquelles la méthode sera utilisée et le but pour lequel elle sera employée. La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables.

Une méthode d'analyse est une description détaillée des différentes opérations nécessaires pour effectuer l'analyse de la substance à examiner.

Cependant il faut faire la distinction entre l'analyte qui représente le composant mesuré à l'aide de la méthode d'analyse et la matrice qui représente l'ensemble des constituants du matériau d'essai autres que l'analyte.

1- Cycle de vie d'une méthode d'analyse :

La procédure analytique fait référence à la manière d'effectuer l'analyse. Il doit décrire en détail les étapes nécessaires pour effectuer chaque test analytique. Cela peut inclure, mais sans s'y limiter : la préparation de l'échantillon, de l'étalon de référence et des réactifs, l'utilisation de l'appareil, la génération de la courbe d'étalonnage, l'utilisation des formules pour le calcul, etc.

Une méthode analytique est un moyen indispensable ayant pour but de concrétiser un besoin bien exprimé, ou encore c'est la réponse matérialisée à un problème donné.

On est trop souvent porté à présenter les méthodes d'analyse comme des procédures figées et qui n'est pas sujette au changement, C'est un peu l'impression que donnent les manuels et autres recueils de normes techniques.

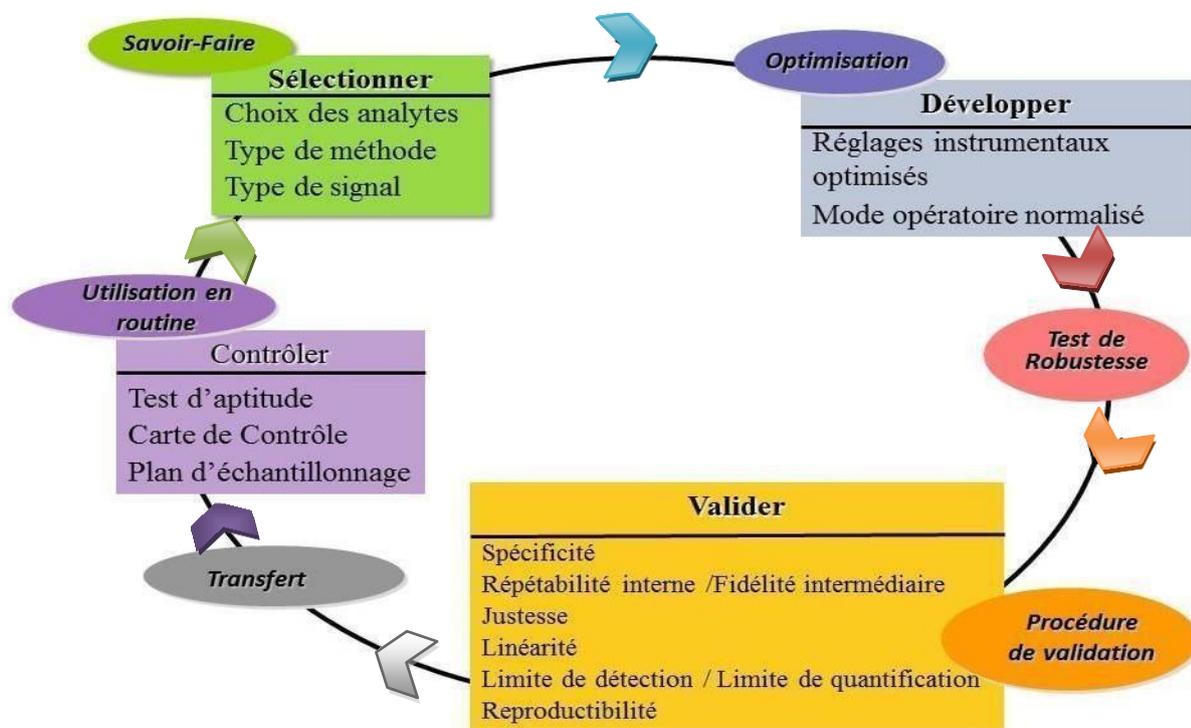
Or, les méthodes d'analyse naissent, évoluent et meurent, comme tout procédé de production.

Pour bien éclaircir et apprécier le rôle et la place de la validation dans la vie d'une méthode d'analyse, il est intéressant de présenter son cycle de vie depuis le moment où elle est choisie jusqu'au moment où on la délaisse.

Les méthodes d'analyse sont appliquées dans différents domaines : contrôle des médicaments, la bio analyse dans le cadre des études cliniques et des études de bioéquivalence, études environnementales, études agro-alimentaires

Le laboratoire doit assurer des résultats fiables lors de l'exécution de l'analyse pour un client ou pour des fins réglementaires afin que le problème analytique sera traité, ainsi que le problème socio-économique, dans n'importe quel domaine et quelle que soit la méthode utilisée.

Figure 1 : La mise en œuvre d’une méthode peut se décomposer en quatre grandes phases généralement successives.



1.1 La sélection :

D’abord on va sélectionner la méthode, c’est-à-dire l’analyste choisit parmi toutes les diverses méthodes physico-chimiques connues ou maîtrisées par le laboratoire la plus pertinente et qui permet de déterminer et doser un ou plusieurs analytes représentatifs du problème analytique à traiter.

Cette étape est critique pour l’analyste. En effet, étant le point de départ d’une méthode, les étapes suivantes et plus particulièrement les décisions qui seront prises dépendent d’elle. De ce fait, on doit bien circonscrire la problématique en vue de définir clairement les objectifs afin de proposer des solutions appropriées, matérialisées en termes de conditions opératoires.

Un problème mal cerné donne des décisions inadéquates, et par conséquent, une perte de temps, de réactifs et d’argent. Donc une bonne expertise de l’analyste et les informations pertinentes doivent exister.

Si l’analyse est quantitative, des critères intéressants tels que la spécificité/sélectivité de la méthode concernant les interférences possibles, la limite de détection, l’intervalle de dosage, le seuil de quantification, la fidélité, la justesse, l’exactitude, les méthodes

D'échantillonnage (gaz, liquide, solide), la préparation des échantillons (extraction en phase solide, la digestion, etc.), la vitesse, l'automatisation, la facilité d'utilisation, l'efficacité, le coût, la résolution temporelle et spatiale, la réglementation (FDA, EPA, BPL, ISO) peuvent être utiles pour diriger le choix de la méthode.

Et afin de sélectionner la méthode adéquate, des questions triviales doivent être posées, par exemple :

- Qu'est-ce que l'analyte(s) ?
- Quelle est la nature de l'échantillon tel que les propriétés physiques et chimiques ?
- Quelles sont les informations nécessaires (qualitative, quantitative) ?
- Quel est le niveau (s) de concentration de l'analyte (s) à chercher ?
- Quel est le niveau d'exactitude nécessaire ?
- Quelles sont les limites d'acceptation de la méthode ?
- Qui d'autres constituants de l'échantillon sont généralement présentes ?
- Le nombre d'échantillons devront être analysé ?

En effet, il est de première importance de connaître le maximum d'informations sur l'échantillon qui sera analysé.

La sélection de la méthode étant faite, il est indispensable d'effectuer des expériences complémentaires en vue de s'assurer du bien-fondé de la méthode et de la capacité de sa mise en œuvre par le laboratoire par rapport à l'usage requis.

La norme ISO 17025 précise que :

« Le laboratoire doit utiliser des méthodes d'essai et / ou d'étalonnage, y compris des méthodes d'échantillonnages, qui répondent aux besoins du client et qui conviennent aux essais et/ ou étalonnages qu'il effectue, de préférence les méthodes publiées comme normes internationales, régionales ou nationales ». Et que « si la méthode proposée par le client est jugée inappropriée ou périmée, le laboratoire doit le lui indiquer ».

Lorsque le recours à des méthodes non normalisées est nécessaire, « elles doivent avoir été dument validées avant l'emploi » et surtout pleinement renseignées. D'après ce texte, utiliser des méthodes officielles est préférable, lorsque cela est possible, mais, l'usage des méthodes développées par le laboratoire est approuvé.

Et il faudra choisir la méthode d'analyse qui réalise le bon arrangement technique et économique, celle qui a le rapport coût / bénéfice le plus favorable, mais malheureusement ces données ne sont pas facilement disponibles.

Souvent elles deviennent possibles à obtenir lorsque la méthode est connue et sa validation ne pose pas un vrai problème. (23) ; (24) ; (25)

Exemple : des centaines de méthodes sont publiées sur la détermination des vitamines dans les aliments, alors que seulement quelques-unes qui sont reconnues comme pouvant être utilisables en routine.

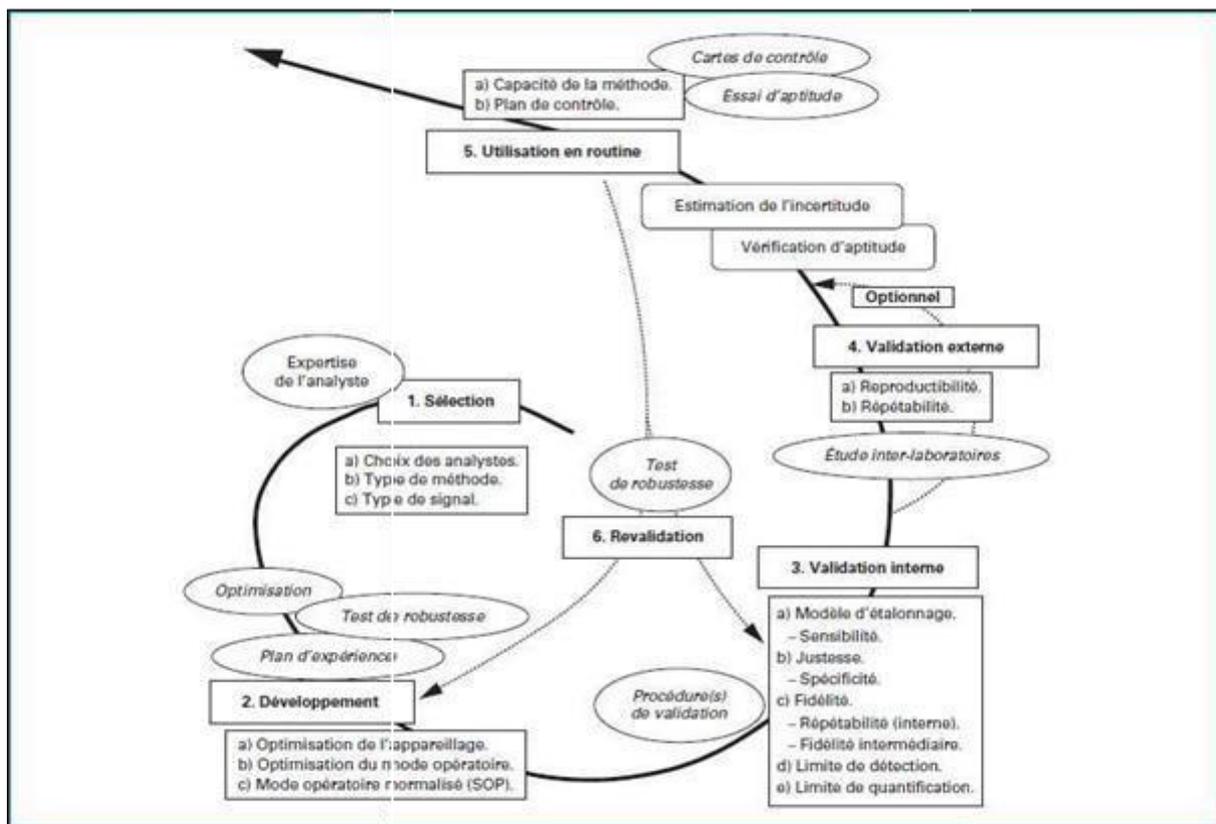


Figure 2 : Cycle de vie d'une méthode d'analyse (23)

1.2 Développement :

Ensuite, il convient de développer la méthode, c'est la mise au point du mode opératoire approprié et l'adaptation de la méthode aux conditions pratiques où elle va être appliquée.

Cette étape doit être confiée à du personnel qualifié, fournis par les ressources nécessaires adéquates, pour que la démarche ainsi que les résultats obtenus soient et doivent être correctement renseignés.

En général, le développement d'une méthode est synonyme d'optimisation.

Lorsque la mise au point est achevée, on dispose de ce que l'on appelle dans le cadre BPL un mode opératoire normalisé ou Standard Operating Procédure (SOP). Notamment, il faut indiquer le domaine d'application de la méthode avec précision, c'est-à-dire l'ensemble des matrices auxquelles elle s'emploie ainsi que la gamme de concentrations utilisables.

1.3 La validation :

C'est à ce moment, après le développement de la nouvelle procédure d'analyse, que doit intervenir l'étape de validation. On distingue deux types de validation : la validation intra-laboratoire et la validation inter-laboratoires.

La validation intra-laboratoire est une validation interne, universelle et obligatoire, concerne l'ensemble des méthodes analytiques développées par un laboratoire.

La validation inter-laboratoire – souvent plus lourde – n'intéresse en principe que les méthodes analytiques destinées à être utilisées par plusieurs laboratoires ou dont les

Résultats peuvent servir à des échanges commerciaux ou des contrôles officiels. C'est pourquoi on peut la considérer comme optionnelle.

On prend l'exemple de l'industrie pharmaceutique, il ne sert à rien de procéder à une validation inter-laboratoire d'une méthode qui n'est destinée en interne qu'à l'étude d'une molécule, non encore mise sur le marché, contrairement aux industries agroalimentaires, qui exigent toujours une validation inter-laboratoire .

Ce type de validation permet en outre de calculer les limites de reproductibilité de la méthode.

Une étude collaborative (ou inter-laboratoire) peut être définie comme un ensemble d'essais réalisés momentanément dans des laboratoires différents représentatifs de la population de laboratoires susceptibles d'utiliser la méthode en routine.

Au niveau de l'entité « méthode », l'étude inter-laboratoire permettra d'évaluer les performances en termes d'exactitude, de biais et de précision (répétabilité et reproductibilité) dans un but d'inter comparaison ou de substitution de méthodes. D'autre objectifs consistent à démontrer la capacité de transfert d'une méthode selon des critères bien définis , de valider une nouvelle méthode ou une méthode améliorée en la comparant avec une autre dont la validité est avérée ou une méthode de référence.

Concernant l'entité « laboratoire », une étude permettra d'évaluer ses performances (biais de laboratoire). Dans ce cas, il sera impliqué dans des tests d'aptitude, dont les résultats seront vérifiés lors d'accréditation(ISO17025).

Enfin, une étude inter-laboratoires pourrait servir à l'identification des composés, à la détermination de la composition quantitative d'un échantillon ou à la certification d'une substance chimique de référence SCR.

De plus, la reproductibilité des résultats peut être déterminée ce qui permettra de calculer l'incertitude des résultats et de pouvoir évaluer l'incertitude associée au futur résultat.

L'étude inter-laboratoires constitue certainement une étape pertinente pour une méthode avant son application à une large échelle.

Par conséquent, il est important qu'elle soit bien préparée et menée convenablement selon un protocole bien défini, judicieusement élaboré pour permettre d'atteindre la plupart des objectifs fixés.

Il peut arriver que cette étude n'aboutit pas à des résultats attendus ou exploitables pour l'établissement de la reproductibilité. Dans ce cas, elle est limitée à la transcription des résultats obtenus et à un report des problèmes survenus et éventuellement des solutions proposées ; et une réévaluation de la méthode sera prévue dans les phases précédentes dans cette situation.

L'objectif d'une méthode analytique n'est pas sa validation, mais bien son usage en routine pour l'analyse d'échantillons de valeur vraie inconnue.

1.4 Utilisation en routine :

Si la validation se révèle conforme, la vie de la méthode va se poursuivre par son utilisation en routine. Valider une méthode ne représente que la première étape de sa mise sous

Assurance qualité, alors que le passage en routine de la méthode s'inscrit dans le cadre d'un système de contrôle de la qualité qui a pour objectifs de valider les résultats obtenus sur des échantillons inconnus, et de contrôler les performances de la méthode analytique au fil du temps.

1.5 Revalidation :

Au bout d'un certain temps, on peut être amené à abandonner la méthode et à engager à un autre cycle car elle est devenue obsolète.

Dans d'autres cas, certaines améliorations peuvent être apportées à la méthode. Ces modifications, et selon leur importance, mènent à appliquer une procédure plus ou moins complète de revalidation. Par un simple test effectué, l'impact de ces modifications sera déterminé. En effet, on doit effectuer une revalidation toutes les fois où l'on introduit une modification « mineure » de la méthode comme par exemple une modification de réglage comme laisser « 20min au bain-marie au lieu de 15min ».

Par contre, si l'on fait une modification « majeure », affectant le principe de la méthode, une procédure de validation complète devra de nouveau être appliquée.

Toutefois, c'est selon le contexte que l'analyste définit l'échelle exacte de l'importance des modifications, et cette appréciation est laissée à son savoir-faire, quand cela est délicat.

2- Définition :

Valider : c'est rendre ou déclarer valide juridiquement.

Valide : se dit de ce qui répond à des lois et des règles, les uns et les autres étant posées préalablement.

-La validation est l'ensemble des opérations effectuées en vue de prouver qu'une procédure est suffisamment exacte et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis pour l'usage prévu .

-La validation, dans son terme général, est l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes de Bonnes Pratiques de Fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés.

La validation d'une méthode analytique est définie :

➤ **Selon la norme ISO/IEC 17025 :**

« Le laboratoire doit valider des méthodes [...] pour confirmer [qu'elles] conviennent à l'emploi prévu. La validation doit être aussi étendue que l'impose la réponse aux besoins dans l'application ou le domaine d'application donné ».

La norme ISO 17025 : 2005 donne une définition de la validation : «La validation est la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies ».

Donc valider, c'est apporter des preuves que la méthode est adaptée à ses objectifs.

En fait, on ne s'intéresse pas à la validation telle quelle est, mais à la procédure qui permettra de conduire cette démonstration.

Comme il est cité dans le texte « le laboratoire doit enregistrer les résultats obtenus et la procédure utilisée pour la validation ».

Et c'est là que les désaccords se manifestent car on a souvent une confusion entre la validation et la procédure de validation. **(26)**

➤ Selon **la norme ISO/U47-600-1**, cette confirmation « consiste à comparer les valeurs des critères de performance déterminées au cours de l'étude de caractérisation de la méthode à celles attendues ou assignées au préalable (limites d'acceptabilité, objectifs à atteindre), puis à déclarer la méthode d'analyse valide ou non valide ».

➤ Selon la **FDA** : « Valider une méthode consiste à démontrer, avec un degré de confiance élevé et sous une forme documentée, que la méthode permet d'obtenir un résultat analytique qui atteint les spécifications à l'avance. »

Aussi ; Valider : c'est établir à l'évidence, avec un degré de confiance élevée et sous une forme documentée, qu'un procédé permet d'obtenir un produit (ou un service) qui atteint effectivement spécifications définies à l'avance.

➤ Selon **ICH Harmonised** Tripartite Guideline, 2005 : « C'est l'évaluation d'attributs de qualité du produit par des essais, pour démontrer que la fiabilité est maintenue tout au long du cycle de vie du produit et que la précision, l'exactitude, le dosage, la pureté et les spécifications n'ont pas été modifiés. Ces critères analytiques doivent être validés avant le commencement de tout programme de validation (exactitude de méthode, précision de la méthode et spécificité de la méthode). **(27)**

➤ Selon **les BPF** comme étant : « l'établissement de la preuve documentée en conformité avec les principes de Bonnes Pratiques de Fabrication que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel ,matière première , article de conditionnement ou produit , activité ou système , permet réellement d'atteindre les résultats escomptés ». Cette opération de validation consiste à établir la preuve écrite, avec un haut degré d'assurance, qu'un processus donné, dans une utilisation spécifique, selon des paramètres définis donnera une entité reproductible conforme aux exigences qualitatives et quantitatives pour la qualité. **(28)**

➤ **La norme Afnor V 03-100** définit le processus de validation d'une méthode d'analyse comme « l'action de confirmer par examen et apport de preuves tangibles obtenues par des études statistiques intra laboratoires et/ou inter laboratoires que les exigences particulières pour un usage spécifique prévu de la méthode d'analyse sont satisfaites. En général, les exigences particulières portent sur le domaine d'application, la linéarité, la spécificité, la fidélité et la justesse ».

Derrière cette définition, il y'a une note qui précise que « le processus de validation d'une méthode d'analyse peut s'appuyer sur : une étude inter laboratoire... ; une étude intra laboratoire menée par comparaison à une méthode de référence... ; une étude intra laboratoire basée sur l'utilisation de matériaux de référence ».

A partir de ces définitions, on peut dire que pour réaliser une validation d'une méthode d'analyse, on la décompose en une séquence d'opérations plus simples et on les valide séparément.

Cette stratégie de décomposition en éléments simples est d'ailleurs traditionnelle lors d'une mise en place d'un système d'assurance de la qualité.

➤ **Selon la Pharmacopée américaine** : a fait apparaître :

« La validation d'une méthode d'analyse est une procédure permettant d'établir, par des études expérimentales, que les critères de performance de la méthode satisfont aux exigences prévues par les applications analytiques de la méthode. Les critères de performance sont exprimés en termes de caractéristiques analytiques. Les caractéristiques classiques qui devraient être prises en compte pour la validation des types d'essais décrits dans ce document sont [...] la précision, l'exactitude, la limite de détection, la limite de quantification, la sélectivité, l'intervalle de linéarité, la robustesse ». (29)

3- But de la validation :

L'objectif principal d'une validation d'une méthode d'analyse est de démontrer qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue. Prouver qu'un protocole est suffisamment exact et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé, qui consiste à :

- Démontrer que chaque mesure réalisée sera assez proche de la valeur vraie ou dans les limites acceptables ;
- Mettre en œuvre des protocoles expérimentaux appliqués basés sur une méthodologie commune inspirée de la stratégie des guidelines : ICH, SFSTP, FDA, Les normes ISO et l'EMEA ;
- Garantir la qualité des résultats avec un risque connu prédéfini en fonction de l'utilisation finale de la méthode d'analyse à valider ;
- Assurer la fiabilité, une évaluation erronée entraîne une perte de confiance dans la fiabilité des résultats analytiques. Cette fiabilité est très importante dans la satisfaction des clients ou partenaires, ce qui fait que la validation des méthodes d'analyses est une étape primordiale ;
- Donner des garanties quant à l'aptitude de la méthode analytique à quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à quantifier à l'avenir s'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse ;
- S'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse. Elle définit correctement à la fois les conditions dans lesquelles la méthode sera utilisée et le but dans lequel elle sera employée.
- doser le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à évaluer en routine.
- donner au laboratoire et aux autorités des garanties suffisantes que chacune de ces mesures qui seront réalisées en routine avec cette méthode sera suffisamment proche de la "vérité".

- La validation analytique a pour principal but de démontrer l'aptitude et la fiabilité d'une méthode vis-à-vis des exigences réglementaires et normatives en vigueur.
- certifier et d'assurer aux laboratoires ainsi qu'aux autorités compétentes les garanties que chaque mesure qui sera réalisée ultérieurement en routine, une fois la procédure validée, sera suffisamment proche de la « vraie valeur » inconnue de l'échantillon ou du moins comprise dans une limite acceptable, en fonction de la finalité de la procédure.
- Réduire le risque au niveau du producteur ainsi que du futur consommateur. Par conséquent et contrairement à ce que la pratique courante pouvait laisser penser, l'objectif de la validation n'est pas simplement, d'obtenir des estimateurs du biais et de la fidélité.

4- Avantages de la validation:

La validation présente de nombreux avantages pour le fabricant, notamment :

- ✓ Une maîtrise des technologies (procédés), des équipements, du nettoyage et les risques de contamination.
- ✓ Réduction des risques de pertes financières dues aux défauts
- ✓ Réduire le risque de non-conformité à la réglementation
- ✓ Fournit l'assurance que le produit fabriqué présente les spécifications prédéfinies.
- ✓ Augmentation de la productivité

5- Types de validation:

5.1 Validation des procédés

Cette validation confirme que le procédé a été mis au point selon les règles et qu'il est maîtrisé. Selon le moment où elle se situe par rapport à la production, la validation peut être prospective, concomitante, ou rétrospective.

5.2 Validation des équipements :

Cette validation est dite qualification des équipements ou des systèmes.

5.3 Validation des méthodes analytiques :

Validation des méthodes analytiques correspond à l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver que le protocole est suffisamment exact et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé. Des critères analytiques doivent être validés avant le commencement de tout programme de validation (Spécificité, Linéarité, Exactitude, Fidélité, Intervalle de validité, Limite de détection, Limite de quantification, Robustesse).

5.4 Validation des méthodes de nettoyage :

Selon les BPF, « la validation de nettoyage consiste à établir la preuve documentée qu’une procédure de nettoyage approuvée fournira des équipements adaptés à la fabrication des médicaments ».

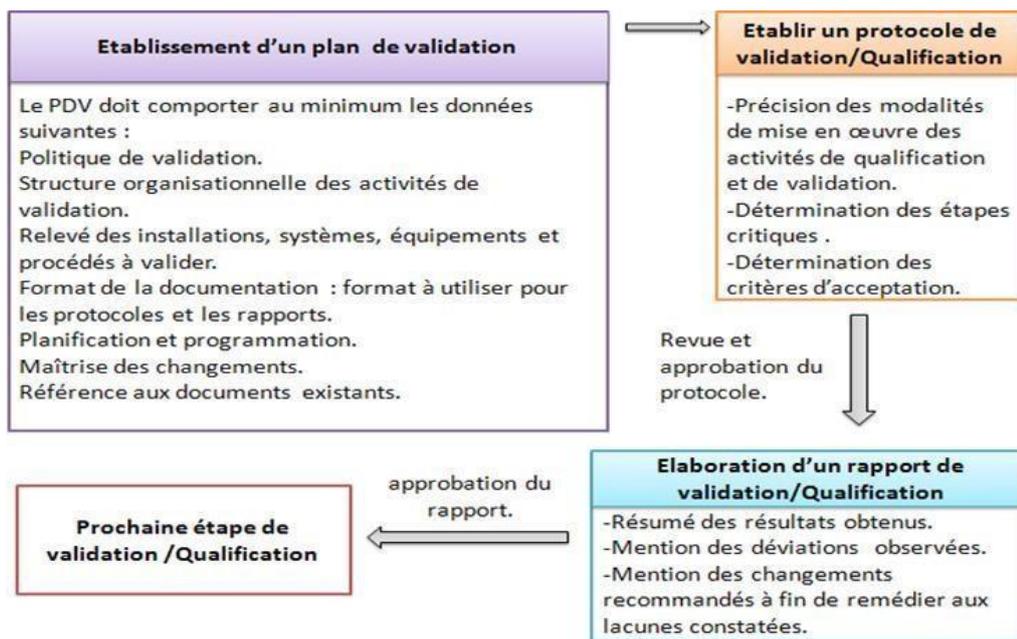
5.5 Validation des systèmes informatiques :

La validation des systèmes informatisés est une étape incontournable à l’ensemble des systèmes ayant un impact direct ou indirect sur la qualité des produits de l’industrie pharmaceutique.

6- Méthodologie d’une validation :

Les activités de validation doivent être planifiées et les éléments clés d’un programme de validation doivent être clairement définis et documentés dans un plan directeur de validation (PDV). Toute validation doit être effectuée sur des équipements Qualifiés, avec des méthodes analytiques validées et un personnel formé.

Figure 03 : Méthodologie de la validation (30)



Le protocole de validation constitue un sommaire de ce que l’on souhaite réaliser, il décrit la manière dont la validation devra être effectuée. Il est établi afin d’identifier :

- Les étapes critiques et les paramètres à suivre.
- Le plan d’échantillonnage choisi et les critères d’acceptation.

7- Types de procédures analytiques à valider :**Selon ICH: (31)**

La discussion sur la validation des procédures analytiques porte sur les quatre types de procédures analytiques les plus courants :

- Essais d'identification ;
- Tests quantitatifs de teneur en impuretés ;
- Tests limites pour le contrôle des impuretés ;
- Tests quantitatifs de la fraction active dans des échantillons de substance médicamenteuse ou de produit médicamenteux ou d'autre(s) composant(s) sélectionné(s) dans le produit médicamenteux.

Bien qu'il existe de nombreuses autres procédures analytiques, telles que les tests de dissolution pour les produits médicamenteux ou la détermination de la taille des particules pour la substance médicamenteuse, celles-ci n'ont pas été abordées dans le texte initial sur la validation des procédures analytiques. La validation de ces procédures analytiques supplémentaires est tout aussi importante que celles énumérées ici et peut être abordée dans des documents ultérieurs.

Une brève description des types de tests considérés dans ce document est fournie ci-dessous.

- Les tests d'identification sont destinés à assurer l'identité d'un analyte dans un échantillon. Ceci est normalement réalisé en comparant une propriété de l'échantillon (par exemple, spectre, comportement chromatographique, réactivité chimique, etc.) à celle d'un étalon de référence ;
- Le test des impuretés peut être soit un test quantitatif, soit un test limite pour l'impureté dans un échantillon. L'un ou l'autre test est destiné à refléter avec précision les caractéristiques de pureté de l'échantillon. Des caractéristiques de validation différentes sont requises pour un essai quantitatif et pour un essai limite ;
- Les procédures de dosage sont destinées à mesurer l'analyte présent dans un échantillon donné. Dans le contexte de ce document, le dosage représente une mesure quantitative du ou des principaux composants de la substance médicamenteuse. Pour le produit médicamenteux, des caractéristiques de validation similaires s'appliquent également lors du dosage du composant actif ou d'autres composants sélectionnés. Les mêmes caractéristiques de validation peuvent également s'appliquer aux tests associés à d'autres procédures analytiques (par exemple, la dissolution).

Tableau 2 : les différentes procédures analytiques avec leurs critères de validation selon ICH

Type d'analyse	identification	Quantité. Limite POUR IMPURETÉS		UNESSAI
procédure				- dissolution (mesure uniquement) - contenu/puissance
caractéristiques				
Précision	-	+	-	+
Précision				
Répétabilité	-	+	-	+
Précision intermédiaire	-	+(1)	-	+(1)
Spécificité (2)	+	+	+	+
Limite de détection	-	-(3)	+	-
Limite de quantification	-	+	-	-
Linéarité	-	+	-	+
Gamme	-	+	-	+

- signifie que cette caractéristique n'est normalement pas évaluée

+ signifie que cette caractéristique est normalement évaluée

- (1) dans les cas où la reproductibilité (voir glossaire) a été effectuée, la précision intermédiaire n'est pas nécessaire
- (2) le manque de spécificité d'une procédure analytique pourrait être compensé par d'autres procédures analytiques complémentaires
- (3) peut être nécessaire dans certains cas

Selon SFSTP pharma 1992

La discussion sur la validation des méthodes d'analyse est dirigée vers les quatre types les plus communs des procédures analytiques :

- ❖ Les identifications

Ont pour objet de confirmer l'identité d'une substance à analyser contenue dans un échantillon.

- ❖ Les essais de pureté

Peuvent être, soit des essais quantitatifs, soit des essais limites portant sur les impuretés contenues dans un échantillon.

- ❖ Les dosages

Ont pour objet de mesurer la quantité de substance à analyser contenue dans un échantillon donné.

Tableau 3 : Critères de validation en fonction de type de procédure à valider.

Critères	Type de procédure analytique à valider				
	Identification	Test d'impuretés		Dosage Analytique(4) (activité/ teneur)	Dosage Bio analytique
		Dosage D'impuretés	Test limit D'impuretés		
Exactitude	-	+	-	+	+
Fidélité :					
Répétabilité	-	+	-	+	+
Fidélité intermédiaire	-	+(1)	-	+(1)	+
Spécificité et/ou Sélectivité	+	+	+	+	+
Limite de Détection	-	-(3)	+	-	+
Limite de Quantification	-	+	-	-	+
Linéarité	-	+	-	+	fonction de réponse
Intervalle de validité	-	+	-	+	+
Robustesse	-(3)	-(3)	-(3)	+	+
Système de Pertinence	-	+	-	+	-

(-) Signifie que le critère n'est normalement pas évalué, (+) Signifie que le critère est normalement évalué,

- (1) Dans les cas où la reproductibilité (analyse inter-laboratoires) a été évaluée, la fidélité intermédiaire n'est pas nécessaire,
- (2) Le manque de spécificité d'une procédure d'analyse pourrait être compensé par l'utilisation d'autres procédures d'analyse,
- (3) Peut être nécessaire dans certains cas.
- (4) Les mêmes critères sont étudiés en cas de test de dissolution.

**Dans la pratique l'ordre des critères est très important.

Selon SFSTP pharma 2003-2006 (32)

La SFSTP (Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques) a publié en 2003-2006 une série de documents sur les procédures analytiques en pharmaceutique. Cependant, en tant qu'IA, mon accès à des informations spécifiques et actualisées sur les publications de la SFSTP est limité, car ma base de connaissances s'arrête en septembre 2021.

Les types de procédures analytiques couramment utilisées en pharmaceutique :

Méthodes quantitatives : Ces méthodes sont utilisées pour déterminer la quantité d'un composé spécifique dans un échantillon. Elles peuvent inclure des techniques telles que la chromatographie en phase liquide (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse (GC), la spectrophotométrie, etc.

Identification : Ces méthodes sont utilisées pour identifier la présence ou l'absence d'un composé spécifique dans un échantillon. Elles peuvent inclure des techniques telles que la spectroscopie infrarouge (IR), la spectroscopie de masse (MS), la résonance magnétique nucléaire (RMN), etc.

Méthodes de dissolution : Ces méthodes sont utilisées pour évaluer la vitesse de dissolution d'un médicament dans un milieu approprié. Elles sont souvent utilisées pour les formes pharmaceutiques solides telles que les comprimés ou les capsules.

Méthodes de pureté : Ces méthodes sont utilisées pour évaluer la pureté d'un composé ou d'un produit fini. Elles peuvent inclure des techniques telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse (GC), la spectrophotométrie UV, etc.

Méthodes de stabilité : Ces méthodes sont utilisées pour évaluer la stabilité d'un médicament ou d'un produit pharmaceutique dans des conditions spécifiques. Elles peuvent comprendre des études de dégradation forcée, des tests de stabilité accélérée, des tests de stabilité en temps réel, etc.

7- Champs d'application de la validation :

7.1- Au niveau Européen:

La validation analytique constitue un support permanent, son exigence est avant tout une pratique réglementaire, surtout pour :

- ❖ Le dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM):

La note explicative III/844/87 définit le champ d'application de la validation analytique à toute procédure d'analyse utilisée dans les chapitres suivants de la documentation chimique, Pharmaceutique et biologique définis par la directive 75/318/CEE modifiée, en vue de l'octroi de l'AMM d'un médicament :

- Développement galénique ;
- Contrôles en cours de fabrication ;
- Contrôle de la matière première (active ou non) ;
- Contrôle sur les produits intermédiaires de la fabrication ;
- Contrôle du produit fini ;
- Essais de la stabilité.
- Les monographies de la pharmacopée Européenne:

Elles doivent être considérées comme validées. Leurs conditions d'application peuvent faire l'objet d'une étude de validation si nécessaire.

7.2- Au niveau Américain:

Les procédures analytiques et les normes des monographies de l'USP (United states pharmacopée) et du NF (National Formulary) constituent des références légales. Les BPF (bonnes pratiques de fabrication) (21 CFR (Federal Code of Regulations) 211.1945 (a)) recommandent que les procédures analytiques utilisées pour vérifier que les produits pharmaceutiques sont conformes aux normes établies soient suffisamment exactes et fiables.

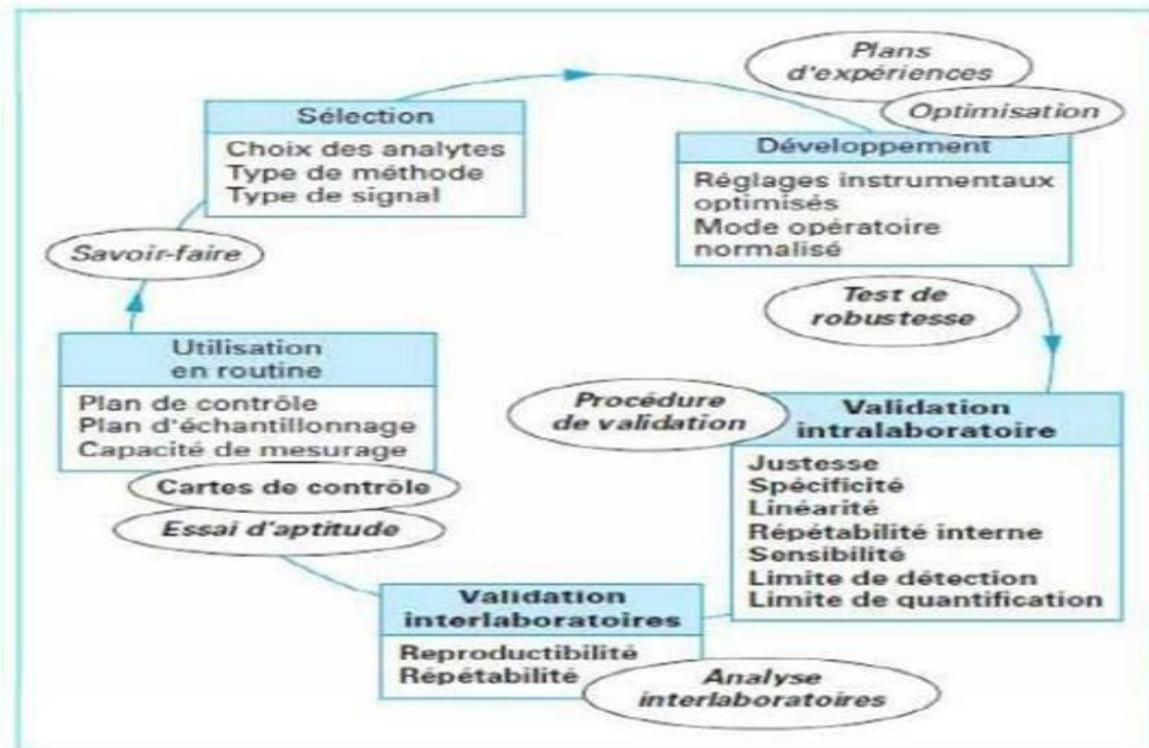
Les utilisateurs de procédures analytiques décrites dans l'USP et le NF ne sont pas tenus de vérifier la justesse et la fiabilité de ces méthodes mais, en revanche, doivent, vérifier leur adéquation dans les conditions d'utilisation proposées.

S'il s'agit de soumettre à L'USP de nouvelles procédures d'analyse, ou des révisions de procédures déjà existantes, les dossiers de soumissions devront comporter suffisamment d'informations:

- Pour permettre au comité de révisions de l'USP d'évaluer les mérites relatifs des différentes procédures;
- Pour permettre à tout analyste de reproduire la méthode;
- Et pour permettre, dans le cas de révision de procédure, de comparer les limites de la procédure de la pharmacopée par rapport aux avantages offerts par la méthode proposée. **(33)**

8- **Critères de validation :** (34) ;(35) ;(25)

Figure 04 : Critères et procédures de validation liés au cycle de vie d’une méthode d’analyse.



Les principaux critères de validation qui sont largement reconnus et couramment utilisés dans les laboratoires d’analyse présentent des confusions et des divergences concernant les terminologies, les protocoles expérimentaux et les critères d’acceptation. Une étude comparative des trois principaux guides de validation se présente comme suit

Figure 05 : *critères de validation*



8.1 Spécificité/Sélectivité

La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents.

Selon ICH : (La spécificité) La propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rende compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres composés présents.

Selon US FDA : La Sélectivité : La propriété d'une méthode d'analyse de différencier et de quantifier la substance à analyser en présence d'autres composantes dans l'échantillon.

Selon ISO 17025 : La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composés.

8.2 Fonction de réponse

À l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existante entre la réponse (signal) et la concentration de la substance à examiner dans l'échantillon. La fonction de réponse monotone la plus simple qui exprime cette relation est appelée "courbe d'étalonnage".

Selon ICH : Capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (quantité) de la substance analysée dans un échantillon (On parle de linéarité).

Selon US FDA : NA

Selon ISO 17025 : La fonction de réponse d'une procédure d'analyse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existante entre la réponse (signal) et la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon.

8.3 Exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, aussi appelée « valeur conventionnellement vraie ». L'étroitesse de l'accord ainsi observée est la résultante de la somme des erreurs systématique et aléatoire, en d'autres termes l'erreur totale liée au résultat. Par conséquent, l'exactitude est l'expression de la somme de la justesse et de la fidélité.

Selon ICH : L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée en tant que valeur vraie conventionnelle ou valeur de référence acceptée et la valeur trouvée.

Selon US FDA : (Confondu avec la justesse) l'exactitude exprime le degré d'accord de la moyenne des résultats obtenus par la méthode et la vraie valeur (concentration) de l'analyte.

Selon ISO 17025 : L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, aussi appelée « valeur conventionnellement vraie ». L'étroitesse de l'accord ainsi observée est la résultante de la somme des erreurs systématique et aléatoire, en d'autres termes l'erreur totale liée au résultat. Par conséquent, l'exactitude est l'expression de la somme de la justesse et de la

Fidélité.

8.4 Linéarité

C'est la capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle (domaine d'utilisation), d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité ou à la concentration de substance à doser.

Selon ICH : Capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (quantité) de la substance analysée dans un échantillon.

Selon US FDA : NA

Selon ISO 17025 : La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité (exemple : concentration) en analyte dans l'échantillon.

8.4 Fidélité

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. Elle fournit une indication sur les erreurs liées au hasard. La fidélité peut être évaluée à trois niveaux : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra laboratoire) et la reproductibilité (inter laboratoire).

Selon ICH : Correspond au degré d'accord (degré de dispersion) entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements à partir d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites.

Selon US FDA : Décrit le degré d'accord des mesures individuelles de l'analyte quand la méthode est appliquée avec répétabilité sur plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène de la matrice biologique.

Selon ISO 17025 : La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène (résultats d'essais indépendants) dans des conditions prescrites. La fidélité fournit une indication sur les erreurs liées au hasard. La fidélité peut être évaluée à trois niveaux : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra -laboratoire) et la reproductibilité (inter -laboratoire).

Répétabilité :

Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps.

Fidélité intermédiaire :

Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné.

Reproductibilité

Toutes les opérations sont refaites dans des conditions maximales de variabilité, c'est la précision de la méthode lorsqu'elle est appliquée dans des conditions différentes

Généralement dans des laboratoires différents - à des échantillons distincts, théoriquement identiques, prélevés sur le même lot homogène de produit à analyser.

Tableau 4: types de fidélité

Fidélité	Echantillon	méthode	Laboratoire	Opérateur	équipements	Jour
Répétabilité	Même	Même	Même	Même	Même	Même
Fidélité intermédiaire	Même	Même	Même	différent	différent	différent
Roproductibilité	Même	Même	différent	différent	différent	différent

8.5 Justesse

La justesse d'une méthode exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée.

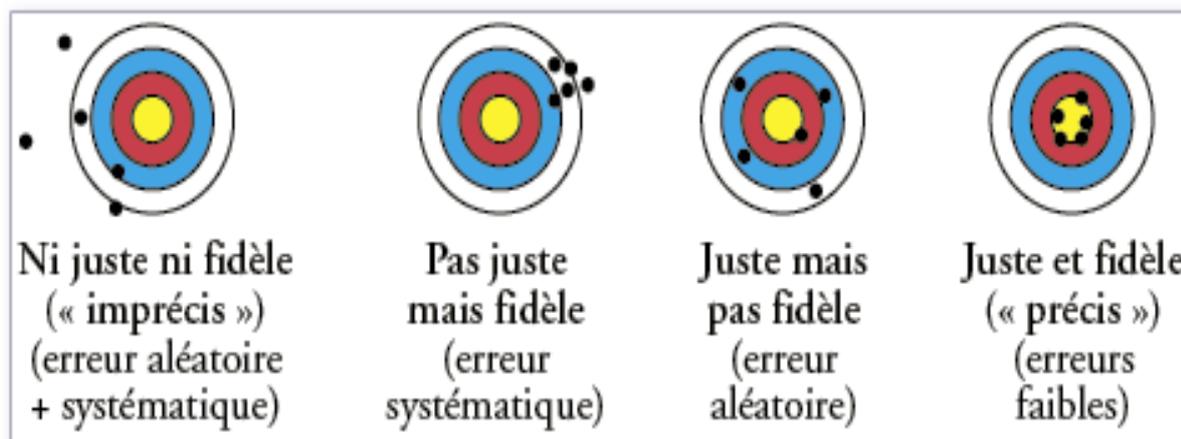
Selon ICH : Correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention. (L'exactitude est aussi désignée par la justesse).

Selon US FDA : (exactitude) décrit le degré de concordance entre la moyenne des résultats obtenus par la méthode et la valeur de référence (concentration).

Selon ISO 17025 : (biais) exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée. La mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de recouvrement et de biais absolu ou relatif (erreur systématique).

Fidélité et justesse :

La différence entre la justesse et la fidélité d'une méthode analytique peut être expliquée très clairement à l'aide du graphe suivant dont on distingue quatre cas possibles :

Figure 06: fidélité et justesse**8.6 Sensibilité**

Peut être définie comme étant le rapport de la variation de la réponse de la méthode d'analyse à la variation de la quantité d'analyte. Une procédure est dite « sensible » si une faible variation de la concentration ou de la quantité d'analyte entraîne une variation significative de la réponse.

Selon ICH : NA

Selon US FDA : La FDA définit la sensibilité à partir de (The LLOQ) la limite de quantification inférieure et qui doit être déterminée pendant le développement de la méthode.

Selon ISO 17025 : La sensibilité à une concentration donnée correspond au rapport de la valeur de la variable mesurée à la valeur correspondante de la concentration de l'élément dosé.

8.7 Limite de détection (LD)

Elle correspond à la plus petite quantité d'une substance à analyser dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte.

Selon ICH : La plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter, sans nécessairement fournir la valeur exacte.

Selon US FDA : La plus faible concentration d'un analyte que la méthode bio analytique peut différencier, d'une façon fiable, du bruit de fond.

Selon ISO 17025 : est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la

procédure.

8.8 Limite de quantification

C'est la plus petite quantité de l'analyse dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude définie.

Selon ICH : La plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude.

Selon US FDA : Limite de quantification inférieure & supérieure (LQI & LQS) : la plus faible/grande quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude.

Selon ISO 17025 : est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude définie.

8.9 Robustesse

Définition :

La robustesse est une mesure de la capacité de la méthode à rendre des résultats exacts et de rester non affectée par de faibles variations, délibérément introduites dans les paramètres de la méthode. Elle donne une indication de la fiabilité de la méthode dans les conditions normales d'utilisation.

L'ICH recommande que l'étude de la robustesse soit réalisée pendant la phase de développement.

Intérêts de l'étude de la robustesse

-La mise en évidence des qualités de stabilité d'une procédure d'analyse en présence des changements de la matière à doser ou de faibles changements des conditions opératoires.

-La robustesse donne une aide procurée à l'analyste pour affiner un mode opératoire au niveau de certains paramètres opératoires déterminants ou pour optimiser une procédure d'analyse au cours de son développement.

-Les résultats d'exploration de la robustesse d'une procédure d'analyse, lorsqu'ils figurent dans un rapport de validation apportent une aide à l'analyste qui cherchera à valider un résultat obtenu par l'application de cette procédure ayant incidemment présenté une variation sur un paramètre opératoire.

Selon ICH : La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à donner des résultats fiables des paramètres de la méthode et sa capacité à ne pas être affectée par les faibles variations [22].

Selon US FDA : NA

Selon ISO 17025 : Mesure de la capacité d'une méthode d'analyse à ne pas être affectée par des variations faibles mais délibérées des paramètres de la méthode d'analyse. Elle fournit une indication

sur la fiabilité de la méthode d'analyse dans les conditions normales d'utilisation.

8.10 Stabilité des solutions :

Stabilité de la solution du principe actif après préparation selon le protocole de la méthode, doit être évalué suivant la méthode de dosage. La plupart des laboratoires utilisent leurs HPLC en mode nuit et les échantillons seront en solution pendant des heures dans les conditions ambiantes de laboratoire avant que l'analyse soit terminée, d'où l'importance d'étudier la stabilité des solutions.

8.11 L'intervalle de dosage

L'intervalle de dosage d'une procédure d'analyse est la région entre les niveaux supérieur et inférieur (ces valeurs incluses) pour laquelle il a été démontré que la procédure est appropriée quant à son exactitude

(Justesse + fidélité) et sa linéarité, en utilisant la méthode décrite. (Stp pharma 2003)

En outre, il y a d'autres critères spécifiques pouvant être indispensables, selon les domaines concernés, comme par exemple : la stabilité de l'analyse, le recouvrement d'extraction, l'effet de dilution, etc.

Il convient d'attirer l'attention que les critères de validation décrites ci-dessus doivent être évalués, autant que possible, dans la même matrice que celle des échantillons à analyser.

Pour chaque type de matrice, toute nouvelle procédure d'analyse devra par ailleurs être validée (par exemple pour chaque type de fluide biologique envisagé et pour chaque espèce animale).

Chapitre 3

Validation d'une méthode analytique

Le principe de la validation des procédures analytiques est aujourd'hui largement répandu dans tous les domaines d'activité où des mesures sont réalisées et des directives sur la validation des méthodes analytiques sont fournies dans des publications comme les guidelines ICH, notamment le guideline ICH Q2 (R1) paru en 2005 : « Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology ».

Afin d'aider les industriels à appliquer les recommandations réglementaires éditées, par exemple par l'ICH ou dans les BPF, et en raison de l'absence d'une démarche harmonisée pour la validation des méthodes analytiques, une commission d'experts a travaillé et a publié un premier guide: guide de validation analytique de la SFSTP pharma 1992, ce dernier a contribué à faire appliquer et progresser les validations analytiques, mais il présente quelques faiblesses.

Ceci a conduit à l'élaboration d'un nouveau guide qui décrit une nouvelle démarche : le profil d'exactitude, c'est le SFSTP pharma pratique 2003/2006.

1-Validation analytique selon l'ICH :

L'ICH (International Conférences Harmonisation), crée en 1990, s'est donné comme mission de réaliser des recommandations pour l'industrie pharmaceutique rédigées sous forme de guides, dans le but d'harmoniser les pratiques. Il fait coopérer au niveau international des acteurs appartenant aux autorités et des acteurs appartenant à l'industrie pharmaceutique.

L'ICH propose une validation de méthode basée sur la validation de nombreux critères qui sont : la justesse confondue avec l'exactitude, la fidélité, la limite de quantification avec une fidélité et une justesse définie, la linéarité et l'intervalle de dosage avec une fidélité et une justesse définies. Pour le calcul de chacun des critères, il est proposé un nombre minimum d'essais et de séries d'essais pour les échantillons de validation, sans préciser comment préparer ces échantillons, ce qui rend le plan de préparation des échantillons incomplet. La reproductibilité est déterminée par des essais inter-laboratoires. Sa détermination permet de proposer des procédures analytiques à harmonisations internationales et de réaliser les monographies de la pharmacopée. Plusieurs approches sont décrites pour déterminer les limites de détection et de quantification. Le calcul du coefficient de corrélation, sur cinq séries, permet de valider la linéarité de la droite d'étalonnage, même si le coefficient de corrélation n'est pas un critère de linéarité. L'intervalle de dosage propose doit être compris entre 80 et 120 % de la (des) concentration(s) recherchée(s) Les résultats des calculs sont bruts, ils ne sont pas retravaillés pour permettre une estimation rapportée à une population. Les résultats trouvés sont propres à la méthode utilisée pour préparer les échantillons et au nombre d'essais et de séries d'essais. Autrement dit, en fonction du choix de la méthode de préparation des échantillons et du nombre d'essais, pour une même méthode de dosage, les critères de validation calculés ne sont pas identiques et donc difficilement comparables. A contrario, s'ils avaient été retravaillés pour obtenir une estimation rapportée à une population, ils seraient comparables d'un laboratoire à un autre sans se préoccuper du mode de préparation des échantillons, du nombre d'essais ou de séries d'essais.

Ce document présente une liste de critères de performance devant permettre la validation d'une méthode de dosage, leurs définitions, et un mode de calcul de ces critères, basé sur un nombre minimal de séries d'essais et de concentrations

Une ligne directrice ICH (International Conference on Harmonization) a été dédié à la validation analytique : Q2 (R1): «Analytical Validation»

1.1 «Texte sur la validation des procédures analytiques.»

1.2 «Validation of Analytical Procedures: Methodology »

1.1 Texte sur la validation des procédures analytiques :

Ce document présente une discussion sur les caractéristiques qui doivent être prises en compte au cours de la validation des méthodes analytiques.

1.1.1 Types de procédures analytiques validées :

La discussion de la validation des méthodes d'analyse est dirigée vers les quatre types les plus courants de procédures analytiques:

- Tests d'identification.
- Les tests quantitatifs pour le contenu des impuretés.
- Essais limites pour le contrôle des impuretés.
- Les tests quantitatifs de la fraction active dans les échantillons de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux ou d'un autre composant choisi (s) dans le produit pharmaceutique.

Bien qu'il existe de nombreuses autres procédures analytiques, telles que les tests de dissolution pour la détermination de la taille des produits pharmaceutiques ou des particules pour la substance médicamenteuse, ceux-ci ne sont pas traités dans le texte initial sur la validation des procédures analytiques. La validation de ces procédures analytiques supplémentaires est tout aussi importante pour ceux qui sont énumérés ici et peut être traitée dans les documents suivants. Une brève description des types de tests examinés est fournie ci-dessous.

- Tests d'identification sont destinés à garantir l'identité d'un analyte dans un échantillon. Ceci est normalement obtenu par comparaison d'une propriété de l'échantillon (par exemple, le spectre, le comportement chromatographique, la réactivité chimique, etc.) à celle d'un étalon de référence.
- Test des impuretés peut être un test quantitatif ou un test limite pour l'impureté dans un échantillon. Soit essai est destiné à refléter fidèlement les caractéristiques de pureté de l'échantillon.
- les procédures d'analyse sont conçues pour mesurer l'analyte présent dans un échantillon donné.

Dans le contexte de ce document, le dosage représente une mesure quantitative du composant majeur (s) dans la substance médicamenteuse. Pour le produit médicamenteux, des caractéristiques de validation similaires sont également applicables lorsque le dosage du composant actif ou d'un autre sélectionné (s). Les caractéristiques mêmes de validation peuvent également appliquer des dosages associés à d'autres méthodes d'analyse (par exemple, la dissolution).

L'objectif de la procédure d'analyse doit être clairement compris puisque ce régira les caractéristiques de validation qui doivent être évalués.

1.1.2 Critères de validation :

Les caractéristiques de validation typiques qui doivent être considérées sont énumérées ci-dessous :

- Spécificité (Specificity).
- linéarité (linearity).
- Exactitude (Justesse) (Accuracy).
- Fidélité (Precision).
- Répétabilité (Repeatability).
- Répétabilité intermédiaire (Intermediate precision).
- Limite de quantification (Quantification limit).
- Limite de détection (Detection limit).
- Intervalle de validité (Range).

Ces caractéristiques sont définies comme suit :

1.1.2.1 Spécificité :

La spécificité est la capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence de composants qui peuvent être censés être présents. En général, ces impuretés peuvent inclure des impuretés, des produits de dégradation, la matrice, etc. Le manque de spécificité d'une méthode d'analyse individuelle peut être compensé par un autre procédé d'analyse de support (s). Cette définition a les conséquences suivantes :

1.1.3 Identification: pour garantir l'identité d'un analyte.

1.1.4 Tests de pureté: veiller à ce que toutes les procédures analytiques effectuées permettent une déclaration précise de la teneur en impuretés d'un analyte, essai des substances liées à savoir, les métaux lourds, solvants résiduels de contenu, etc.

1.1.5 Dosage (contenu ou puissance): pour fournir un résultat exact qui permet une déclaration précise sur le contenu ou la puissance de l'analyte dans un échantillon.

1.1.2.2 Exactitude :

L'exactitude d'une procédure d'analyse exprime la proximité d'un accord entre la valeur qui est acceptée soit en tant que valeur réelle conventionnelle ou une valeur de référence acceptée et la valeur trouvée. Ceci est parfois appelé justesse.

1.1.2.3 Fidélité :

La fidélité d'une méthode d'analyse exprime le degré de concordance (degré de dispersion) entre une série de mesures obtenues à partir de plusieurs échantillons du même échantillon homogène dans les conditions prescrites. La fidélité peut être considérée à trois niveaux: la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la

reproductibilité doit être étudiée de précision en utilisant des échantillons homogènes, authentiques. Cependant, s'il est impossible d'obtenir un échantillon homogène, il peut être étudié en utilisant des échantillons préparés artificiellement ou une solution d'échantillon. La précision d'une procédure d'analyse est généralement exprimée en la variance, écart-type ou coefficient de variation d'une série de mesures.

Répétabilité : exprime la fidélité dans les mêmes conditions de fonctionnement sur un court intervalle de temps. Répétabilité est aussi appelée fidélité intra-dosage.

Fidélité intermédiaire : La fidélité intermédiaire exprime intra- laboratoires différents: variations jours, différents analystes, différents équipements, etc.

Reproductibilité : la reproductibilité exprime la fidélité entre les laboratoires (études de collaboration, généralement appliquée à la normalisation de la méthodologie).

1.1.2.4 Limite de détection :

C'est la plus faible quantité de substance à analyser dans un échantillon qui peut être détecté, mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte.

1.1.2.5 Limite de quantification :

C'est la plus faible quantité de substance à analyser dans un échantillon qui peut être déterminée quantitativement avec une précision convenable. La limite de quantification est un paramètre d'essais quantitatifs pour des composés de faibles niveaux dans les matrices échantillon, et est utilisé en particulier pour la détermination des impuretés et / ou des produits de dégradation.

1.1.2.6 Linéarité :

C'est sa capacité (dans une plage donnée) pour obtenir des résultats de test qui sont directement proportionnelles à la concentration (quantité) de l'analyte dans l'échantillon.

1.1.2.7 Gamme :

C'est l'intervalle entre la concentration supérieure et inférieure de l'analyte dans l'échantillon (les concentrations comprises) pour lesquels la méthode d'analyse a un niveau approprié d'exactitude, de fidélité et de linéarité.

1.1.2.7 Robustesse :

C'est une mesure de sa capacité à rester non affecté par les petits, mais les variations délibérées des paramètres de méthode et fournit une indication de sa fiabilité lors de l'utilisation normale.

1.2 Validation des procédures analytiques :

Méthodologie :

Ce document est un complément du document principal, son but est de fournir des conseils et recommandations sur la manière d'appréhender les différentes caractéristiques de la validation pour chaque méthode analytique. En outre, le document fournit une indication sur les données qui devraient être présentées dans un dossier d'enregistrement.

De plus, il donne une indication des données qui doivent être présentées dans une demande d'enregistrement.

Ce document prend en compte les différentes caractéristiques de validation dans des sections distinctes. La disposition de ces sections reflète le processus par lequel peut être mis au point une procédure d'analyse et d'évaluation. En pratique, il est habituellement possible de suivre un plan d'expérimentation qui permet d'évaluer simultanément les divers attributs à valider, et d'en venir ainsi à bien connaître l'ensemble des propriétés de la méthode d'analyse (par ex., spécificité, linéarité, écart d'utilisation, exactitude et précision).

1. Spécificité :

Une enquête de spécificité doit être effectuée lors de la validation des tests d'identification, la détermination des impuretés et le dosage. Le choix des moyens utilisés pour démontrer la spécificité dépend de l'objectif de la méthode d'analyse.

Il n'est pas toujours possible de démontrer qu'une méthode d'analyse présente une spécificité à une substance donnée. Le cas échéant, il est recommandé d'utiliser au moins deux méthodes pour obtenir le degré de discrimination voulu.

1.1. Identification :

Tests d'identification appropriés devraient être en mesure de distinguer les composés de structures étroitement liées qui sont susceptibles d'être présents. La discrimination d'une procédure peut être confirmée par l'obtention de résultats positifs (peut-être par comparaison avec un matériau de référence connu) à partir d'échantillons contenant l'analyte, couplé avec un résultat négatif à partir d'échantillons qui ne contiennent pas l'analyte. En outre, le test d'identification peut être appliqué à des matériaux de structure similaire ou étroitement liés à l'analyte pour confirmer qu'une réponse positive n'est pas obtenue. Le choix de ces matériaux potentiellement interférant doit être fondé sur un jugement scientifique solide avec une prise en compte des interférences qui pourraient se produire.

1.2. Dosage et Impuretés Test (s) :

Pour démontrer la spécificité des méthodes chromatographiques, on devra utiliser des chromatogrammes représentatifs où chacune des composantes est convenablement identifiée.

Des considérations semblables s'appliquent aux autres techniques de séparation.

L'examen des séparations chromatographiques déterminantes devra être aussi poussé qu'il est nécessaire. On pourra démontrer la spécificité de ces méthodes en les utilisant pour séparer deux des composantes dont les pics d'éluion sont les plus proches l'un de l'autre.

Si la méthode de détermination de la teneur n'est pas spécifique, il faudra des tests complémentaires pour démontrer la spécificité totale. Par exemple, si l'on dose une substance médicamenteuse à l'aide d'un titrage, on pourra le compléter en ajoutant un test de dosage approprié pour les impuretés.

➤ Impuretés sont disponibles :

S'il est possible d'obtenir des impuretés, on doit alors démontrer que la méthode de détermination de la teneur permet de faire la distinction entre la substance à analyser, les impuretés et (ou) les excipients. Pour ce faire, on enrichit la substance pure (substance médicamenteuse ou produit fini) en y ajoutant une quantité suffisante d'impuretés et (ou) d'excipients, puis on démontre que ces composantes additionnelles n'influencent pas les résultats obtenus pour la teneur (par comparaison aux résultats obtenus avec des échantillons non enrichis).

Pour le test des impuretés, on peut mettre en évidence les propriétés de discrimination de la méthode en ajoutant à la substance médicamenteuse ou au produit fini une quantité suffisante d'impuretés pour ensuite démontrer que les différentes impuretés présentes sont séparées les unes des autres et (ou) des autres composantes dans la matrice de l'échantillon.

➤ ***Impuretés ne sont pas disponibles :***

Si les impuretés ou des normes produits de dégradation ne sont pas disponibles, la spécificité peut être démontrée en comparant les résultats d'essai des échantillons contenant des impuretés ou des produits de dégradation à une seconde procédure bien caractérisée, par exemple: méthode de la pharmacopée ou toute autre procédure analytique validée (procédure indépendante). Le cas échéant, ceci devrait inclure des échantillons stockés dans des conditions de stress pertinentes: la lumière, la chaleur, l'humidité, l'acide / hydrolyse et l'oxydation base.

- Pour l'essai, il convient de comparer les deux résultats.
- Pour les tests d'impuretés, les profils d'impuretés doivent être comparés. Les tests de pureté des pics peuvent être utiles pour montrer que l'analyte pic chromatographique n'est pas attribuable à plus d'un composant (par exemple, réseau de diodes, spectrométrie de masse).

2. Linéarité :

Une relation linéaire doit être évaluée à travers la gamme de la procédure d'analyse. Il peut être démontré directement sur la substance médicamenteuse (par dilution d'une solution mère standard) et / ou pesées distinctes de mélanges synthétiques des composants du produit médicamenteux, en utilisant la procédure proposée. Ce dernier aspect peut être étudié au cours de l'enquête de la gamme. La linéarité doit être évaluée par inspection visuelle d'une courbe de signaux en fonction de la concentration d'analyte ou de contenu. S'il existe une relation linéaire, les résultats des tests doivent être évalués par des méthodes statistiques appropriées, par exemple par calcul d'une droite de régression par la méthode des moindres carrés. Dans certains cas, pour obtenir la linéarité entre les dosages et concentrations des échantillons, les données de test peuvent avoir besoin d'être soumis à une transformation mathématique avant l'analyse de régression. Les données de la ligne de régression lui-même peuvent être utiles de fournir des estimations mathématiques du degré de linéarité.

Le coefficient de corrélation, ordonnée à l'origine, la pente de la droite de régression et la somme des carrés résiduelle doit être soumis. Une parcelle des données doit être incluse. En outre, une analyse de l'écart entre les points de données réelles de la droite de régression peut également être utile pour évaluer la linéarité. Pour la détermination.

3. Gamme :

La plage spécifiée est normalement dérivée d'études de linéarité et dépend de l'application prévue de la procédure. Il est établi en confirmant que la procédure d'analyse fournit un degré acceptable de linéarité, l'exactitude et la précision lorsqu'ils sont appliqués à des échantillons contenant des quantités d'analyte à l'intérieur ou aux extrémités de la plage spécifiée de la procédure d'analyse. Les plages minimales spécifiées suivantes devraient être envisagées:

- ***Pour le dosage d'une substance médicamenteuse ou un produit fini (médicament):***
Normalement de 80 à 120 pour cent de la concentration d'essai;

- **Pour l'uniformité du contenu :** couvrant un minimum de 70 à 130 pour cent de la concentration d'essai, à moins qu'un vaste éventail plus appropriée, en fonction de la nature de la forme posologiques (par exemple, des inhalateurs- doseurs), est justifiée.
- **Pour les tests de dissolution:** +/- 20% par rapport à la plage spécifiée; par exemple, si les caractéristiques d'un produit à libération contrôlée couvrent une région de 20%, après 1 heure, jusqu'à 90%, après 24 heures, la plage validée serait 0-110% du libellé d'étiquette.
- **Pour la détermination d'une impureté:** à partir du niveau de déclaration d'une impureté 1 à 120% de la spécification; - pour les impuretés connues pour être particulièrement puissant ou pour produire des effets pharmacologiques ou toxiques inattendus, devrait être proportionnel au niveau auquel doivent être contrôlés les impuretés de la limite de détection / quantification.

4. Exactitude :

L'exactitude doit être établie sur toute la gamme spécifiée de la procédure d'analyse.

- **Essai :**

- **Substance médicamenteuse :** Plusieurs méthodes de détermination de l'exactitude sont disponibles:

- a) L'application d'une méthode d'analyse pour un analyte de pureté connue (par exemple, des matériaux de référence).
- b) La comparaison des résultats de la procédure d'analyse proposée avec ceux d'une deuxième procédure bien caractérisée, dont l'exactitude est indiqué et / ou définie.
- c) L'exactitude peut être déduite une fois la fidélité, la linéarité et la spécificité ont été établies.

- **Produits pharmaceutiques :** Plusieurs méthodes pour déterminer l'exactitude sont disponibles:

- a) L'application de la méthode d'analyse de mélanges synthétiques des composants du produit médicamenteux à laquelle des quantités connues de la substance médicamenteuse à analyser ont été ajoutées.
- b) Dans les cas où il est impossible d'obtenir des échantillons de tous les composants du produit pharmaceutique, il peut être acceptable, soit pour ajouter des quantités connues de l'analyte pour le produit médicamenteux ou de comparer les résultats obtenus à partir d'une seconde procédure bien caractérisée, l'exactitude de qui est dit et / ou défini.
- c) L'exactitude peut être déduite une fois la fidélité, la linéarité et la spécificité ont été établies.

- **Impuretés (Quantification) :**

L'exactitude doit être évaluée sur des échantillons (substance médicamenteuse / médicament) dopés avec des quantités connues d'impuretés. Dans les cas où il est impossible d'obtenir des échantillons de certaines impuretés et / ou des produits de dégradation, il est considéré comme

acceptable pour comparer les résultats obtenus par une procédure indépendante. Le facteur de réponse de la substance médicamenteuse peut être utilisé. Il devrait être clair comment les impuretés individuelles ou totales doivent être déterminées par exemple, le poids / poids ou pourcentage d'aire, dans tous les cas par rapport au grand analyte.

5. Fidélité :

Validation des tests de dosage et pour la détermination quantitative d'impuretés comprend une enquête de précision.

5.1 Répétabilité :

Pour évaluer la répétabilité, il faut :

- a- Au moins neuf mesures englobant l'écart d'utilisation de la méthode (c.-à-d. trois concentrations avec trois échantillons chacune). Ou
- b- Au moins six mesures d'une concentration à 100 % de la teneur escomptée.

5.2 Fidélité intermédiaire :

La mesure dans laquelle la fidélité intermédiaire doit être établie dépend des circonstances dans lesquelles le procédé est destiné à être utilisé. Le demandeur doit établir les effets des événements aléatoires sur la fidélité de la procédure d'analyse. Les variations typiques à étudier comprennent les jours, les analystes, l'équipement, etc. Il ne semble pas nécessaire d'étudier ces effets individuellement. L'utilisation d'un modèle expérimental (matrice) est encouragée.

5.3 Reproductibilité :

La reproductibilité est évaluée au moyen d'un essai inter-laboratoires. Reproductibilité doit être envisagée en cas de la normalisation d'une procédure d'analyse, par exemple, pour l'inclusion des procédures dans les pharmacopées. Ces données ne font pas partie du dossier d'autorisation de mise sur le marché.

5.4 Données recommandées :

L'écart-type, l'écart type relatif (coefficient de variation) et l'intervalle de confiance doit être signalée pour chaque type de fidélité étudiée.

6.Limite de détection :

Plusieurs approches pour la détermination de la limite de détection sont possibles, selon que la procédure est non instrumentale ou instrumentale. Les approches autres que celles énumérées ci-dessous peuvent être acceptables.

6.1 Sur la base de l'évaluation visuelle :

L'évaluation visuelle peut être utilisée pour des méthodes non instrumentales, mais peut également être utilisé avec des méthodes instrumentales. La limite de détection est déterminée par l'analyse d'échantillons avec des

concentrations connues d'analyte et en établissant le niveau minimum à partir duquel l'analyte peut être détecté de manière fiable.

6.2 Sur la base du signal-bruit :

Cette approche ne peut être appliquée à des procédures analytiques qui présentent un bruit de fond. Détermination du rapport signal-sur-bruit est effectuée en comparant les signaux mesurés à partir d'échantillons avec de faibles concentrations connues d'analyte avec ceux des échantillons témoins et à établir la concentration minimale à laquelle l'analyte peut être détecté de manière fiable. Un rapport signal sur bruit entre 3 ou 2: 1 est généralement considérée comme acceptable pour l'estimation de la limite de détection.

6.3 Sur la base de l'écart-type de la réponse et la pente :

La limite de détection (LD) peut être exprimée sous la forme: $LD = 3.3 \sigma / S$ Où σ = l'écart type de la réponse. S = la pente de la courbe d'étalonnage. La pente S peut être estimée à partir de la courbe d'étalonnage de l'analyte. L'estimation de σ peut être réalisée dans une variété de façons, par exemple:

- ***Sur la base de l'écart type du blanc :*** La mesure de l'ampleur de la réponse d'arrière-plan d'analyse est effectuée en analysant un nombre approprié d'échantillons blancs et en calculant l'écart-type de ces réponses.
- ***Sur la base de la courbe d'étalonnage :*** Une courbe d'étalonnage spécifique devrait être étudiée en utilisant des échantillons contenant un analyte dans la gamme de LD L'écart-type résiduel d'une ligne de régression ou l'écart type des ordonnées à l'origine des droites de régression peut être utilisé comme l'écart-type.

7 Limite de quantification :

Plusieurs approches pour déterminer la limite de quantification sont possibles, selon que la procédure est non instrumentale ou instrumentale. Les approches autres que celles énumérées ci-dessous peuvent être acceptables.

7.1 Sur la base de l'évaluation visuelle :

La limite de quantification est généralement déterminée par l'analyse d'échantillons avec des concentrations connues d'analyte et en établissant le niveau minimum à partir duquel l'analyte peut être quantifiée avec une exactitude et une précision acceptable.

7.2 Sur la base de l'approche signal-bruit :

Détermination du rapport signal-sur-bruit est effectuée en comparant les signaux mesurés à partir d'échantillons avec de faibles concentrations connues d'analyte avec ceux des échantillons témoins et en déterminant la concentration minimale à laquelle l'analyte peut être quantifié de manière fiable. Un rapport signal-bruit typique est de 10.

7.3 Sur la base de l'écart-type de la réponse et la pente :

La limite de quantification (LQ) peut être exprimée sous la forme : $LQ = 10 \sigma / S$ Où σ = l'écart type de la réponse. S = la pente de la courbe d'étalonnage. La pente S peut être estimée à partir de la courbe d'étalonnage de l'analyte. L'estimation de σ peut être réalisée dans une variété de façons, par exemple:

7.3.1 Basé sur l'écart type du blanc : La mesure de l'ampleur de la réponse d'arrière- plan d'analyse est effectuée en analysant un nombre approprié d'échantillons blancs et en calculant l'écart-type de ces réponses.

7.3.2 Sur la base de la courbe d'étalonnage : Une courbe d'étalonnage spécifique devrait être étudiée en utilisant des échantillons contenant un analyte dans la gamme de LQ.

8 Robustesse :

L'évaluation de la robustesse se fait durant la phase de mise au point. Cette évaluation doit démontrer que la méthode demeure fiable lorsqu'on introduit des variations planifiées de paramètres. Si les résultats peuvent varier selon les conditions d'analyse, il faut veiller à ce que celles-ci soient adéquatement contrôlées ou recommander certaines précautions dans la marche à suivre.

L'évaluation de la robustesse a notamment pour conséquence la définition d'un ensemble de paramètres sur le caractère approprié de la méthode d'analyse qui permet de garantir la validité de cette méthode, quelles que soient les conditions d'utilisation. Voyons quelques exemples de variations caractéristiques :

- La stabilité des solutions d'analyse.
- Le temps d'extraction.

Dans le cas de la chromatographie liquide, des exemples de variations typiques sont les suivants:

- Influence des variations de pH dans une phase mobile.
- Influence des variations de la composition de la phase mobile.
- Des colonnes différentes (différents lots et / ou des fournisseurs).
- Température.
- Débit.

9.Vérification du système de suitability :

La vérification du système de suitability fait partie intégrante de nombreuses méthodes d'analyse. Elle suppose que l'équipement, les dispositifs électroniques, les opérations d'analyse et les échantillons constituent un système cohérent et peuvent être évalués comme tels. Les critères en fonction desquels on détermine si le système est approprié dépendent de la méthode à valider.

L'ICH confonds d'une part, la linéarité et la courbe d'étalonnage et, d'autre part, les résultats et le signal. Il considère que "La limite de quantification est un paramètre des méthodes de dosage des substances présentes en faibles quantités dans les matrices d'échantillon; elle est plus particulièrement utilisée dans le dosage des impuretés et (ou) des produits de dégradation ". Il définit la limite de quantification d'une procédure analytique

individuelle comme "la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de fidélité et d'exactitude ". Le document ICH définit une seule limite de quantification. Mais l'intervalle de dosage d'une procédure analytique a deux limites : LQI (LQ inférieure) et LQS (LQ supérieure).

Concernant la définition de l'exactitude, Il ne s'agit plus de l'exactitude, mais plutôt de la définition de la justesse qui est la valeur moyenne de plusieurs résultats (par opposition à un seul résultat pour l'exactitude) qui est comparée à la vraie valeur. L'exactitude est désignée par le mot « justesse »".

L'ICH ne propose pas une méthodologie pour la limite de détection, l'étude de la robustesse, ni une approche pour établir la performance des méthodes, cela reste à la charge de l'opérateur.

L'ICH ne propose pas de méthode d'analyse des résultats des critères de validation, charge à l'opérateur de se fixer les limites pour tous ces critères. Il n'y a pas non plus d'information sur l'impact des critères de validation sur la performance réelle attendue du dosage. Aucun exemple n'est proposé pour illustrer une validation de méthodes de dosage.

Il ne permet pas de savoir comment valider tous ces critères. En suivant les recommandations de l'ICH, la validation d'une méthode passe par la détermination de critères de validation, mais pas par une validation de ces critères. A partir du moment où ces critères sont calculés, la méthode est validée. [5], [16], [17]

2-Validation analytique selon SFSTP 2003-2006 :

Les premiers guides de la SFSTP (1992 et 1997 pour les analyses biologiques) ont largement contribué à faire appliquer et progresser les validations analytiques.

Pendant, ils présentent quelques faiblesses qui ont conduit à l'élaboration d'un nouveau guide.

Une nouvelle commission SFSTP a rédigé le guide SFSTP 2003 et a proposé de garder les mêmes bases de la validation analytique pour une démarche harmonisée, en distinguant notamment les règles de diagnostic et les règles de décision. Ces dernières basent sur l'utilisation du profil d'exactitude, une nouvelle stratégie de validation qui repose sur la notion d'erreur totale (biais + écart-type), permettant de simplifier l'approche de la validation d'une procédure analytique tout en contrôlant le risque associé à son utilisation.

Cette approche permet donc de minimiser considérablement le risque d'accepter une procédure qui ne serait pas suffisamment exacte ou, au contraire, de rejeter une procédure qui serait capable (dans les deux cas il s'agit d'améliorer significativement le rapport coût/efficacité des prestations).

Elle est en parfait accord avec l'objectif d'une méthode analytique, à savoir sa capacité de quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues qu'un laboratoire aura à déterminer. Ce nouveau guide a aussi pour objectif de proposer un consensus sur les normes communément admises en incorporant largement la terminologie ISO.

Le second guide SFSTP2006 complète le premier guide (SFSTP 2003) par le développement de l'ensemble des calculs statistiques nécessaires à l'implémentation des concepts présentés dans la partie 1 du guide.

Dans la troisième partie de ce guide, l'harmonisation de cette approche est également illustrée par plusieurs exemples couvrant différents champs d'application sa fin d'en faciliter la compréhension et la mise en pratique.

1. Domaines d'application :

Les différents secteurs d'application visés par ce guide sont :

- Les sociétés prestataires de services.
- Les autorités réglementaires.
- Les laboratoires officiels de contrôle.
- Les industries des domaines d'activité suivants : chimie, pharmacie, biopharmacie, agroalimentaire, environnement, cosmétologie...etc.

L'objectif du guide est donc de proposer une démarche harmonisée de validation applicable aux différentes procédures analytiques quantitatives, et ce indépendamment du secteur d'activité.

2. Critères de validation :

Il est important de préciser qu'à l'heure actuelle il n'y a pas toujours une Convergence entre les différents documents réglementaires (ISO, ICH, AFNOR, FDA...etc.) quant à la définition des critères de validation à tester. C'est ainsi que la notion de linéarité apparaît ou non et que son interprétation peut être différente d'un document à l'autre. Il en va de même avec la justesse qui, selon les documents, est confondue avec l'exactitude. C'est pourquoi, dans un souci d'harmonisation mais aussi de cohérence, le guide SFSTP 2003 a retenu la norme ISO comme principal référentiel pour la définition des critères de validation.

1. Spécificité-sélectivité :

La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents.

2. Fonction de réponse (courbe de d'étalonnage) :

La fonction de réponse d'une méthode analytique est, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existante entre la réponse (signal) et la concentration de la substance à examiner dans l'échantillon. La fonction de réponse monotone la plus simple qui exprime cette relation est appelée "courbe d'étalonnage".

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

$Y = f(X) + e$ Ou $e \sim N(0, \sigma^2)$ est l'erreur associée à la fonction de réponse f appelée communément erreur résiduelle.

Il faut donc ajuster la fonction de réponse, c'est à-dire évaluer les paramètres du modèle, de manière à ce que l'erreur résiduelle soit minimisée.

Deux familles de fonctions de cet ensemble apparaissent: les fonctions dites linéaires en leurs paramètres et les fonctions non linéaires. Diverses fonctions de réponse peuvent être envisagées lors de la validation de la méthode et leur choix dépend du type de méthode (méthode physicochimique, bio analytique, immuno-dosage, etc.).

Par ailleurs, parmi les fonctions de réponses acceptables, on pourra remarquer que certaines fournissent des résultats meilleurs que d'autres. Ce seront ces dernières qui devront être retenues. Le coefficient de détermination R^2 est toujours supérieur à 0,99 pour l'ensemble de ces modèles, mais il n'est pas une indication fiable de la qualité des résultats rendus de la procédure.

3. Justesse:

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée comme telle. La justesse donne une indication sur les erreurs systématiques.

La justesse est exprimée en termes de biais absolu (mg/ml), de biais relatif (%) ou de taux de recouvrement (%) pour chaque niveau de concentration des standards de validation.

Elle est obtenue en calculant la différence entre la moyenne arithmétique des concentrations introduites et la moyenne des concentrations calculées.

4. Fidélité:

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. Elle donne des informations sur l'erreur aléatoire et est évaluée à trois niveaux: la répétabilité et la fidélité intermédiaire et reproductibilité. La fidélité traduit uniquement la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée. La mesure de fidélité est calculée à partir de l'écart type des résultats d'essais.

Le terme « résultats d'essai indépendants » signifie des résultats obtenus d'une façon non influencée par un essai précédent sur le même matériau ou similaire, compte tenu des contraintes liées au secteur d'activité concerné.

Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Peuvent ainsi être distinguées les conditions de :

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

La fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire) peut être exprimée en écart type (SD) et en termes de coefficient de variation (CV).

L'estimation de la variance intra-série donne une estimation de la variance de répétabilité tandis que la somme des estimations des variances intra- et inter série donne une estimation de la variance de fidélité intermédiaire.

5. **Exactitude :**

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée comme telle, appelée également "valeur conventionnellement vraie". L'exactitude prend en compte l'erreur totale, c'est à dire l'erreur systématique et l'erreur aléatoire liées au résultat. Par conséquent, l'exactitude est l'expression de la somme de la justesse et de la fidélité.

Le profil d'exactitude est obtenu en reliant entre elles d'une part les bornes inférieures et d'autre part les bornes supérieures de l'intervalle de tolérance, bornes calculées pour chaque niveau de concentration.

La méthode est considérée comme valide pour l'intervalle de dosage où le profil d'exactitude est compris dans les limites d'acceptation fixées a priori.

Cette approche garantit garantirait que seules 5.0% des futures mesures d'échantillons inconnus seront en dehors de ces limites. Dans sa définition de 1994 (la norme ISO 5725), l'exactitude est très proche de la justesse. Cependant, la note explicative CEE III/844/87 montre qu'il s'agit d'un mélange entre la justesse (un biais) et la fidélité (un écart type). C'est pourquoi le terme « exactitude » est toujours accompagné des termes « justesse » et « fidélité » dans le titre même de la norme ISO 5725. En fait, on ne peut pas mesurer en un seul paramètre un écart à une valeur de référence et une dispersion des résultats. C'est pourquoi on préfère aujourd'hui parler, d'une part, d'incertitude qui est caractérisée par un écart type composé (dont une des composantes est la composante aléatoire du biais de justesse), d'autre part, de justesse. Signalons encore que le seul intérêt de l'incertitude par rapport à la fidélité est de se rapprocher du vocabulaire classique de la métrologie.

6. **Linéarité :**

La linéarité d'une méthode analytique est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en analyte dans l'échantillon.

L'exigence de linéarité s'applique aux résultats (concentration calculée = f (concentrations introduites)), pas aux réponses (signal = f(concentrations introduites)). C'est un pré-requis à l'estimation de la justesse. A l'inverse, l'existence d'une relation linéaire entre la concentration estimée et la concentration introduite n'implique pas que la méthode soit juste.

7. **Limites de détection (LD) :**

La limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la procédure.

8. **La limite de quantification (LO):**

La limite inférieure de quantification est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites, avec une exactitude définie. La définition peut également être appliquée pour la limite supérieure de quantification, qui est la plus grande quantité de l'analyte dans l'échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites, avec une exactitude définie.

Les limites de quantification sont obtenues en calculant la plus petite et la plus grande concentration pour lesquelles les limites d'exactitude, c'est à dire les limites de l'intervalle de tolérance attendu au niveau β sortent des limites d'acceptation.

9. Intervalle de dosage:

L'intervalle de dosage est l'intervalle compris entre les limites inférieure et supérieure de quantification où la procédure analytique atteint l'exactitude souhaitée.

10. Sensibilité :

La sensibilité d'une procédure d'analyse peut être définie comme étant le rapport de la variation de la réponse de la méthode d'analyse à la variation de la quantité d'analyte.

De plus, selon les domaines d'activité concernés, d'autres critères plus spécifiques peuvent être requis, par exemple :

- stabilité de l'analyte ;
- rendement d'extraction (absolu et relatif) ;
- effet de dilution, etc.

11. Stabilité :

La stabilité de la substance à analyser doit être testée pendant la phase de développement et confirmée au terme de la validation de la procédure de dosage puisqu'elle conditionne la validité des autres critères. Le contrôle de la stabilité s'effectue le plus souvent, en fonction de l'intervalle de dosage, à un ou deux niveaux de concentration représentatifs de cet intervalle. À partir de solution fraîchement préparée ou reconstituée dans la matrice cible, répartie en nombre suffisant d'aliquotes, la stabilité est évaluée sur la base minimale de trois échantillons par mesure dans des conditions de conservation variées, telles que la lumière, l'obscurité, la température, le pH, etc. Ces conditions sont le plus souvent fonction de la pratique courante du laboratoire et des demandes réglementaires. L'application, l'acceptabilité et l'interprétation des normes de stabilité restent à ce jour propre à chaque laboratoire.

12. Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction absolu peut être obtenu par le rapport des signaux mesurés, d'une part après traitement de l'échantillon chargé avec une quantité connue et d'autre part après l'injection directe dans le système analytique d'une solution de référence contenant une concentration équivalente de substance à examiner. Le rendement d'extraction absolu est un critère important pour les procédures nécessitant une extraction préalable du principe actif. Si le rendement d'extraction est faible, il conviendra donc de poursuivre le développement de la méthode. En effet, ce critère intervient directement dans l'évaluation du seuil de quantification de la méthode.

13. Effet de la dilution :

L'effet de dilution doit également être testé afin de valider le protocole qui sera appliqué en routine pour diluer les échantillons dont la concentration dépasserait le seuil supérieur de l'intervalle de dosage.

3- Les règles de décision :

Puisque les documents réglementaires relatifs à la validation des méthodes sont à caractères global, ils laissent une place à l'interprétation des analystes qui pourront alors choisir la règle de décision qui permettra de déclarer valide une méthode d'analyse. On distingue :

1. L'approche descriptive.
2. L'approche de différence.
3. L'approche d'équivalence.
4. L'approche erreur totale ou profil d'exactitude.

On s'intéresse à l'approche d'erreur totale ou profil d'exactitude qui est une règle de décision, à la fois pratique et visuelle, la nouvelle stratégie de la SFSTP.

4-Profil d'exactitude :**4.1 Méthode du profil d'exactitude :**

La validation de méthodes par profil d'exactitude, est une méthode basée sur l'estimation d'un intervalle, dans lequel se situe le résultat d'un dosage, et de vérifier qu'il ne sorte pas des limites fixés.

Pour représenter schématiquement cette validation de méthode d'analyse, il faut définir le pourcentage $\beta\%$ des résultats qui doivent se trouver dans les limites $-\lambda +\lambda$, définir les limites $-\lambda +\lambda$ et les concentrations de validation. Il est recherché un intervalle dans lequel se situe $\beta\%$ des résultats, obtenu par une méthode, dans un laboratoire donné, à une concentration définie. Cet intervalle est l'intervalle de confiance estimé, contenant $\beta\%$ des résultats, représentant l'exactitude de la méthode de dosage. La confrontation entre les limites définies $-\lambda +\lambda$ et les limites de cet intervalle de confiance, aux différentes concentrations étudiées, est appelé un profil d'exactitude et permet de prendre la décision de validation ou non de la méthode dans un laboratoire.

Le profil d'exactitude permet une représentation visuelle des performances futures de la procédure et son utilisation comme seul outil de décision, permet non seulement de réconcilier les objectifs de la procédure avec ceux de la validation, mais aussi de visualiser rapidement la capacité de la procédure à répondre de façon fiable à son objectif analytique.

4.2 Critères de validation et intervalles de tolérance :**A. Justesse et fidélité par niveau :**

La justesse et la fidélité d'une méthode pouvaient dépendre du niveau de concentration de l'analyte. Il serait donc incorrect de calculer une valeur unique représentant la totalité des mesures obtenues par cette méthode, comme les approches classiques de validation le conseillent généralement.

La méthode du profil d'exactitude propose de déterminer la justesse et la fidélité de la méthode en calculant les critères suivants pour chaque niveau de concentration étudié:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J X_{ij}}{I \times J} \text{ Concentration introduite moyenne.}$$

$$\bar{Z} = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J Z_{ij}}{I \times J} \text{ Concentration calculée moyenne.}$$

$S_r = \sqrt{SCEB / (I(J-1))}$ - Ecart-type de répétabilité.

$SI_{FI} \sqrt{S_B^2 + S_r^2}$ - Ecart-type de fidélité intermédiaire.

$CV_{FI} = \frac{SI_{FI}}{\bar{X}} \times 100$ Coefficient de variation de fidélité intermédiaire.

$$\frac{Z}{\bar{X}} \times 100$$

Taux de recouvrement moyen.

Avec : SCEr: la Somme des carrés des écarts résiduelle.

SCEB: la Somme des carrés des écarts inter-séries.

X : La valeur de référence de l'échantillon étudié.

Z : La valeur moyenne de mesurages répétés sur Ce même échantillon.

I: le nombre de séries.

J: Le nombre de répétitions par série.

Les valeurs des critères calculés ne doivent pas être interprétées pour juger de la validité de la méthode analytique. En effet, le profil d'exactitude regroupe les notions de justesse et de fidélité dans le concept d'exactitude. On calcule ainsi l'intervalle de tolérance des valeurs par niveau de concentration, en utilisant les critères calculés précédemment.

B. Intervalle de tolérance par niveau :

Il s'agit d'un intervalle dans lequel on est capable de prédire que se trouve en moyenne une proportion connue de mesures.

Cet intervalle peut être calculé de plusieurs façons.

On appelle β la proportion attendue de résultats futurs.

L'intervalle de tolérance (IT) est calculé pour chaque niveau de concentration selon la formule suivante : [biais % - $Q_t \times S_{IT}$, biais % + $Q_t \times S_{IT}$] Intervalle de tolérance.

Les coefficients intervenant dans cette formule sont calculés comme suit:

$$B = \sqrt{\frac{R + 1}{J \times R + 1}} \quad \text{Coefficient } B.$$

$$R = \frac{S^2}{S_r^2} \quad \text{Coefficient } R.$$

$$S_{IT} = S_{FI} \times \sqrt{1 + \frac{1}{IJ \times B^2}} \quad \text{Ecart-type de l'IT.}$$

$$Q_t = t_{\frac{1+\beta}{2}, \nu}$$

Facteur de couverture de l'IT.

Dans le calcul du facteur de couverture de l'intervalle de tolérance, la quantité $t_{\frac{1+\beta}{2}, \nu}$ représente le quantile de la distribution t de Student pour la probabilité $\frac{1+\beta}{2}$, et ν degrés de liberté. Ce nombre de degré de liberté est calculé selon Dans le calcul du facteur de couverture de l'intervalle de tolérance, la quantité $t_{\frac{1+\beta}{2}, \nu}$ représente le quantile de la distribution t de Student pour la probabilité $\frac{1+\beta}{2}$, et ν degrés de liberté. Ce nombre de degré de liberté est calculé selon la formule suivante:

$$\nu = \frac{(R + 1)^2}{\frac{1}{I - 1} + \frac{1}{J}}$$

Nombre de degrés de liberté.

Le coefficient R représente le rapport des variances inter-séries et intra-série, et traduit l'importance relative de l'effet de la série. Ainsi, si la méthode étudiée comporte un effet série peu marqué, ces deux variances seront proches, le coefficient R sera proche de 1 et aura donc peu d'impact dans les calculs. En revanche, dans le cas d'une méthode présentant un effet série important, la variance inter-séries va augmenter et le coefficient R également. Ceci aura une conséquence importante dans le calcul du nombre de degrés de liberté, qui va être diminué. Or, plus le degré de liberté est petit, plus le facteur de couverture Q_t va être élevé, ce qui induira un élargissement de l'intervalle de tolérance.

Une fois les calculs des coefficients effectués, on peut calculer les limites haute et basse de l'intervalle de tolérance par niveau selon l'équation Intervalle de tolérance qui vont nous permettre de construire le profil d'exactitude de la méthode.

4.3 Construction du profil d'exactitude et interprétation des résultats :

Une représentation graphique des résultats en valeurs relatives par rapport à la valeur de référence du niveau est effectuée.

On reporte sur l'axe horizontal les valeurs de référence moyennes, et sur l'axe vertical :

- les limites de tolérance relatives haute et basse ;
- les taux de recouvrement moyens ;
- les limites d'acceptabilité relatives haute et basse.

L'interprétation du profil d'exactitude présenté à la Figure 7 est simple. Aussi longtemps que l'intervalle de tolérance est compris entre les limites d'acceptabilité, la probabilité que la différence entre la valeur Z trouvée par la méthode en routine et la valeur de référence X reste inférieure à la limite d'acceptabilité est supérieure à la valeur β choisie (en général 80%) : la méthode reste valide.

Dans le cas de la Figure 7, on voit que la limite supérieure de l'intervalle de tolérance coupe la limite supérieure d'acceptabilité vers le niveau de concentration 70 %. Cela signifie que pour une concentration inférieure à ce niveau, l'analyste ne peut plus garantir que la méthode est capable, en routine, de produire en moyenne une probabilité β de résultats acceptables.

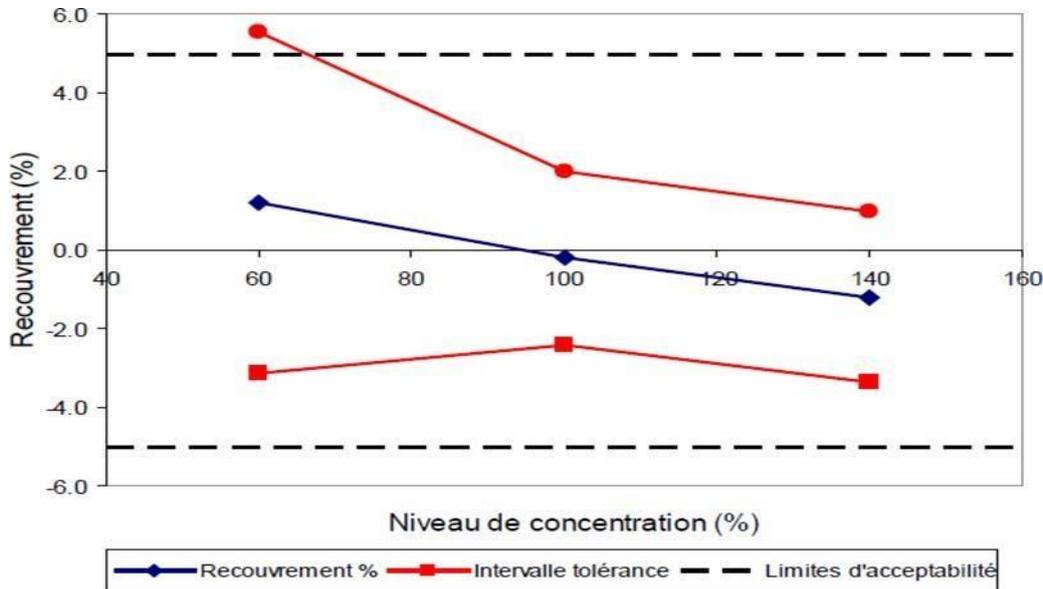
Le domaine de validité correspond aux concentrations pour lesquelles l'intervalle de tolérance est compris dans les limites d'acceptabilité. Pour la Figure 7, le domaine de validité de la méthode est donc compris entre les niveaux de concentration 70 % et 140 %.

La Figure 7 montre également d'autres informations à partir desquels nous pouvons effectuer un certain nombre de diagnostics pour la méthode correspondante.

Tout d'abord, on note que le biais varie en fonction de la concentration. Il passe de +2 % à -2 % environ entre les niveaux de concentration 60 et 140%. Les biais de justesse pouvant être à l'origine de ce phénomène, il serait intéressant de l'étudier.

Comme attendu, on remarque que la fidélité augmente avec la concentration, conduisant à un profil d'exactitude élargi à la plus faible concentration, et qui se rétrécit quand celle-ci augmente.

Figure 07 : Profil d'exactitude.



4.1 La limite de quantification :

Il existe une concentration à partir de laquelle au moins une des bornes de l'intervalle de tolérance coupe une des limites d'acceptabilité. Au-dessus de ce seuil, l'analyste peut garantir que la méthode produira une proportion de résultats au moins égale à β . Selon les règles de décision proposées, la méthode est donc valide puisqu'elle permet de garantir les objectifs fixés. En revanche, en dessous de ce seuil, il n'est plus possible de conclure à la

validité. Tout naturellement, on peut proposer de définir ce seuil comme la limite de quantification (LQ) de la méthode.

Ainsi, par définition, quand elle se produit, l'intersection entre le profil d'exactitude et les limites d'acceptation définissent les limites de quantification basse (LLOQ) et haute (ULOQ) de la procédure. Entre ces deux limites, il y a bien sûr l'intervalle de dosage. De la sorte, les limites de quantification sont bien les valeurs extrêmes qui peuvent être quantifiées avec une exactitude définie.

Lorsqu'il est nécessaire d'avoir une très bonne estimation de la limite de quantification, il est judicieux d'utiliser un plan de validation avec au minimum $K=4$ niveaux. Les deux niveaux les plus bas doivent alors être choisis de façon à encadrer au plus près la LQ supposée. L'interpolation sera alors d'autant plus exacte que cet encadrement sera étroit.

La LQ peut être obtenue exactement en calculant l'abscisse du point d'intersection. Mais les calculs doivent être réalisés sur les valeurs absolues des limites d'acceptabilité et de tolérance car le fait de passer aux valeurs relatives, utilisées en pratique pour la représentation graphique du profil, introduit une interpolation hyperbolique. En effet, le calcul des coordonnées du point d'intersection de deux droites est un problème d'algèbre bien connu.

Enfin, il nous paraît encore important d'insister sur le fait que la phase de validation est l'étape ultime avant la mise en exploitation de la procédure analytique, permettant non seulement d'estimer raisonnablement ses performances (critères) dans les conditions attendues d'utilisation, mais aussi et surtout de vérifier sur la base de ces performances son aptitude à quantifier à l'avenir chaque échantillon inconnu qu'elle aura à doser.

Une seule décision doit être prise : la procédure analytique est considérée valide ou pas, et donc un seul statistique doit supporter cette décision. C'est le rôle joué par le profil d'exactitude. Par conséquent, l'interprétation est analytiquement aisée et l'ensemble des statistiques utiles et requises sont intégrées, à savoir, justesse, fidélité, limites de quantifications, risque, linéarité.

C'est l'intention de SFSTP 2003/2006, elle ne simplifie pas seulement la démarche d'analyse des données, mais plus encore, elle rend les statistiques appropriées et cohérentes avec l'objectif de la validation.

Dans l'approche présentée ici, seule la qualité des résultats futurs compte parce que c'est précisément l'objectif d'une procédure analytique de rendre des résultats, pas des statistiques.

De plus, si on peut prouver que les résultats sont « bons » alors ceux-ci ne peuvent être obtenus qu'avec une « bonne » procédure. C'est certain.

La conséquence fondamentale et pratique est que si l'on peut montrer, par l'usage du profil d'exactitude, que les résultats sont de qualité, alors, de façon automatique, tous les critères de performances qui doivent être calculés et rapportés pour satisfaire aux exigences réglementaires, seront satisfait également. Le bénéfice est donc double : comprendre la qualité des résultats et satisfaire aux exigences réglementaires.

Finalement, cette approche s'applique à tous les types de procédures analytiques. Il n'y a en effet aucune raison pour que la façon d'évaluer les résultats d'une procédure quantitative soit différente selon la nature même de la procédure, physico chimique ou biologique. Certains aspects techniques peuvent varier, comme les fonctions de réponses, mais en fin de compte, le point d'arrivée est identique : le profil d'exactitude des résultats.

La SFSTP insiste sur la nécessité de la validation, qu'elle doit toujours intervenir après le développement de la méthode puisque si on essaie de conduire les essais avec une méthode encore mal connue, on risque d'avoir de sérieuses déconvenues ; et on pourrait alors conclure à son inefficacité.

Cependant ce guide n'a ni expliqué et ni détailler le choix de l'algorithme dans le calcul. (37), (38), (23), (39)

5 Protocole de validation :

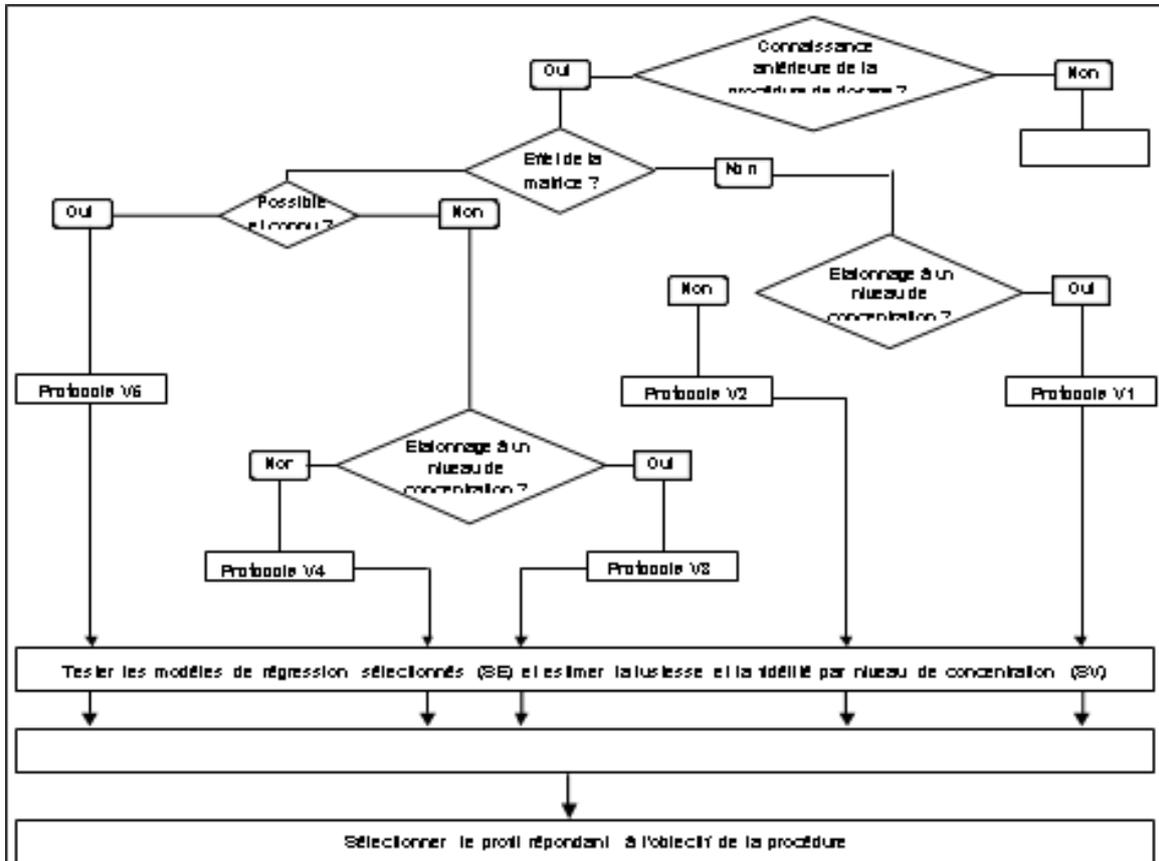
Il nous paraît encore important d'insister sur le fait que la phase de validation est l'étape ultime avant la mise en exploitation de la procédure analytique, permettant non seulement d'estimer raisonnablement ses performances (critères) dans les conditions attendues d'utilisation, mais aussi et sur- tout de vérifier sur la base de ces performances son aptitude à quantifier à l'avenir chaque échantillon inconnu qu'elle aura à doser.

Le logigramme de **la figure 07** présente la démarche proposée dans ce guide pour sélectionner un protocole expérimental de validation en fonction des contraintes ou des spécificités liées à la procédure de dosage sous épreuve.

En l'absence d'informations pertinentes obtenues lors du développement ou d'une connaissance particulière de l'analyste sur les performances de la procédure, une phase de pré validation est conseillée. En revanche, si ces informations sont disponibles, il est tout d'abord recommandé de s'interroger sur la présence ou l'absence d'un effet de la matrice. En l'absence de ce dernier effet, la question suivante porte sur le niveau ou les niveaux de concentration qui seront utilisés en routine pour l'étalonnage. Selon les réponses, les protocoles V1 et V2 sont préconisés. Dans le cas inverse, où un effet dû à la matrice est évident, le protocole V5 est directement retenu. En- fin, dans la situation intermédiaire, les protocoles V3 et V4 sont proposés en fonction des niveaux d'étalonnage souhaités.

Figure 08 : Logigramme permettant de sélectionner un protocole de validation.

6 Protocoles en phase De pré validation :



L'objectif de la phase de pré validation est de pré- parer tous les éléments nécessaires à la validation formelle de la méthode, tels que la configuration précise du matériel à utiliser, la préparation des solutions « mères » et « filles » pour la réalisation des standards d'étalonnage et le mode de préparation des standards de validation.

L'ensemble de ces informations doit idéalement être formalisé dans un protocole avant d'entreprendre la phase de validation.

En outre, les principaux objectifs de la phase de pré validation sont de :

- définir la fonction de réponse (linéaire ou non linéaire, transformation mathématique, pondération) qui sera utilisée comme système d'étalonnage lors de la validation,
- définir le seuil de détection (si nécessaire),
- estimer le ou les seuil(s) de quantification (selon les procédures),
- évaluer l'intervalle de dosage ainsi que le nombre des points de la gamme d'étalonnage,
- déterminer éventuellement le rendement d'extraction (si un processus d'extraction est impliqué dans la procédure),
- vérifier la spécificité avant d'entreprendre la phase de validation de la procédure.

Tous ces résultats doivent faire l'objet d'un rapport documenté et leur analyse doit idéalement aboutir à la rédaction d'un protocole de validation détaillé décrivant la procédure expérimentale, les produits à doser, les critères de la validation et leurs limites d'acceptation.

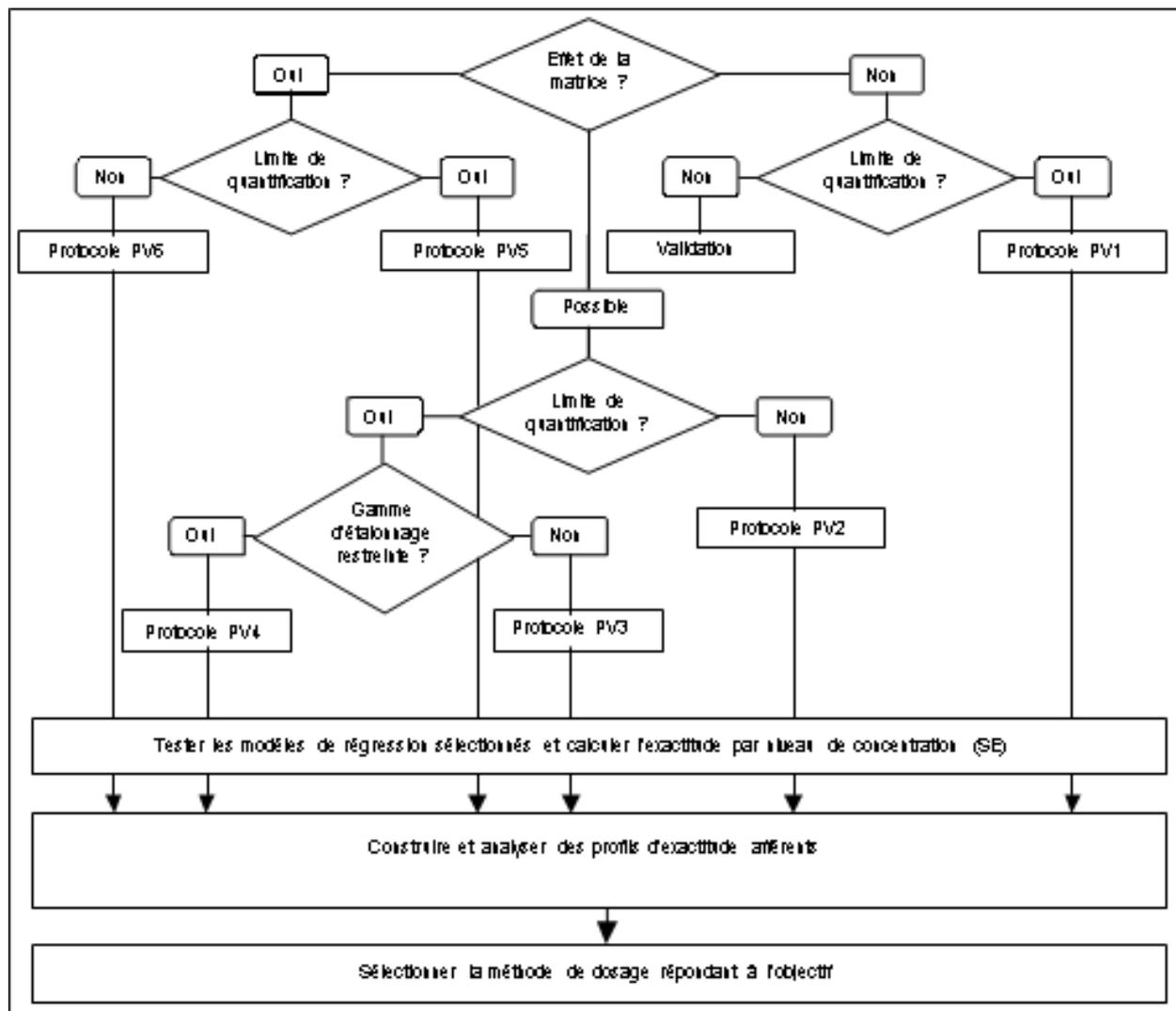
Le logigramme de la **figure 08** présente la démarche pour sélectionner un protocole expérimental de pré validation en fonction des contraintes ou des spécificités liées à la procédure de dosage sous épreuve. Il est toutefois primordial d'insister sur le fait que cette démarche de pré validation n'est pas indispensable et que sa raison d'être est essentiellement liée à des procédures plus complexes impliquant notamment la sélection d'une fonction de réponse, l'estimation de limites de quantification préalable à la phase de validation. Elle peut être remplacée par une phase d'optimisation. Il est également nécessaire de rappeler que les expériences de pré validation sont essentiellement réalisées sur les standards d'étalonnage.

Ainsi que la montre la **figure 08**, il est tout d'abord recommandé de s'interroger sur la présence ou l'absence d'un effet de la matrice. Ensuite, quelle que soit la réponse, l'interrogation suivante portera sur la nécessité ou non d'estimer la ou les limite(s) de quantification tout en gardant à l'esprit qu'un des objectifs premiers de la pré validation est de définir la fonction de réponse traduisant le mieux la relation entre la réponse et la concentration. Les différents protocoles résultants sont résumés dans le **tableau VI** où différents niveaux de concentration sont proposés à titre d'exemple. Il est à noter que chaque essai doit être répété à un minimum de deux reprises et sur un minimum de deux séries. Notons que le caractère d'indépendance de ces répétitions et sur-tout de ces séries est laissé à l'appréciation de l'analyste. Il doit toutefois être conscient que la puissance de son estimateur de la fidélité en dépendra.

Outre l'établissement des fonctions de réponse appropriées, les protocoles proposés dans le **tableau VI** peuvent notamment s'appliquer :

- **PV1** : à la recherche de la limite de quantification d'une impureté de synthèse disponible d'une substance chimique ou d'un de ses produits de dégradation disponibles dans cette même substance
- **PV2** : à la mise en évidence d'un effet dû à la matrice lors du dosage d'une substance chimique (principe actif, agent conservateur) dans une spécialité pharmaceutique ;
- **PV3** : à la recherche de la limite de quantification ainsi qu'à la mise en évidence d'un effet dû à la matrice lors du dosage simultané d'une substance chimique et d'une de ses impuretés ou produits de dégradation non disponibles ou non identifiés dans une spécialité pharmaceutique (cas de l'utilisation de la substance chimique concernée à la concentration maximale admise comme traceur de l'impureté ou du produit de dégradation) ;
- **PV4** : à la recherche de la limite de quantification ainsi qu'à la mise en évidence d'un effet dû à la matrice lors du dosage d'une impureté de synthèse disponible ou d'un de ses produits de dégradation disponibles dans une spécialité pharmaceutique ;
- **PV5** : à la recherche de la ou des limite(s) de quantification (inférieure et supérieure) lors de la détermination d'une substance chimique dans une matrice complexe.
- **PV6** : à la définition d'un intervalle de dosage lors de la détermination d'une substance chimique dans une matrice complexe.

Figure 8 : Logigramme permettant de sélectionner un protocole de pré validation (40)



Chapitre 4

Etude critique et comparaison entre ICH et SFSTP pharma 2003- 2006

La validation analytique est une étape cruciale dans le domaine de l'analyse chimique et biologique. Elle englobe un ensemble de procédures et de tests visant à évaluer les performances, la fiabilité et la robustesse d'une méthode analytique avant son application sur des échantillons réels. La validation analytique garantit la justesse et la précision des résultats obtenus, ce qui est essentiel pour prendre des décisions éclairées dans de nombreux domaines tels que la recherche pharmaceutique, la sécurité alimentaire, l'environnement et bien d'autres.

C'est une exigence réglementaire, elle constitue une étape indispensable dans le système d'assurance qualité. En effet la validation est une étape obligatoire du cycle de vie d'une procédure analytique comme il a été défini et publié dans les différents principaux référentiels, documents et guides (ISO, ICH, SFSTP, FDA, etc.). Il existe une panoplie de documents officiels, référentiels et guidelines publiées dans ce sens ; à savoir :

L'International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), également connu sous le nom de Conseil international pour l'harmonisation des exigences techniques pour les produits pharmaceutiques à usage humain qui fournit Guideline for industry on validation of analytical procedure (ICH Q2A: definitions and terminology) (Mar 1995). Il traite les définitions et la terminologie. Guidance for Industry- Q2B validation of analytical procedures : (ICHQ2B : Methodology) (Novembre 1996). Il fournit des conseils et recommandations ; aussi fournit des lignes directrices reconnues à l'échelle internationale pour la validation analytique à savoir le document Q2(R1) intitulé "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology" (Validation des procédures analytiques : texte et méthodologie). Ce document fournit des orientations détaillées sur les paramètres à évaluer lors de la validation analytique y compris les critères de validation ;

Par contre La Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) a publié plusieurs références concernant la validation analytique entre les années 2003 et 2006 qui est une démarche statistique de validation d'une méthode analytique. Publiés et améliorés au fil des années, ces rapports constituent un outil incontournable pour statuer sur la validité ou non d'une méthode analytique à savoir :

- ✓ SFSTP 2003-2006 partie 1 Validation des procédures analytiques quantitatives Harmonisation des démarches
- ✓ SFSTP 2003-2006 partie 2 Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches (Statistiques)
- ✓ SFSTP 2003-2006 partie 3 Validation des procédures analytiques quantitatives : harmonisation des démarches. (Exemples d'application)

Etude critique et comparaison des deux guides de validation analytique :

1- Méthode analytique :

Selon ICH :

Selon les directives de l'International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), la procédure analytique est définie comme une séquence d'opérations spécifiques qui sont effectuées pour effectuer une analyse donnée. La procédure analytique décrit les étapes détaillées nécessaires pour exécuter l'analyse, y compris les réactifs, les équipements, les conditions expérimentales, les calculs et les étapes de validation appropriées.

La procédure analytique ICH doit être claire, précise, reproductible et spécifique pour assurer des résultats fiables et précis. Elle doit également être conforme aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et aux exigences réglementaires applicables.

Selon SFSTP pharma 2003-2006 :

La procédure analytique selon la SFSTP en 2003-2006 pourrait donc être une approche spécifique définie dans les documents de cette association par une série d'étapes détaillées et spécifiques qui sont suivies pour effectuer une analyse dans le domaine pharmaceutique. Elle comprend les différentes étapes, telles que la préparation des échantillons, l'utilisation de réactifs, les méthodes d'instrumentation, les calculs, et les étapes de validation nécessaires pour garantir la fiabilité et la précision des résultats analytiques ; à un but de mener à bien les analyses pharmaceutiques à cette époque. Elle est aussi Une analyse chimique peut être définie comme une suite d'opérations élémentaires, statistiquement indépendantes les unes des autres, qui commencent au moment de la prise d'essai (prélèvement d'un échantillon analytique sur l'échantillon de laboratoire) et aboutissent à l'expression d'un résultat d'analyse qu'il faudra valider pour pouvoir disposer enfin d'une donnée analytique.

Procédure écrite décrivant aussi l'ensemble des moyens et modes opératoires nécessaires pour effectuer l'analyse de l'analyte, c'est-à-dire : domaine d'application, principe et/ou réactions, définitions, réactifs, appareillage, modes opératoires, expression des résultats, tests de conformité, rapport d'essai.

On peut distinguer différents types de procédures d'analyse :

- procédure d'analyse quantitative : procédure d'analyse permettant de mesurer la quantité d'analyte présente dans l'échantillon pour laboratoire ;
- procédure d'analyse de référence : procédure d'analyse reconnue par des experts (exemple : pharmacopée) ou prise comme référence par accord entre les parties, qui donne, ou est supposée donner, la valeur de référence acceptée de la grandeur de l'analyte à mesurer ;
- procédure d'analyse alternative : procédure d'analyse utilisée par le laboratoire à la place d'une procédure de référence.
- Une procédure alternative permet d'analyser ou d'estimer, pour une catégorie de produits donnée, la même grandeur que celle qui est mesurée par la procédure de référence correspondante. Une procédure d'analyse alternative peut consister en une simplification de la procédure de référence.
- Signalons qu'il nous est apparu plus opportun dans le présent document d'utiliser le terme « procédure » plutôt que « méthode » afin d'éviter toute confusion ultérieure. De plus, les expressions « méthode de dosage » et « méthode de détermination » sont parfois employées comme synonymes de l'expression « méthode d'analyse ». Ces deux expressions ne doivent pas être employées dans ce sens car elles sont plus limitatives.

2- Objectif d'une procédure analytique :

Selon ICH :

L'objectif principal de la procédure analytique selon les directives de l'International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) est de garantir que les méthodes analytiques utilisées dans le cadre du développement, de la validation et du contrôle de la qualité des produits pharmaceutiques sont appropriées, fiables et produisent des résultats précis et reproductibles. Voici les principaux objectifs de la procédure analytique selon l'ICH :

1. Assurer la qualité et la conformité réglementaire : La procédure analytique ICH vise à s'assurer que les méthodes utilisées répondent aux exigences réglementaires applicables et aux normes de qualité des produits pharmaceutiques.
2. Fournir des résultats fiables : La procédure analytique ICH établit des directives détaillées pour garantir la précision, la précision, la reproductibilité et la spécificité des résultats analytiques. Cela permet de s'assurer que les données générées sont fiables et peuvent être utilisées pour prendre des décisions critiques en matière de qualité et de sécurité des produits pharmaceutiques.
3. Faciliter la comparabilité et l'interchangeabilité : L'ICH encourage l'utilisation de méthodes analytiques comparables et interchangeables entre les laboratoires, les sites de production et les pays. Cela facilite la comparaison des résultats et la reconnaissance mutuelle des données analytiques, favorisant ainsi le commerce international des produits pharmaceutiques.
4. Soutenir le développement et la validation des méthodes : La procédure analytique ICH fournit des lignes directrices pour le développement et la validation des méthodes analytiques. Cela inclut l'établissement des paramètres de performance, tels que la spécificité, la linéarité, la précision, la sensibilité, la robustesse et la stabilité, afin de garantir la validité et la fiabilité des méthodes utilisées.
5. Promouvoir l'harmonisation internationale : L'ICH vise à harmoniser les exigences et les pratiques réglementaires entre les différentes régions et pays. La procédure analytique ICH contribue à cette harmonisation en fournissant des recommandations communes pour le développement et la validation des méthodes analytiques, ce qui facilite l'acceptation mutuelle des données analytiques entre les autorités réglementaires.

Selon SFSTP Pharma 2003-2006 :

L'objectif général d'une procédure analytique selon la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) est de fournir des directives et des lignes directrices pour l'analyse de substances et de produits pharmaceutiques, en mettant l'accent sur la précision, la fiabilité et la reproductibilité des résultats. Voici certains des objectifs couramment associés à une procédure analytique :

1. Assurer la qualité des résultats : L'objectif principal d'une procédure analytique est de fournir des résultats de haute qualité qui sont précis, reproductibles et fiables. Cela implique l'utilisation de méthodes et de techniques analytiques appropriées et validées.
2. Garantir la conformité réglementaire : Les procédures analytiques doivent être conformes aux réglementations en vigueur dans le domaine pharmaceutique. Cela peut inclure des directives spécifiques relatives à la spécificité, la précision, la sensibilité, la linéarité, la robustesse et la stabilité des méthodes analytiques.
3. Valider les méthodes analytiques : Les procédures analytiques doivent être validées pour s'assurer de leur aptitude à l'utilisation prévue. Cela peut impliquer des études de validation telles que la spécificité, la précision, la sensibilité, la linéarité, la robustesse, la stabilité, etc.
4. Harmoniser les pratiques analytiques : La SFSTP vise à promouvoir l'harmonisation des pratiques analytiques au sein de l'industrie pharmaceutique en France. Les procédures analytiques peuvent aider à établir des normes et des pratiques communes pour assurer la comparabilité des résultats entre les laboratoires.

5. Faciliter la recherche et le développement : Les procédures analytiques peuvent être utilisées pour soutenir la recherche et le développement de nouveaux médicaments et produits pharmaceutiques. Elles peuvent contribuer à l'identification, à la quantification et à la caractérisation des substances et des produits pharmaceutiques.

Il est important de noter que les objectifs spécifiques de la procédure analytique peuvent varier en fonction du contexte, des réglementations et des besoins spécifiques de l'industrie pharmaceutique. Pour obtenir des informations précises sur les objectifs de la procédure analytique selon la SFSTP.

3- Validation analytique :

Selon ICH :

Selon l'International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), la validation est définie comme le processus qui permet de démontrer que les procédés, les méthodes, les systèmes, les matériels ou les activités sont aptes à atteindre les résultats attendus.

La validation est utilisée pour évaluer la performance, la fiabilité et la reproductibilité des procédés, des méthodes analytiques, des systèmes informatiques, des équipements, des installations et d'autres activités dans l'industrie pharmaceutique. Elle est réalisée conformément à des protocoles et à des critères prédéfinis afin de fournir des preuves scientifiques que les procédés et les systèmes sont appropriés pour leur utilisation prévue.

La validation implique la collecte de données expérimentales, l'établissement de protocoles et de plans de validation, ainsi que l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus. Les paramètres évalués lors de la validation peuvent inclure la spécificité, la précision, la linéarité, la sensibilité, la robustesse, la stabilité, la reproductibilité et d'autres caractéristiques pertinentes pour assurer la qualité et la fiabilité des résultats.

ICH porte que la terminologie et le protocole de validation sans les études statistiques aussi le protocole de validation débute directement par la validation et les critères mais ne porte pas une phase introductive (pré validation) comme la STP 2003-2006.

Selon SFSTP Pharma 2003-2006 :

Selon les lignes directrices de la SFSTP, la validation analytique est un processus qui permet de démontrer que la méthode analytique utilisée est adaptée à son utilisation prévue et qu'elle produit des résultats fiables, reproductibles et conformes aux exigences réglementaires. La validation analytique évalue les performances et les caractéristiques de la méthode analytique afin de garantir sa fiabilité et sa pertinence.

La STP pharma 2003-2006 dit que avant valider il faut passer par une phase de pré validation ou on doit préparer tous les éléments nécessaires à la validation formelle de la méthode, tels que la configuration précise du matériel à utiliser, la préparation des solutions « mères » et « filles » pour la réalisation des standards d'étalonnage et le mode de préparation des standards de validation. L'ensemble de ces informations doit idéalement être formalisé dans un protocole avant d'entreprendre la phase de validation.

La STP pharma 2003-2006 porte une étude statistique pour une validation analytique avec des exemples sur des produits pharmaceutique.

La STP pharma 2003-2006 n'oblige de suivre une seule méthode par contre vous êtes libre comment vous faites la validation soit vous débutez de la phase de pré validation soit vous suivez directement le protocole de validation.

4- Objectif de la validation analytique :

Selon ICH :

Les objectifs de la validation selon l'ICH sont les suivants :

1. Démontrer la fiabilité : L'objectif principal de la validation est de démontrer que le procédé analytique est fiable et produit des résultats précis et reproductibles. Cela permet de garantir que les données analytiques obtenues sont de confiance et peuvent être utilisées pour prendre des décisions appropriées.
2. Assurer la conformité réglementaire : La validation des procédés analytiques est essentielle pour répondre aux exigences réglementaires en vigueur. En démontrant que le procédé est validé et conforme aux normes, les entreprises pharmaceutiques peuvent s'assurer que leurs produits répondent aux normes de qualité et de sécurité requises par les autorités réglementaires.
3. Identifier les sources d'erreur : La validation permet d'identifier et de contrôler les sources d'erreur potentielles dans le procédé analytique. Cela peut inclure des erreurs liées aux réactifs, aux équipements, aux méthodes de mesure, aux conditions expérimentales, etc. En comprenant ces sources d'erreur, des mesures correctives peuvent être prises pour minimiser leur impact sur les résultats.
4. Évaluer les performances : La validation permet d'évaluer les performances du procédé analytique, y compris sa sensibilité, sa spécificité, sa linéarité, sa précision, sa robustesse, sa limite de détection, etc. Cela permet de déterminer les limites et les capacités du procédé, ainsi que sa pertinence pour les applications prévues.
5. Assurer la transférabilité : La validation permet également de garantir que le procédé analytique peut être transféré avec succès d'un laboratoire à un autre ou d'un site à un autre, tout en maintenant la fiabilité et la précision des résultats. Cela facilite la collaboration entre les laboratoires et les sites de production, ainsi que les inspections et les audits réglementaires.

Selon SFSTP pharma 2003-2006 :

Il paraît raisonnable de prétendre que l'objectif de la validation est de donner aux laboratoires ainsi qu'aux autorités compétentes les garanties que chaque mesure qui sera réalisée ultérieurement en routine, une fois la procédure validée, sera suffisamment proche de la « vraie valeur » inconnue de l'échantillon ou du moins comprise dans une limite acceptable, en fonction de la finalité de la procédure. Le but est de minimiser le risque tant au niveau du producteur que du futur consommateur. Par conséquent, l'objectif de la validation n'est pas simplement, contrairement à ce que la pratique courante pouvait laisser entrevoir, d'obtenir des estimateurs du biais et de la fidélité. Toutefois, il n'en reste pas moins que ces paramètres, comme nous l'avons déjà signalé, sont des éléments indispensables à l'établissement des garanties précitées.

À la lecture de cet objectif, deux notions fondamentales se dégagent, celles de :

- « suffisamment proche », signifiant, par exemple, que la mesure réalisée en routine sera à moins de x% (x se rapporte à la limite d'acceptation l) de sa « vraie valeur » inconnue
- « garanties », signifiant qu'il est très probable que, quelle que soit la mesure, elle sera suffisamment proche de la vraie valeur inconnue (cf. *équation 2*).

Dans ces conditions, l'exactitude, la fidélité, la linéarité, etc., ne sont plus que des « statistiques » ou « Éléments de calcul » permettant de chiffrer ces garanties. En effet, on attend d'une procédure de dosage qu'elle soit capable de quantifier, et non pas tellement qu'elle soit fidèle, même si cette fidélité, convenons-en, constitue un gage de réussite. C'est dans ce contexte que l'analyse statistique des résultats de validation trouve sa vraie dimension. Toutefois, dans cette perspective, il faut encore faire la différence entre les statistiques qui permettent de prendre une *décision* (quant à l'aptitude d'une procédure à correspondre à l'usage pour lequel elle est prévue) et celles qui aident à poser un *diagnostic*, c'est-à-dire nous renseigner sur un point particulier de ses performances, comme par exemple la linéarité ou le passage de l'ordonnée par 0.

En fait, ce dont on a réellement besoin, c'est d'un bon outil de décision, c'est-à-dire un outil offrant la garantie que la plupart des futures mesures seront dans les limites d'acceptation. Si les garanties offertes par la règle de décision ne sont pas satisfaisantes, alors les outils de diagnostic aideront l'analyste à identifier les causes possibles du problème ; mais seulement si les garanties ne sont pas satisfaites. Ces outils de diagnostic classiques seront revus dans la publication ultérieure.

5- Champ d'application :

D'ICH :

Le champ d'application de la validation analytique selon l'International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) s'applique aux méthodes analytiques utilisées dans le cadre du développement, de la qualification et du contrôle des produits pharmaceutiques. Cela inclut les méthodes utilisées pour la caractérisation, l'identification, la quantification, la pureté et la stabilité des substances actives, des produits finis et des matières premières pharmaceutiques.

La validation analytique selon l'ICH s'applique également aux méthodes utilisées dans les études de dissolution, de bioéquivalence, de bio similaires, ainsi qu'aux méthodes de contrôle des impuretés, des contaminants et des produits de dégradation. Les principes de validation analytique de l'ICH s'appliquent à différents types de méthodes analytiques, y compris les méthodes chromatographiques (comme la chromatographie liquide haute performance - HPLC et la chromatographie en phase gazeuse - GC), les méthodes spectroscopiques (telles que la spectrophotométrie UV-visible et la spectrométrie de masse), les méthodes de dissolution, les méthodes de dosage, les méthodes de titrage, etc.

Il convient de noter que les directives de validation analytique de l'ICH fournissent des principes généraux et des recommandations qui peuvent être adaptés en fonction des spécificités de chaque méthode analytique et de chaque produit pharmaceutique. Ces directives visent à garantir la fiabilité, la précision, la spécificité, la sensibilité et la reproductibilité des résultats obtenus à l'aide des méthodes analytiques utilisées dans l'industrie pharmaceutique.

De SFSTP Pharma 2003-2006 :

Les différents secteurs d'application visés par le présent guide sont :

- les sociétés prestataires de services,
- les autorités réglementaires,
- les laboratoires officiels de contrôle,
- les industries des domaines d'activité suivants : chimie, pharmacie, biopharmacie, agroalimentaire, environnement, cosmétologie, etc.

L'objectif du guide est donc de proposer une démarche harmonisée de validation applicable aux différentes procédures analytiques quantitatives, et ce indépendamment du secteur d'activité. (40) ; (31) ; (34)

6- Comparaison des critères de validation selon les différentes

guidelines

6.1- Les critères de validation :

Les critères de validation analytique sont des éléments essentiels dans le domaine de l'analyse chimique, pharmaceutique, médicale et d'autres domaines connexes. Ils sont utilisés pour évaluer la performance d'une méthode analytique et garantir sa fiabilité, son exactitude et sa précision. Les critères de validation analytique peuvent varier en fonction du type d'analyse et de l'application spécifique, mais il existe généralement quelques paramètres clés qui sont évalués.

Tableau 5 : les critères de validation analytique selon SFSTP pharma 2003-2006 et ICH

	ICH	SFSTP pharma 2003-2006
	<p>Les caractéristiques de validation typiques qui doivent être considérées sont énumérées ci-dessous:</p> <p style="text-align: center;">Spécificité (Specificity).</p> <p style="text-align: center;">linéarité (linearity).</p>	<p>Les principaux critères de validation sont utilisés dans les laboratoires d'analyses sont les suivants :</p> <p>spécificité-</p>
Les critères de validation analytique	<p>Exactitude (Justesse)(Accuracy).</p> <p>Fidélité (Precision).</p> <p>Répétabilité (Repeatability).</p> <p>Répétabilité intermédiaire (Intermediate precision).</p> <p>Limite de quantification (Quantification limit).</p> <p>Limite de détection (Detection limit).</p> <p>Intervalle de validité(Range).</p>	<p>sélectivité ;</p> <p>fonction de réponse (courbe d'étalonnage) ;</p> <p>linéarité ;</p> <p>fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire) ;</p> <p>justesse ;</p> <p>exactitude ;</p> <p>limite de détection(LD) ;</p> <p>limite de quantification(LQ) ;</p> <p>intervalle de dosage ;</p> <p>sensibilité.</p> <p>De plus, selon les domaines d'activité concernés, d'autres critères plus spécifiques peuvent être requis :</p> <p>stabilité de l'analyte ;</p> <p>rendement d'extraction (absolu et relatif) ;</p> <p>effet de dilution</p>

Spécificité / Sélectivité

6.2.1- Définition :

Tableau 6 : Définition de spécificité selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

ICH		SFSTP Pharma 2003-2006
<i>Définition</i>	<p>-La capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence de composants dont on peut s'attendre à ce qu'ils soient présents. Généralement, ceux- ci peuvent inclure des impuretés, des dégradants, une matrice.</p>	<p>-La capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants.</p> <p>-permettre de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser.</p> <p>-permettre de mesurer quantitativement un paramètre physicochimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substance(s) dans l'échantillon.</p>

6.2.2- Plan expérimental :

Le premier critère à évaluer pour une méthode analytique est la spécificité ou sélectivité. Différents guides et référentiels proposent des définitions qui portent confusion. Il est admis que la spécificité (notion absolue) est quelque chose d'exceptionnel, or que pour les méthodes séparatives, il est plus opportun de parler de sélectivité (notion relative). Seul l'ICH utilise le terme « spécificité », les autres documents parlent de « sélectivité ».

Tableau 7: Comparaison du critère de spécificité dans les deux guidelines :

Guidelines	Concept et terminologie	Plan expérimental	Tests & recommandations	Critères d'acceptation
ICH	Spécificité	<p>Impuretés disponibles : On ajoute à la substance pure (substance médicamenteuse ou produit fini) une quantité adéquate d'impuretés et (ou) d'excipients puis on démontre que les résultats obtenus ne sont pas affectés.</p> <p>Impuretés non disponibles : On compare les résultats obtenus avec des échantillons renfermant des impuretés ou des produits de dégradation aux résultats obtenus avec une autre méthode d'analyse bien connue. Ces comparaisons doivent inclure des échantillons exposés à des conditions de stress.</p>	<p>Démontrer une distinction entre la substance à analyser et les autres substances présentes ;</p> <p>Pour la teneur, comparer les résultats obtenus par les deux méthodes et pour l'analyse des impuretés, comparer les profils des impuretés donnés avec les 2 méthodes ;</p> <p>L'évaluation de pureté des pics peut être utile pour démontrer que le pic chromatographique correspondant à la substance à analyser n'est pas attribuable à plus d'une substance.</p>	Non spécifié
SFSTP pharma 2003-2006	Sélectivité	démontrer que la substance analysée ausein de la matrice est bien l'analyte recherché. Or, en ce qui concerne les techniques chromatographiques, celles-ci sont plutôt sélectives (notion relative) que spécifiques (notion absolue). Le degré de sélectivité de la procédure de dosage dépend d'ailleurs de la	<p>-L'étude de la spécificité nécessite la préparation et l'analyse des solutions suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Une solution standard à 100% (par rapport à la concentration théorique) -Une solution échantillon à 100% (par rapport à la concentration théorique).Le signal donner à partir de la solution placebo doit être Normalement nulle. 	Non spécifié

		<p>qualité de la séparation chromatographique et de la sélectivité intrinsèque du mode de détection. Il nous apparaît donc plus opportun dans le présent document de maintenir le terme «sélectivité » dans le cas des méthodes chromatographiques</p>	<p>Les signaux obtenus par les deux solutions : standard 100% et échantillon 100% doivent être comparables.</p> <p>-Soit par la comparaison des signaux instrumentaux obtenus à partir des solutions préparées : les spectres obtenus à partir de la solution standard 100% et la solution échantillon 100% doivent être systématiquement superposables.</p> <p>-Soit en comparant la droite obtenue avec la gamme matrice (forme reconstituée) avec celle obtenue à partir de la gamme standard.</p> <p>-elle peut être obtenue par séparation préalable (par exemple : chromatographie), de façon mathématique (parexemple : résolution d'équations simultanées) ou de façon biochimique (réactions à l'aide d'enzymes).</p> <p>-elle n'est pas trouvée dans les statistique de STP pharma 2003-2006 mais trouvée dans la partie de pré validation</p>	
--	--	--	---	--

6.3- Fonction de réponse :

En règle générale, la fonction de réponse d'une procédure d'analyse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existante entre la réponse (signal) et la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon. La fonction de réponse monotone la plus simple qui exprime cette relation est appelée « courbe d'étalonnage », tandis que la linéarité d'une procédure d'analyse est sa

capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité (exemple : concentration) en analyte dans l'échantillon.

Le critère de linéarité se réfère à la relation entre la **quantité introduite** et la **quantité calculée** (résultat) d'analyte à partir de la courbe d'étalonnage tandis que la fonction de réponse se réfère à la relation entre la **réponse instrumentale** et la **concentration**. Le document de l'ICH confond entre les 2 termes (linéarité et fonction de réponse) alors que désormais celui de la STP pharma 2003-2006 garde seulement le terme courbe d'étalonnage en précisant qu'on doit utiliser le modèle le plus simple qui décrit adéquatement la relation concentration – réponse.

6.3.1- Définition :

Tableau 8 : Définition de fonction de réponse selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

ICH		SFSTP pharma 2003-2006
Définition	La fonction de réponse est appelée la linéarité	La fonction de réponse d'une procédure d'analyse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existant entre la réponse (signal) et la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon. La fonction de réponse monotone la plus simple qui exprime cette relation est appelée « courbe d'étalonnage».

6.3.2- Plan expérimental :

Tableau 9 : Comparaison du critère de fonction de réponse dans les deux guidelines.

Guidelines	Concept & terminologie	Plan expérimental & recommandations	tests	Critères d'acceptation
ICH	Linéarité	L'ICH exige 5 concentrations.	-L'Examen visuel ; -Le Coefficient de corrélation, ordonnée à l'origine, pente, courbe de régression, ainsi que la somme Carrés des résidus.	Non spécifié

<p>SFSTP pharma 2003- 2006</p>	<p>Courbe d'étalonnage</p>	<p>déterminer, sur la base des standards d'étalonnage (SE), la relation entre la réponse (signal ou réponse de l'instrument) Y et la quantité (concentration) X. Cette relation se caractérise à l'aide d'une fonction f qui doit être strictement monotone (strictement croissante ou décroissante) sur l'intervalle de dosage envisagé.</p>	<p>$Y = f(X) + e$</p> <p>Déterminée selon e qui l'erreur résiduelle</p> <ul style="list-style-type: none"> - Il faut donc ajuster la fonction de réponse, c'est-à-dire évaluer les paramètres du modèle, de manière à ce que l'erreur résiduelle soit minimisée. - Deux familles de fonctions se dégagent de cet ensemble : les fonctions dites linéaires en leurs paramètres et les fonctions non linéaires. Une fonction est dite linéaire si elle est une combinaison linéaire de ses paramètres. On peut noter que la fonction quadratique, bien que sa représentation graphique ne soit pas droite, est effectivement linéaire en ses paramètres. Si ce n'est pas le cas, comme dans le cas des fonctions 	<p>Non spécifiée</p>
---	----------------------------	---	---	----------------------

			<p>logistiques, la fonction est dite non linéaire en ses paramètres. La façon d'ajuster ces fonctions de réponse dépend de cette distinction.</p> <p>-les testes qui fait en cas d'une fonction linéaire (Qualité d'ajustement et qualité de résultats précisément le maximum de vraisemblance ; pondération ; estimation des paramètres)</p> <p>-pour les fonctions non linéaire ; l'ajustement est difficile mais on peut faire une estimation des paramètres lorsqu' on utilise les fonctions itératives.</p> <p>-elle est comme un objectif essentiel dans la phase de pré validation.</p> <p>-elle liée avec l'exactitude tels que lorsque la fonction est linéaire les résultats sont plus exacte.</p>	
--	--	--	--	--

6.4- Linéarité :

6.4.1- Définition :

Tableau 10 : Définition de linéarité selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

	<i>ICH</i>	<i>SFSTP pharma 2003-2006</i>
<i>Définition</i>	La capacité (dans une plage donnée) à obtenir des résultats d'essai qui sont directement proportionnels à la concentration (quantité) d'analyte dans l'échantillon.	La capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité (exemple : concentration) en analyte dans l'échantillon.

6.4.2- plan expérimental :

Tableau 11: Comparaison du critère de linéarité dans les deux guidelines

Guidelines	Concept & terminologie	Plan expérimental	Tests	Critères d'acceptation
ICH	Linéarité	Pour le calcul de linéarité, le plan expérimental est de 5 concentrations dans l'ICH	-L'Examen visuel -Le Coefficient de corrélation, ordonnée à l'origine, pente, courbe de régression, ainsi que la somme des carrés des résidus.	Non spécifiés

SFSTP pharma 2003-2006	Linéarité	-l'exigence de linéarité s'applique aux résultats [concentration calculée = f (concentrations introduites)], pas aux réponses [signal = f (concentrations introduites)]. C'est un prérequis à l'estimation de la justesse. À l'inverse, l'existence d'une relation linéaire entre la concentration estimée et la concentration introduite n'implique pas que la méthode soit juste (exemple : biais).	Non spécifié	Non spécifié

6.5- Exactitude :

6.5.1- Définition :

Tableau 12 : Définition d'exactitude selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

	ICH	SFSTP pharma2003- 2006
<i>Définition</i>	<p>-l'écart de l'accord entre la valeur qui est acceptée comme valeur conventionnelle vraie ou comme valeur de référence acceptée et la valeur trouvée.</p> <p>-C'est ce qu'on appelle parfois la justesse.</p>	<p>-l'écart de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, aussi appelée « valeur conventionnellement vraie »</p>

6.5.2- plan expérimental :

L'estimation de l'erreur totale n'est pas définie d'une manière spécifique dans les documents étudiés. Dans la première partie de l'ICH Q2R1, l'exactitude est définie comme la combinaison des erreurs aléatoires (fidélité / écart type) et des erreurs systématiques (justesse / biais).

Cependant dans la section correspondante aux recommandations relatives à l'exactitude « Pour exprimer l'exactitude, il est recommandé de déclarer le pourcentage de recouvrement de la substance dont une quantité connue a été ajoutée à l'échantillon, ou la différence entre la valeur moyenne et la valeur considérée comme vraie avec les intervalles de confiance correspondants." Donc ce n'est plus la définition de l'exactitude (erreurs totales) mais celle de la justesse (erreurs systématiques) qui est la valeur moyenne de plusieurs résultats (par opposition à un seul résultat pour l'exactitude) qui est comparée à la vraie valeur.

Tableau 13 : Comparaison du critère d'exactitude dans les deux guidelines.

Guidelines	Concept & terminologie	Plan expérimental & recommandations	Tests	Critères d'acceptation
ICH	Exactitude (Appelée parfois la justesse)	<ul style="list-style-type: none"> -Application de la méthode à une substance de pureté connue (ex : substance de référence). -Comparaison des résultats obtenus de la méthode à valider avec ceux obtenus par une méthode bien caractérisée, dont l'exactitude est indiquée et (ou) définie. -Dédution de l'exactitude après avoir établi la fidélité, la linéarité et la spécificité de la méthode en question. 	<ul style="list-style-type: none"> -Pourcentage de recouvrement de la substance dont une quantité connue a été ajouté à l'échantillon, -La différence entre la valeur moyenne et la valeur considérée comme vraie avec les intervalles de confiances correspondants -Test d'homogénéité des variances : test de Cochran -Test de Dixon -Etude des variances de la répétabilité, de la fidélité intermédiaire, et les -intervalles de confiance correspondants. 	Non spécifié

<p>SFSTP pharma 2003-2006</p>	<p>Exactitude</p>	<p>-Déduire la fidélité et la justesse après faire l'exactitude</p> <p>- lier à la fonction de réponse telle que l'utilisation du modèle linéaire simple pour calibrer les données conduit à des résultats plus exacts que le modèle non linéaire.</p> <p>- Il est comme l'erreur maximale observée, nous donne des indications sur les résultats obtenus dans les expériences de validation.</p>	<p>-Estimation de l'erreur totale (profile de l'erreur totale) tels que chaque mesure obtenue est le reflet de la vraie valeur, du biais de la méthode et de sa fidélité</p> <p>-Estimation de l'intervalle de tolérance</p> <p>-Profile d'exactitude</p> <p>-introduire par des concentrations plus</p>	<p>= 15%</p>
		<p>-appelé aussi l'outil de décision</p>	<p>basses afin de garantir une limite de quantification inférieure la plus basse possible.</p> <p>- À l'aide de l'exactitude proposé, à la fois pratique et visuel, l'analyste peut choisir la fonction de réponse la plus appropriée ou la plus simple qui répond aux objectifs qu'il s'était fixés.</p>	

6.6- Fidélité :**6.6.1- Définition :****Tableau 14.:** Définition de fidélité selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

	ICH	SFSTP pharma2003- 2006
Définition	<p>-Selon ICH est appelée la précision qui est défini comme l'écart (degré de dispersion) entre une série de mesures obtenues à partir d'échantillonnages multiples du même échantillon homogène dans les conditions prescrites.</p> <p>-Peut être considérée à trois niveaux</p> <ul style="list-style-type: none"> • Répétabilité exprime la précision dans les mêmes conditions de fonctionnement sur un court intervalle de temps. La répétabilité est également appelée précision intra-essai. • Précision intermédiaire exprime des variations intra-laboratoires : différents jours, différents analystes, différents équipements. • Reproductibilité exprime la précision entre laboratoires (études collaboratives, généralement appliquées à la standardisation de la méthodologie). 	<p>-exprime l'écart (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène (résultats d'essais indépendants) dans des conditions prescrites. La fidélité fournit une indication sur les erreurs liées au hasard.</p> <p>-Le terme « résultats d'essai indépendants » signifie des résultats obtenus d'une façon non influencée par un essai précédent sur le même matériau ou similaire, compte tenu des contraintes liées au secteur d'activité concerné.</p> <p>- peut être évaluée à trois niveaux : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra laboratoire) et la reproductibilité (inter laboratoire).</p> <p>-elle est un objectif essentiel dans le pré validation.</p>

6.6.2- Plan expérimental :

L'estimation de la fidélité est exigée par tous les documents, définitions homogènes de la fidélité dans presque tous les documents.

ICH exige l'estimation de la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la reproductibilité, la méthode à valider doit être normalisée.

Selon SFSTP pharma 2003-2006 ; La fidélité traduit uniquement la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée. La mesure de fidélité est calculée à partir de l'écart type des résultats d'essais ainsi que les mesures de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Peuvent ainsi être distinguées les conditions de : répétabilité, fidélité intermédiaire, reproductibilité.

Tableau 15 : Comparaison du critère de fidélité dans les deux guidelines.

Guidelines	Concept & terminologie	Plan expérimental	Tests	Critères d'acceptation
ICH	précision	<p>En règle générale, il est recommandé d'estimer la fidélité à 3 niveaux de concentrations différents. Seule nombre total de répétitions est donné, sans aucune précision relative au plan expérimental en termes de nombre de jours (3 à 10 répétitions)</p> <p>- La répétabilité : Doit être évaluée en utilisant :</p> <p>Au moins neuf mesures englobant l'écart d'utilisation de la méthode (c.-à-d. trois concentrations avec trois échantillons); ou au moins six mesures d'une concentration à 100 % de la teneur escomptée.</p> <p>- La fidélité intermédiaire : La mesure dans laquelle la fidélité intermédiaire doit être établie dépend des circonstances dans lesquelles la procédure est</p>	Il est recommandé d'indiquer l'écart-type, l'écart-type relatif (coefficient de variation) et l'intervalle de confiance pour chaque type de précision évaluée.	Non spécifiés

		censée être utilisée. Le		
--	--	--------------------------	--	--

		<p>demandeur doit établir les effets d'événements aléatoires sur la précision de la procédure analytique. Typique les variations à étudier comprennent les jours, les analystes, l'équipement, etc.</p>		
<p>SFSTP pharma 2003-2006</p>	<p>Fidélité</p>	<p>-Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Peuvent ainsi être distinguées les conditions de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • répétabilité : conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps ; • fidélité intermédiaire : conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné ; • reproductibilité : conditions où les résultats d'essai sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents. 	<p>-est calculée à partir de l'écart type des résultats d'essais.</p>	

		<p>-L'estimation de la fidélité s'effectue avec les concentrations calculées provenant des standards de validation en phase de validation (ou des standards d'étalonnage eux-mêmes en phase de pré-validation.</p> <p>-elle se trouve dans l'analyse statistique avec la justesse en même temps</p>		
--	--	---	--	--

6.7- La justesse :

6.7.1- Définition :

Tableau 16 : Définition de justesse selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

	ICH	SFSTP pharma2003-2006
<i>Définition</i>	<p>-Correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée</p> <p>comme véritable par convention. (L'exactitude est aussi désignée par la justesse)</p>	<p>exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur</p> <p>qui est acceptée soit comme une valeur Conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée (exemple : standard international, standard d'une pharmacopée).</p>

6.7.2- Plan Expérimental :

L'estimation de la justesse est requise par tous les guidelines, Cependant, dans les trois documents étudiés, nous constatons une confusion entre le terme « exactitude » et le terme « Justesse ». Il y a une incohérence dans la définition de la justesse à travers les deux guidelines ;

La mesure de la justesse est souvent exprimée en termes de biais (absolu et /ou relatif).

ICH parle d'écart entre la valeur réelle et la valeur trouvée ou la valeur calculée ; alors que la SFSTP pharma 2003-2006 parle comme objectif de l'outil de décision (profile d'exactitude).

La justesse est liée à des erreurs systématiques des méthodes d'analyse contrairement à l'exactitude qui se réfère à la qualité des résultats.

Tableau 17 : Comparaison du critère de justesse dans les deux guidelines

Guidelines	Concept & terminologie	Plan expérimental	Tests	Critères d'acceptation
ICH	Justesse (exactitude)	-n'est pas trouvé dans les deux guidelines de ICH ; elle est l'exactitude. -Minimum 9 déterminations à partir de 3 concentrations (n = 3) couvrant l'intervalle de linéarité	-Application de la méthode à des mélanges synthétiques avec une pureté connue -Comparaison des résultats avec ceux obtenus par une méthode de référence ; ➤ Déduction de la justesse après avoir établi la précision, la linéarité et la spécificité de la méthode en question. ➤ Pourcentage de recouvrement de la substance dont une quantité connue a été ajoutée à l'échantillon ➤ Différence entre la valeur moyenne et la valeur considérée comme véritable avec les intervalles de confiance correspondants.	Non spécifié

SFSTP Pharma 2003- 2006	Justesse (<i>biais</i>)	<ul style="list-style-type: none"> -Obtenue en calculant la différence entre la moyenne arithmétique des concentrations introduites et la moyenne des concentrations calculées. -Peut s'exprimer en termes absolu, relatif ou de recouvrement par rapport aux quantités introduites. -lier avec l'exactitude telle qu'il faut déduire la justesse puis faire le profil d'exactitude. 	<ul style="list-style-type: none"> -estimer les limites de confiance unilatérales de l'exactitude pour chaque niveau de concentration et tracer les profils d'exactitude correspondants aux différents modèles de régression testés. -lorsqu'il y a un problème dans le profil d'exactitude l'analyste doit faire les tests suivants : l'examen des résidus, le test d'homogénéité des variances de Levene, le test de manque d'ajustement ou encore la comparaison des pentes, des ordonnées à l'origine, de l'ordonnée à l'origine à zéro dans le cas d'une régression linéaire. 	Non spécifié
--	------------------------------	---	--	--------------

6.8- Limite de détection :

6.8.1- Définition :

Tableau 18 : Définition de limite de détection selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

	ICH	SFSTP pharma2003- 2006
Définition	c'est La plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter, sans nécessairement fournir la valeur exacte	La limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la procédure.

6.7.2- Plan expérimental :**Tableau 19** : Comparaison du critère de limite de détection dans les deux guidelines.

Guidelines	Concept & Terminologie	Plan expérimental	Tests	Critères d'acceptation
ICH	Limite de détection	<p>-Evaluation visuelle</p> <p>-Approche du rapport signal /bruit : applicable aux méthodes avec un bruit de fond. On compare le signal obtenu avec des échantillons contenant de faibles concentrations connues de la substance à analyser avec des blancs.</p> <p>-Approche de s/P : $LD = 3.3 \cdot s / P$.</p> <p>Où :</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ S : écart-type de la réponse (écart-type des valeurs obtenues par des blancs ou à partir d'une courbe d'étalonnage) ➤ P : pente de la courbe d'étalonnage ➤ on peut utiliser l'écart-type résiduel d'une courbe de régression ou l'écart-type de l'ordonnée à l'origine de courbes de régression 	<p>-Si la limite de détection est déterminée par l'évaluation visuelle ou le rapport signal /bruit, on doit présenter les chromatogrammes correspondants comme justificatif acceptable.</p> <p>-Lorsqu'elle est estimée par calcul ou extrapolation, on peut valider l'estimation en analysant par une méthode indépendante un nombre suffisant d'échantillons dont la teneur en substance à analyser est proche de la limite de détection ou coïncide avec cette limite.</p>	<p>Le rapport signal /bruit $> 2-3$ est, considéré comme acceptable.</p> <p>Non spécifié pour les autres méthodes</p>

<p>SFSTP pharma 2003-2006</p>	<p>limite de détection</p>	<p>-c'est un objectif essentiel dans l'étape de pré validation. -n'est pas trouvée dans les statistiques et dans le protocole de validation.</p>	<p>Non spécifié</p>	<p>Non spécifié</p>
--------------------------------------	----------------------------	---	---------------------	---------------------

6.9 - Limite de quantification :

6.9.1- Définition :

Tableau 20 : Définition de limite de quantification selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

	<p>ICH</p>	<p>SFSTP pharma2003-2006</p>
<p><i>Définition</i></p>	<p>-C'est La plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude. -La limite de quantification pour une procédure analytique ne doit pas être supérieure au seuil de notification. La limite de quantification est un paramètre utilisé pour des dosages quantitatifs pour de faibles niveaux de composés dans des matrices d'échantillons, et, en particulier, est Utilisée pour la détermination d'impuretés et/ou de produits de dégradation.</p>	<p>La limite de quantification est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude définie.</p>

6.9.2- Plan expérimental :

Tableau 21 : Comparaison du critère de limite de quantification dans les deux guidelines

Guidelines	Concept & terminologie	Plan expérimental	Tests	Critères d'acceptation
ICH	Limite de quantification	-Analyse d'un nombre suffisant d'échantillons dont la teneur en substance à analyser est proche de la limite de dosage ou coïncide avec cette limite.	Par l'évaluation visuelle : peut être utilisée pour des méthodes non instrumentales. Basée sur une approche signal-bruit : cette approche ne peut être appliquée qu'aux procédures analytiques qui présentent un bruit de base. Basée sur : l'écart type de la réponse et de la pente.	Non spécifié
SFSTP pharma 2003-2006	Limite de quantification	- Construire à partir des intervalles des mesures attendues. - elle se produit, l'intersection entre le profil d'exactitude et les limites d'acceptation définissent les limites de quantification basse (LLOQ) et haute (ULOQ) de la procédure - sont bien les valeurs extrêmes qui peuvent être quantifiées avec une exactitude définie.	-lié à la linéarité telle que si le modèle linéaire simple est choisi, alors les limites de quantification deviennent les valeurs de concentration extrêmes investiguées durant les expériences de validation. -objectif essentiel dans la phase de pré validation.	Non spécifié

6.10- Robustesse :

Tableau 22 : Définition de robustesse selon ICH et SFSTP pharma 2003-2006

6.10.1- Définition :

	ICH	SFSTP pharma2003- 2006
Définition	<p>est une mesure de sa capacité à répondre aux exigences de performance attendues lors d'une utilisation normale. La robustesse est testée par des variations délibérées des paramètres de la procédure analytique et sa capacité à ne pas être affectée par les faibles variations.</p>	N'est pas dirigé dans les critères.

6.10.2- Plan expérimental :

Tableau 23 : Comparaison du critère de robustesse dans les différentes guidelines.

	Concept & définitions	Plan expérimental & recommandations	tests	Critères d'acceptation
ICH	Robustesse	L'évaluation de la robustesse se fait durant la phase de mise au point de la méthode ; elle dépend du type de méthode considérée. cette évaluation doit démontrer que la méthode demeure fiable lorsqu'on introduit des variations planifiées de paramètres.	Test de résolution : permet de garantir la validité de la méthode ; quelques soient les conditions d'utilisation	Non spécifié
SFSTP pharma 2003- 2006	NA			

(40) ; (31) ; (34)

Le guide de la SFSTP pharma 2003-2006 ne propose pas une définition de la robustesse. Tandis que celui de l'ICH propose même quelques exemples de variations des caractéristiques comme : la stabilité des solutions d'analyse, et le temps d'extraction. Et en ce qui concerne les chromatographies en phase liquide (ce qui nous importe dans notre étude) : variations du pH et /ou composition de la phase mobile, température et débit.

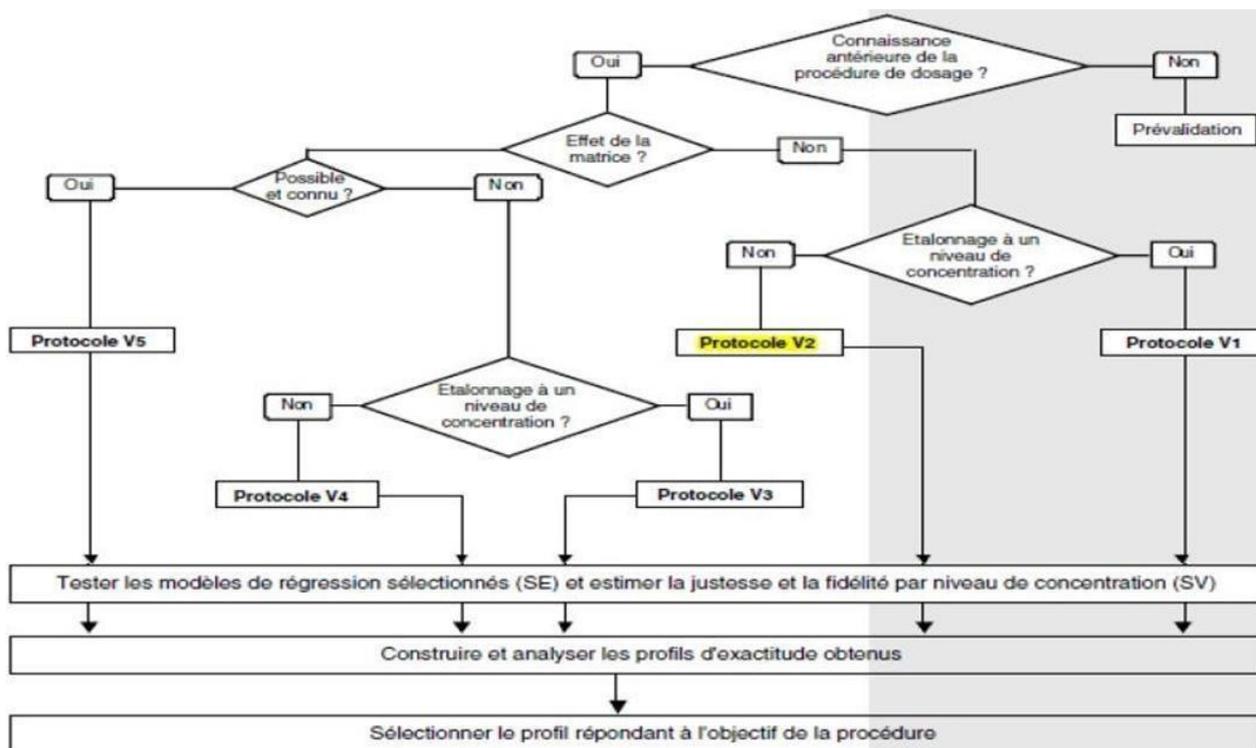
De façon plus claire, la société française ne va pas basées strictement sur les critères de validation analytique par contre elle présente une démarche proposée pour sélectionner un protocole expérimental de validation en fonction des contraintes ou des spécificités liées à la procédure de dosage sous épreuve. En l'absence d'informations pertinentes obtenues lors du développement ou d'une connaissance particulière de l'analyste sur les performances de la procédure, une phase de pré validation est conseillée ; telle que leur objectif est de pré- parer tous les éléments nécessaires à la validation formelle de la méthode, tels que la configuration précise du matériel à utiliser, la préparation des solutions « Mères » et « filles » pour la réalisation des standards d'étalonnage et le mode de préparation des standards de validation. L'ensemble de ces informations doit idéalement être formalisé dans un protocole avant d'entreprendre la phase de validation.

En outre, les principaux objectifs de la phase de pré validation sont de :

- définir la fonction de réponse (linéaire ou non linéaire, transformation mathématique, pondération) qui sera utilisée comme système d'étalonnage lors de la validation,
- définir le seuil de détection (si nécessaire),
- estimer le ou les seuil(s) de quantification (selon les procédures),
- évaluer l'intervalle de dosage ainsi que le nombre des points de la gamme d'étalonnage,
- déterminer éventuellement le rendement d'extraction (si un processus d'extraction est impliqué dans la procédure),
- vérifier la spécificité avant d'entreprendre la phase de validation de la procédure.

Tous ces résultats doivent faire l'objet d'un rapport documenté et leur analyse doit idéalement aboutir à la rédaction d'un protocole de validation détaillé décrivant la procédure expérimentale, les produits à doser, les critères de la validation et leurs limites d'acceptation.

Figure 09 : Logigramme permettant de sélectionner un protocole de validation.



De plus, selon les domaines d’activité concernés, d’autres critères plus spécifiques peuvent être requis ; par exemple :

➤ **Stabilité de l’analyte :**

Doit être testée pendant la phase de développement et confirmée au terme de la validation de la procédure de dosage puisqu’elle conditionne la validité des autres critères. Le contrôle de la stabilité s’effectue le plus souvent, en fonction de l’intervalle de dosage, à un ou deux niveaux de concentration représentatifs de cet intervalle. À partir de solution fraîchement pré- parée ou reconstituée dans la matrice cible, répartie en nombre suffisant d’aliquotes, la stabilité est évaluée sur la base minimale de trois échantillons par mesure dans des conditions de conservation variées, telles que la lumière, l’obscurité, la température, le pH, etc.

➤ **rendement d’extraction (absolu et relatif) :**

peut être obtenu par le rapport des signaux mesurés, d’une part après traitement de l’échantillon chargé avec une quantité connue et d’autre part après l’injection directe dans le système analytique d’une solution de référence contenant une concentration équivalente de substance à examiner.

Doit être préféré au rendement d’extraction relatif où la solution de référence subit le même traitement que l’échantillon, mais il n’est pas toujours possible de l’obtenir.

➤ **effet de dilution :**

Doit également être testé afin de valider le protocole qui sera appliqué en routine pour diluer les échantillons dont la concentration dépasserait le seuil supérieur de l’intervalle de dosage. Selon le protocole choisi, un ou plusieurs facteurs de dilution peuvent être étudiés. Étant donné, d’une part, que les facteurs de dilution sont le plus souvent fonction du laboratoire, et d’autre part que les laboratoires

préfèrent parfois élargir l'intervalle de dosage plutôt que de valider l'effet de dilution, ce critère n'a pas été développé dans le présent document.

Par contre ICH ne porte pas ça, elle présente le protocole quelle que soit le résultat il faut suivre ce protocole, ce n'est le cas de la société française elle doit aider l'analyste d'éviter les erreurs et donner une solution lorsqu'il y a des erreurs (pré validation).

ICH porte un test d'adéquation du système qui fait partie intégrante de nombreuses procédures analytiques. Les tests sont basés sur le concept que l'équipement, l'électronique, les opérations analytiques et les échantillons à analyser constituent un système intégral qui peut être évalué en tant que tel. Les paramètres de test d'adéquation du système à établir pour une procédure particulière dépendent du type de procédure en cours de validation ; ce n'est pas le cas pour la société française.

PARTIE PRATIQUE

A partir de ces données expérimentales intitulé « validation de détermination de la teneur d'un principe actif dans un comprimé selon deux approches (SFSTP pharma 2003-2006 et ICH) ». Son objectif principal est d'étudier ces approches de validation analytique puis réaliser une analyse approfondie des protocoles de validation analytique les plus couramment utilisés en analyse pharmaceutique, en mettant l'accent sur une comparaison détaillée entre ces deux protocoles. Cette étude critique permettra ainsi d'évaluer les avantages et les inconvénients de chaque protocole, fournissant ainsi des informations précieuses pour le domaine de l'analyse pharmaceutique.

1- Validation de détermination de la teneur d'un principe actif dans un comprimé selon SFSTP pharma 2003-2006 et ICH :

- **Technique d'analyse**

La technique utilisée pour le dosage du principe actif dans le produit fini comprimé est une méthode HPLC.

- **Mode opératoire :**

- **Conditions chromatographiques :**

- Phase mobile : [Solution tampon à pH 4,5 / Méthanol grade HPLC] : [700 / 300] (V/V).
- Solution tampon pH 4,5 : Dans une fiole de 1000ml, introduire 6,9g du phosphate de sodium monobasique. La dissoudre avec de l'eau distillée puis compléter au volume avec de l'eau distillée. Filtrer la solution sur un filtre membrane nylon de 0,45µm.
- Colonne : C18 (25cm × 4,6mm × 5µm).
- Débit : 1ml/min
- Longueur d'onde : 300nm
- Volume d'injection : 20µl

- **Solution standard :**

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 20,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

▪ **Solution à examiner :**

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée équivalente à 20,0mg en principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

▪ **Formule de calcul :**

$$\text{Teneur du principe actif en \%} = \frac{S_e}{S_{st}} \times \frac{P_{st}}{Dil_{st}} \times \frac{Dil_e}{P_e} \times \frac{Mm}{D} \times P$$

Avec :

Se: Surface du Principe actif dans la solution à examiner.

Sst: Surface du Principe actif dans la solution standard.

Pst: Prise d'essai du Principe actif dans la solution standard, en mg.

Dilst: Dilution de la solution standard, en ml.

Dile: Dilution de la solution à examiner, en ml.

Pe: Prise d'essai du produit fini, en mg.

Mm: Masse moyenne du produit fini, en mg.

D : Dose théorique du principe actif dans le produit fini.

P : Pureté du Principe actif, en pourcentage.

Conformité du système : Réaliser sur la solution standard.

- **RSD** $\leq 2,0\%$ (sur 5 injections successives)
- **Facteur de symétrie** : n'est pas supérieur à 2,0.

- **Préparation des solutions d'étalonnage et solutions de validation :**

- **Solution d'étalonnage(SE) :**

5 concentrations de solutions du principe actif seul entre 70 et 130 % de la concentration nominale soit 70. 90 .100.110 et 130 %

Chaque concentration est répliquée 2 fois

La préparation de 5 niveaux répliqués 3 fois est répétée pendant 3 jours

- **Solution de validation(SV) :**

5 concentrations de solutions du principe actif + placebo (forme reconstituée) entre 70 et 130 % de la concentration nominale soit 70. 90 .100.110 et 130 %

Chaque concentration est répliquée 3 fois

La préparation de 5 niveaux répliqués 3 fois est répétée pendant 3 jours

Solution d'étalonnage(SE)

Niveau 1 : SE 70%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 14,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

Niveau 2 : SE 90%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 18,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

Niveau 3 : SE 100%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 20,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

Niveau 4 : SE 110%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 22,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

Niveau 5 : SE 130%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 26,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

Solutions de validation

Niveau 1 : SV 70%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée du produit fini équivalente à 14,0mg en principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

Niveau 2 : SV 90%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée du produit fini équivalente à 18,0mg en principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

Niveau 3 : SV 100%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée du produit fini équivalente à 20,0mg en principe actif.

Partie Pratique

- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

Niveau 4 : SV 110%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée du produit fini équivalente à 22,0mg en principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

Niveau 5 : SV 130%

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée du produit fini équivalente à 26,0mg en principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.

Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

Procédure de validation

Spécificité

Solution placebo :

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai de placebo du produit fini comprimé correspondant à 20mg du principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter

Partie Pratique

- **Solution standard**

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée de 20,0mg du principe actif.
- La dissoudre avec 50ml du mélange (diméthylformamide/eau distillée : 40/60).
- Compléter au volume avec le même solvant. Bien agiter.

- **solution à examiner :**

- Dans une fiole ambrée de 100ml, introduire une prise d'essai exactement pesée équivalente à 20,0mg en principe actif.
- La dissoudre avec 40ml de diméthylformamide.
- Porter la solution au bain ultrasons pendant 15 min.
- Ajouter 40ml d'eau distillée, laisser la solution se refroidir.
- Compléter au volume avec l'eau distillée. Bien agiter.

Résultats :

- le principe actif a un temps de rétention avec une bonne résolution, aucun excipient ne présente un temps de rétention proche de celui du principe actif

- **Données Standards d'Etalonnage SE**

Niveau (%)	Jour 1		Jour 2		Jour 3	
	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)
70%	0,14	78254630	0,14	75906065	0,14	76377396
	0,14	77919409	0,14	76353126	0,14	76351332
90%	0,18	96840114	0,18	94922777	0,18	96584724
	0,18	95967874	0,18	95168389	0,18	96456194
100%	0,20	105350419	0,20	104103192	0,20	104843559
	0,20	104682823	0,20	104103192	0,20	105570200
110%	0,22	112624657	0,22	114817257	0,22	115426216
	0,22	112093378	0,22	114779335	0,22	115444576
130%	0,26	126995204	0,26	132823017	0,26	132906780
	0,26	127149056	0,26	128191455	0,26	133906624

Partie Pratique

- **Données standards de validation SV**

Niveau (%)	Jour 1		Jour 2		Jour 3	
	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)
70%	0,14	78322957	0,14	76757419	0,14	76905033
	0,14	77639724	0,14	75866875	0,14	76862570
	0,14	78290193	0,14	75630575	0,14	76592721
90%	0,18	96538442	0,18	96777752	0,18	96936205
	0,18	95682997	0,18	96236533	0,18	95950015
	0,18	96975018	0,18	96680656	0,18	96438713
100%	0,20	104873686	0,20	104882617	0,20	106503593
	0,20	105043532	0,20	105849251	0,20	106510472
	0,20	105772076	0,20	107131669	0,20	106179751
110%	0,22	112778792	0,22	116334390	0,22	116235360
	0,22	112772561	0,22	116075424	0,22	114664231
	0,22	113131283	0,22	116081752	0,22	115299718
130%	0,26	127251245	0,26	128567818	0,26	131002482
	0,26	127409916	0,26	128085378	0,26	134732054
	0,26	126160503	0,26	128151482	0,26	135456882

1- Traitement statistique selon approche ICH :

- **Linéarité**

-L'ICH exige 5 concentrations (niveaux)

-Les Statistiques à calculer :

L'Examen visuel, le Coefficient de corrélation, ordonnée à l'origine, pente, courbe de régression, somme des carrés des résidus.

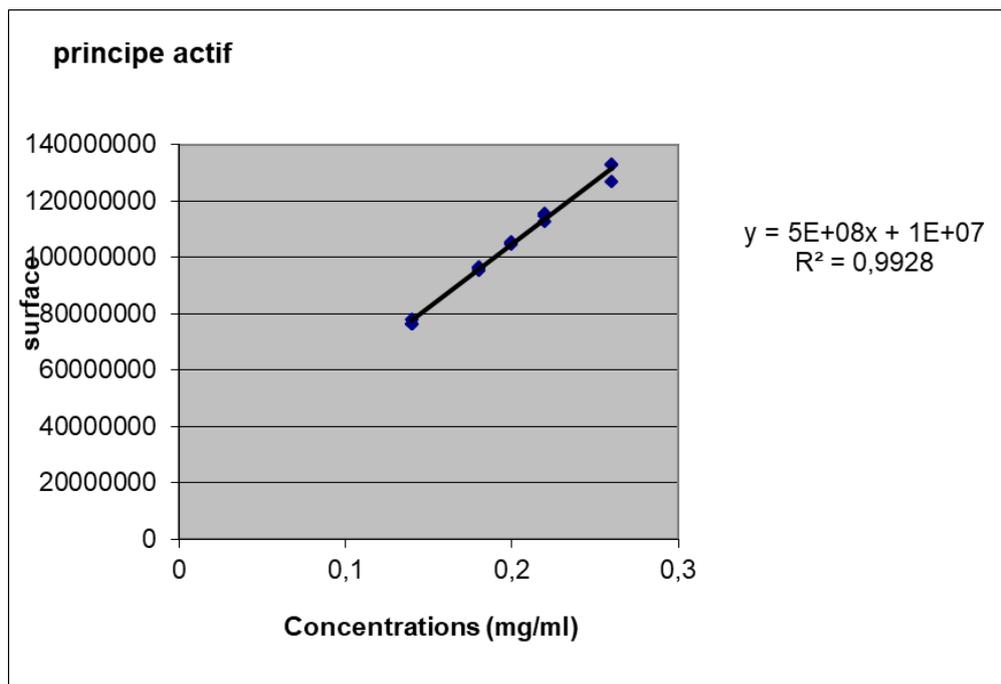
-Critères d'acceptation: non précisé

-Application pour la gamme d'étalonnage :

Ordonnée à l'origine : 14360665

Pente : 451143628

Somme des carrés des résidus : 1808090662000



- **Fidélité :**

- **Répétabilité :**

-Doit être évaluée en utilisant soit :

a. Au moins neuf mesures englobant l'écart d'utilisation de la méthode (c.-à-d. trois concentrations avec trois échantillons chacune);

b. Au moins six mesures d'une concentration à 100 % de la teneur escomptée.

Partie Pratique

-Calcul statistique :

Il est recommandé d'indiquer l'écart-type, l'écart-type relatif (coefficient de variation) et l'intervalle de confiance pour chaque type de précision évaluée

-Critère d'acceptation : non spécifié

- Application pour la gamme de standard de validation : les niveaux 70 ; 100 et 130 % sont choisis avec 3 répétitions chacun

0,14	78322957
0,14	77639724
0,14	78290193
0,20	104873686
0,20	105043532
0,20	105772076
0,26	127251245
0,26	127409916
0,26	126160503

-Calculs statistiques :

	Moyenne	Ecart type	CV	Intervalle de confiance
70 %	78084291,3	385354,973	0,49351152	moyenne±436062,19
100 %	105229765	477271,519	0,45355183	moyenne±540073,642
130 %	126940555	680187,161	0,53583125	moyenne±769690,088

Fidélité intermédiaire (inter jour)

-Doit être établie dépend des circonstances dans lesquelles la procédure est censée être utilisée. Le demandeur doit établir les effets d'événements aléatoires sur la précision de la procédure analytique. Typique les variations à étudier comprennent les jours, les analystes, l'équipement, etc.

Partie Pratique

-Calculs statistiques :

Il est recommandé d'indiquer l'écart-type, l'écart-type relatif (coefficient de variation) et l'intervalle de confiance pour chaque type de précision évaluée

-Critère d'acceptation : non spécifié

-Application pour la gamme de standard de validation : les niveaux 70 ; 100 et 130 % sont choisis avec 3 répétitions chacun pendant 3 jours

Jour 1		Jour 2		Jour 3	
Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)	Concentration introduite (mg/ml)	Surface (UA)
0,14	78322957	0,14	76757419	0,14	76905033
0,14	77639724	0,14	75866875	0,14	76862570
0,14	78290193	0,14	75630575	0,14	76592721
0,20	104873686	0,20	104882617	0,20	106503593
0,20	105043532	0,20	105849251	0,20	106510472
0,20	105772076	0,20	107131669	0,20	106179751
0,26	127251245	0,26	128567818	0,26	131002482
0,26	127409916	0,26	128085378	0,26	134732054
0,26	126160503	0,26	128151482	0,26	135456882

-Calculs statistiques :

	moyenne	Ecart type	CV	Intervalle de confiance
70 %	76985340,8	950923,927	1,2352013	moy±621258,883
100 %	105860739	803061,533	0,75860186	moy±524657,228
130 %	129646418	3357632,18	2,58983799	moy±2193612,71

Partie Pratique

- **Justesse :**

-Minimum 9 déterminations à partir de 3 concentrations (n = 3) couvrant l'intervalle de linéarité

-Exigence statistiques :

-Pourcentage de recouvrement de la substance dont une quantité connue a été ajoutée à l'échantillon ;

-Critère d'acceptation : non précisé

-Application pour la gamme de standard de validation : les niveaux 70 ; 100 et 130 % sont choisis avec 3 répétitions

-La concentration retrouvée est calculée par rapport à l'équation de la linéarité

0,14	78322957
0,14	77639724
0,14	78290193
0,20	104873686
0,20	105043532
0,20	105772076
0,26	127251245
0,26	127409916
0,26	126160503

-Calculs statistiques :

Concentration introduite	réponse	Concentration retrouvée	Recouvrement %
0.14	78322957	0,14177811	101,27008
0.14	77639724	0,14026367	100,188333
0.14	78290193	0,14170549	101,218206
0.20	104873686	0,20063017	100,315083
0.20	105043532	0,20100664	100,503322

Partie Pratique

0.20	105772076	0,20262153	101,310764
0.26	127251245	0,25023202	96,2430835
0.26	127409916	0,25058373	96,3783559
0.26	126160503	0,24781429	95,3131886

2- Traitement statistique selon la SFSTP pharma 2003-2006 :

- **Linéarité et fonction de réponse : Sur SE (étalonnage)**

-5 niveaux avec 3 répétitions sur le principe actif

-Il est exigé seulement coefficient de corrélation R^2

- Le modèle mathématique le plus approprié est ($Y = aX + b$), pour lequel on peut garantir que la procédure d'analyse sera capable en routine, de produire en moyenne au moins 85% de résultats acceptables, c'est-à-dire situés à $\pm 5\%$ de la vraie valeur.

Jour 1 :

$Y = aX + b$		
pente(a)	407275887,500	22332578,900
	9357076,247	1908476,575
R2	0,996	1183586,927
F	1894,511	8,000

Jour2 :

pente(a)	457214086,250	12701014,450
	12002593,825	2448058,405
R2	0,995	1518221,373
F	1451,072	8,000

Partie Pratique

Jour3 :

pente(a)	475104877,500	10365784,600
	5038145,174	1027584,022
R2	0,999	637280,557
F	8892,782	8,000

- **Fidélité :**

Niveaux	CV répétabilité (%)	CV fidélité intermédiaire (%)
70%	0,56	1,15
90%	0,52	0,76
100%	0,64	0,7
110%	0,37	1,25
130%	0,98	1,57

- **justesse**

Niveaux	Biais (%)	Recouvrement (%)
70%	-1,11	98,89
90%	1,20	101,20
100%	1,60	101,60
110%	1,47	101,47
130%	-1,38	98,62

Partie Pratique

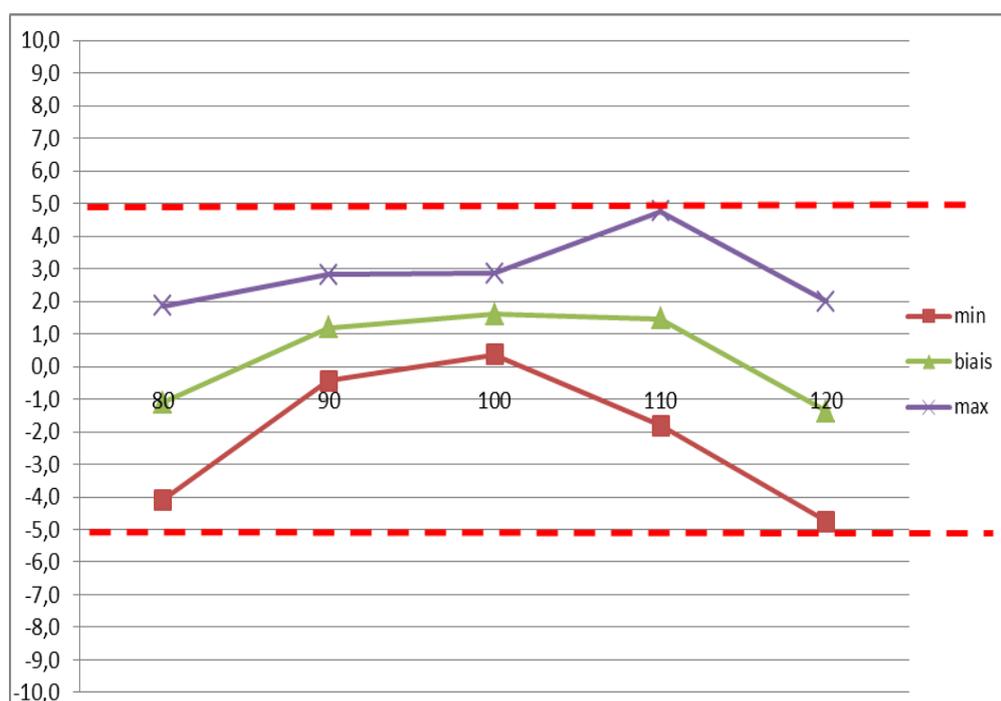
- **Erreur totale :**

Biais + CV de fidélité intermédiaire

Niveaux	Biais (%)	CV fidélité intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
70%	-1,11	1,15	2,26
90%	1,20	0,76	1,96
100%	1,60	0,7	2,30
110%	1,47	1,25	2,73
130%	-1,38	1,57	2,95

- **Profil d'exactitude**

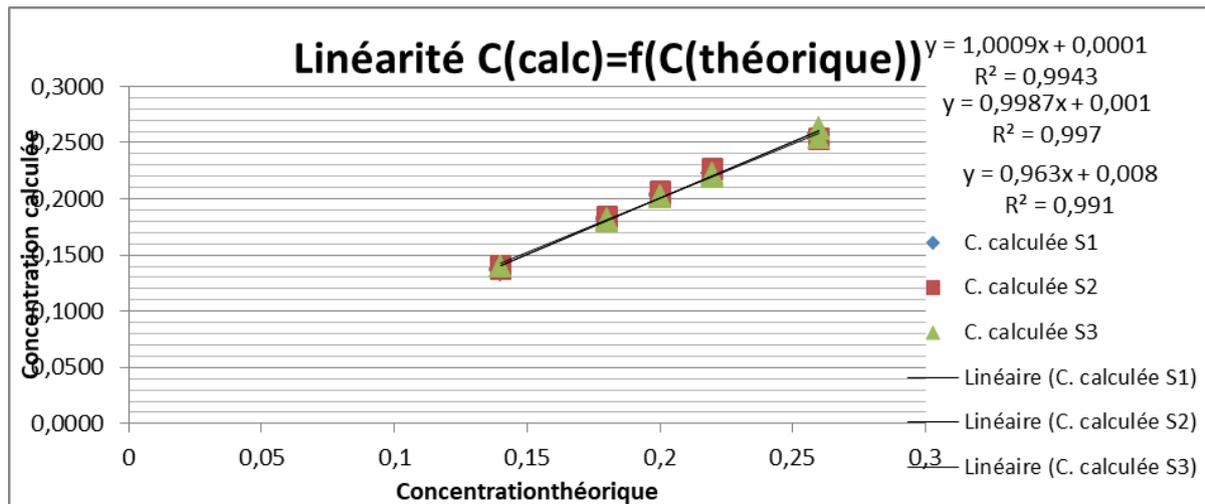
-Selon l'équation : $y = ax + b$ avec $\beta = 0.85$ et $\lambda = \pm 5 \%$



Partie Pratique

- Linéarité de la prédiction inverse

Niveaux	C. théorique	C. calculée S1	C. calculée S2	C. calculée S3
1	0,14	0,1375	0,1401	0,1401
1	0,14	0,1358	0,1382	0,1400
1	0,14	0,1374	0,1376	0,1394
2	0,18	0,1822	0,1839	0,1822
2	0,18	0,1801	0,1827	0,1801
2	0,18	0,1833	0,1837	0,1812
3	0,2	0,2027	0,2016	0,2024
3	0,2	0,2031	0,2037	0,2024
3	0,2	0,2049	0,2065	0,2017
4	0,22	0,2221	0,2267	0,2228
4	0,22	0,2221	0,2261	0,2195
4	0,22	0,2229	0,2261	0,2209
5	0,26	0,2576	0,2534	0,2539
5	0,26	0,2580	0,2524	0,2618
5	0,26	0,2549	0,2525	0,2633



2-Discussions :

A partir de ces données, le plan d'expérience de validation consiste en trois jours, 5 concentrations de solutions du principe actif + placebo (forme reconstituée) entre 70 et 130 % de la concentration nominale soit 70. 90 .100.110 et 130 % chaque concentration est répliquée 3 fois, la préparation de 5 niveaux répliqués 3 fois est répété pendant 3 jours. En ce qui concerne les données d'étalonnage, le plan d'étalonnage consiste en 5 concentration de solutions du principe actif seul entre 70 et 130 % de la concentration nominale soit 70. 90 .100.110 et 130 %, chaque concentration est répliquée 2 fois, la préparation de 5 niveaux répliqués 3 fois est répétée pendant 3 jours.

Le traitement de ces données selon ICH

- La linéarité consiste à utiliser 5 concentrations (niveaux) pour calculer la linéarité puis calculer les statistiques suivantes l'examen visuel, le coefficient de corrélation, l'ordonnée à l'origine, la pente et la courbe de régression, ainsi que la somme des carrés des résidus, sans préciser les critères d'acceptations. Après l'application pour la gamme d'étalonnage la courbe est une droite mais ces données ne permettent pas de conclure à la linéarité.
- La répétabilité est évaluée par utilisation de neuf mesures, y compris trois concentrations avec trois échantillons chacune, ainsi que six mesures d'une concentration à 100% de la teneur escomptée. L'écart type représente la dispersion des valeurs autour de la moyenne, tandis que le coefficient de variation (CV) exprime cette dispersion en pourcentage par rapport à la moyenne. L'intervalle de confiance donne une estimation de la plage de valeurs dans laquelle on peut s'attendre à trouver la moyenne réelle de la population, avec un certain degré de confiance. Dans ce cas, l'intervalle de confiance est donné sous la forme "moyenne \pm valeur", où "valeur" représente l'intervalle de confiance lui-même. Les niveaux 70 ; 100 et 130 % sont choisis avec 3 répétitions chacun ; sans spécifier les critères d'acceptation.
- La fidélité intermédiaire établie dépend des circonstances dans lesquelles la procédure est censée être utilisée. Donc il établit les effets d'événements aléatoires sur la précision de la procédure analytique. Typique les variations à étudier comprennent les jours, les analystes, l'équipement, etc. Il est recommandé d'indiquer l'écart-type, l'écart-type relatif (coefficient de variation) et l'intervalle de confiance pour chaque type de précision évaluée. Les niveaux 70 ; 100 et 130 % sont choisis avec 3 répétitions chacun pendant 3 jours ; Ces valeurs de CV indiquent la variation relative des mesures effectuées sur plusieurs jours pour chaque concentration. Plus le CV est faible, plus la méthode est considérée comme précise et fidèle. Cependant, sans les critères d'acceptation spécifiques pour la fidélité, il n'est pas possible de conclure définitivement si la méthode est fidèle ou non. Les critères d'acceptation dépendent souvent des exigences réglementaires ou des spécifications internes du laboratoire.

Partie Pratique

- La justesse consiste 9 déterminations à partir de 3 concentrations ($n = 3$) couvrant l'intervalle de linéarité ; les statistiques calculés sont le pourcentage de recouvrement de la substance dont une quantité connue a été ajoutée à l'échantillon ; sans spécifier les critères d'acceptation. Les niveaux 70 ; 100 et 130 % sont choisis avec 3 répétitions ; la concentration retrouvée est calculée par rapport à l'équation de la linéarité. On ne peut pas dire que la méthode est juste à partir de ces données.
- On doit conclure qu'on ne peut pas faire une décision sur cette méthode à cause d'absence de critères d'acceptation et aussi les calculs statistiques qui sont inexploitable.

Le traitement selon SFSTP 2003-2006

- La fonction de réponse et la linéarité consiste 5 niveaux avec 3 répétitions sur le principe actif avec la détermination de coefficient de corrélation R^2 . Elle est effectuée sur des données à l'aide d'une équation de régression linéaire de la forme $Y = aX + b$. La pente (a) et l'ordonnée à l'origine (b) de cette équation sont calculées à partir des données. Pour évaluer la linéarité d'un ajustement, on peut se référer à l'indicateur R^2 (R carré) qui mesure la qualité de l'ajustement linéaire. Les valeurs de R^2 . Une valeur de R^2 proche de 1 indique un ajustement linéaire très précis, tandis qu'une valeur proche de 0 indique une mauvaise correspondance linéaire. F utilisée pour tester l'adéquation globale du modèle de régression linéaire. Dans cette cas, une valeur de F constante de 8,000 pour tous les jours ; à partir de ces derniers données on peut conclure qu'il y a une très bonne linéarité.
- La fidélité dans ce cas basé sur une comparaison entre le coefficient de validation de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire tels qu'on peut remarqué que tous les coefficients sont inférieurs à 2% donc on peut conclure que la méthode est fidèle.
- Le biais mesure l'écart moyen entre les résultats obtenus et la valeur de référence ou la vérité fondamentale. Un biais négatif indique une sous-estimation systématique, tandis qu'un biais positif indique une surestimation systématique. Le recouvrement, ou couverture, mesure la proportion des résultats qui se situent dans une plage acceptable par rapport à une valeur de référence ou une spécification. Un recouvrement de plus de 100% peut indiquer une surestimation ou une plage de spécification trop large, tandis qu'un recouvrement inférieur à 100% peut indiquer une sous-estimation ou une plage de spécification trop étroite. Selon ces résultats on peut conclure que la méthode est juste.
- L'erreur totale est une mesure qui combine à la fois le biais (qui mesure la tendance systématique des résultats) et le coefficient de variation de fidélité intermédiaire (qui mesure la variabilité relative des résultats obtenus par différentes personnes ou dans différentes situations). L'erreur totale permet d'évaluer la précision globale de la méthode de mesure ou de l'instrument utilisé. Elle prend en compte à la fois la tendance systématique (biais) et la variabilité (CV de fidélité intermédiaire) dans les

résultats. En analysant ces résultats que l'erreur totale ne sort de l'intervalle [-5%, +5%], la méthode est donc exacte.

- Le profil d'exactitude en prenant que la limite d'acceptation est $\pm 5\%$ permet de conclure à la validité de la méthode
- La linéarité de la prédiction inverse : Ces valeurs semblent représenter les valeurs théoriques (C. théorique) et les valeurs calculées (C. calculée) pour différents niveaux (1 à 5) et différentes conditions (S1, S2, S3). Pour évaluer la linéarité de la prédiction inverse, il est nécessaire d'examiner la relation entre les valeurs théoriques et les valeurs calculées. Une linéarité élevée serait indiquée si les valeurs calculées étaient très proches des valeurs théoriques ; on remarque que les valeurs sont très proches
- La méthode est validée.

3-CONCLUSION GENERALE :

L'approche ICH propose une méthode de validation classique, qui est basée sur l'évaluation individuelle des différents critères de validation via des outils statistiques prédéfinis, ce qui fait que la validité de la méthode dépend systématiquement de la validité de l'ensemble de ces paramètres de performance : Spécificité, linéarité, exactitude et fidélité.

L'ICH ne propose pas de méthode d'analyse des résultats des critères de validation. Aucun exemple n'est proposé pour illustrer une validation de méthode de dosage. Cette approche présente une liste de critères de performance devant permettre la validation d'une méthode de dosage, leurs définitions, et un mode de calcul de ces critères, basé sur un nombre minimal de séries d'essais et de concentrations.

Contrairement à l'approche SFSTP 2006, elle est globale utilisant le profil d'exactitude comme outil décisionnel objectif qui comprend deux notions essentielles qui sont : l'écart λ et la proportion β qui limitent l'intervalle de dosage optimal, dans lequel se situe le résultat de dosage par rapport à la vraie valeur inconnue, ce qui permet de vérifier que le résultat ne sort pas des limites fixées par cet intervalle.

Et d'après le profil d'exactitude obtenu à partir du modèle $y = a x + b$, nous concluons que la méthode est valide ce qui implique systématiquement la validité de l'ensemble des critères de validation. La spécificité, la linéarité de la méthode de dosage de principe actif dans ce comprimé mise au point dans le présent travail sont démontrés dans une probabilité de confiance de 85%, dans les limites d'acceptation définies $\pm 5\%$, c'est-à-dire nous avons 85% de chance d'avoir la vraie valeur incluse dans les limites d'acceptabilité.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- (1).... International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). ICH Q2 (R1): Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Nov. 2005. [En ligne] Disponible sur : https://database.ich.org/sites/default/files/Q2_R1_Guideline.pdf
- Zaidi SA, Mohammad A, Khanam N, et al. Analytical method validation: An updated review. *Pharm Methods*. 2018;9(1):1-13. doi:10.5530/phm.2018.9.1
- (2).... Caubel D. 1997. Validation et inspection : tendances pour le futur. *S.T.P. Pharma Pratiques*. 1997, Vol. 7, 5, pp. 378-382.
- (3).... Chao A.Y., Forbes F.S., Johnson R.F., Doehren P.V. 2003. Prospective process validation. 3e éd. Dekker Inc. *Pharmaceutical Process Validation*. New York: 2003. pp. 47-70.
- (4).... Christensen J.R. 2004. Why GMPs? What are GMPs and why do we need them? *The Biopharm International Guide*. 2004, pp. 4-7.
- (5).... Food and Drug Administration. 2009. White Paper: FDA Guidance for Industry Update - Process Validation. [En ligne] 2009. [Citation : 27 06 2010.] <http://www.pharmout.com>.
- (6).... D'Eramo P., McNally G. 2009. The draft process validation guidance - A perspective from the FDA. *Pharmaceutical Engineering*. 2009, Vol. 29, 3, pp. 18-22.
- (7).... Code of Federal Regulations. 2010. 21CFR211.180 Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals. 2010. Vol. 4.
- (8).... Commission Européenne. 2001. Annexe 15 Qualification and Validation. *EU Guide to Good Manufacturing Process*. Bruxelles: s.n., 2001, p. 11.
- (9).... Commission Européenne. 2005. *EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use*. 2005. Part I, Chapter 1, Section 1.5
- (10).... Commission Européenne. 2010. *EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use*. Bruxelles: 2010. p. 3. Vol. 4.
- (11).... J. Caporal-Gautier, J.M. Nivet, P. Algranti, M. Guilloteau, M. Histe, M. Lallier, J.J. N'guyen-Huu, R. Russoto. - *Guide de validation analytique : Rapport d'une commission SFSTP. -I. Méthodologie*, 205-226, 1992.
- (12).... Hwang R., Kowalski D.L. 2005. *Design of Experiments for Formulation Development*. *Pharmaceutical Technology*. 2005.
- (13).... France G. 2009. ICH Q8, Q9, Q10, 3 guidelines qui sont en train de changer l'approche industrielle pour le développement pharmaceutique, l'approche qualité et sa mise en œuvre industrielle. Lille : 2009. *Master Pharmacie Galénique Industrielle, Laboratoire de Pharmacotechnie Industrielle, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et*

BIBLIOGRAPHIE

Biologiques.

- (14) ICH Harmonised Tripartite Guideline. 2000. Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical: Q7. 2000.
- (15) Dietrick J.M., Loftus B.T. 2003. Regulatory basis for process validation. 3e éd. Dekker Inc. Pharmaceutical Process Validation. New York: s.n., 2003. pp. 41-46.
- (16) Drakulich A. 2008. New draft Guidance on Process Validation. The Electronic Newsletter of Pharmaceutical Technology. [En ligne] 20 11 2008. <http://pharmtec.findpharma.com>.
- (17) P. WEHRLE pharmacie galénique : Formulation et technologie pharmaceutique.
- (18).... Pharmacie documentation juridique 1997 Saidal.
- (19) NF EN ISO 17025 (2005) Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais, ISO, Genève.
- (20)Francqui validation pdf Laboratoire de Chimie Analytique Pharmaceutique_google scholar_
- (21) David Mantus Douglas, J. Pisano, FDA Regulatory Affairs Third Edition, 3-18.
- (22) Current Good Manufacturing Practice (CGMP) Regulations, disponible sur <https://www.fda.gov>
- (23) Feinberg M., Labo-stat, Guide de validation des méthodes d'analyse. s.l: Editions Lavoisier, 2009, 384 pages.
- (24) Feinberg M., La validation des méthodes d'analyse – Une approche de l'assurance qualité du laboratoire.
- (25) Feinberg M. (2010a) Principes et vocabulaire in Validation des méthodes d'analyse quantitative par le profil d'exactitude. Le Cahier des Techniques de l'Inra, numéro spécial, 13-25
- (26) Rapport du Comité OMS d'experts sur les politiques pharmaceutiques nationales, Genève, 19-23 juin 1995: Contribution à la mise à jour des directives de l'OMS pour l'élaboration des politiques pharmaceutiques nationales(1995; 96 pages)
- (27) International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) - Guidelines: <https://www.ich.org/page/guidelines>
- (28) <https://www.phytocontrol.com/actualites/les-criteres-de-validation-dune-methode-danalyse> Consulté le 01 Juin 2023
- (29) Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques - Recueil de directives et autres documents - Volume 1(1998; 278 pages)

BIBLIOGRAPHIE

- (30) Ayachi.N. Cours d'industrie pharmaceutique cinquième année pharmacie
Validation et qualification
- (31)... ICH, Q2(R1) page 3, 2005.
- (32)Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) -
Publications: <https://www.sfstp.org/publications/>
- (33) Guidede validation analytique : Rapport d'une commission
SFSTP : I. Méthodologie 1992.
- (34) ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.
NOTE FOR GUIDANCE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES:TEXT
AND METH-ODOLOGY(CPMP/ICH/381/95).
- (35) Guidance for Industry: Bioanalytical Methods Validation for Human Studies (Draft
guidance), U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug
Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Décembre 1998.
- (36) NF EN ISO 17025 (2005) Prescriptions générales concernant la compétence des
laboratoires d'étalonnage et d'essais, ISO, Genève.
- (37) Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen,
P.A. Compagnon, W. Dewe, M. Feinberg,, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G.
Muzard, C. Nivet, L. Valat - Validation des procédures analytiques quantitatives
Harmonisation des démarches- Rapport d'une Commission SFSTP (101-138),STP
PHARMA PRATIQUES - volume 13 - N° 3 - mai/juin 2003
- (38) P. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, N. Cohen, P.A.
Compagnon, W. Dewé, M. Feinberg, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, L. Valat.
Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches Partie
II – Statistiques, Rapport d'une Commission SFSTP, (28-58), STP PHARMA PRATIQUES
- volume 16 - N° 1 - janvier/février 2006.
- (39) ISABELLE PINGUET Validation analytique : application de la procédure SFSTP
2003-2006 au domaine de la phytothérapie, THÈSE pour l'obtention du Diplôme d'état de
docteur en pharmacie, université de Bordeaux 2015/2016.
- (40) Commission SFSTP, Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu B. Boulanger, E. Chapuzet, P.
Chiap, N. Cohen, P.A. Compagnon, W. Dewe, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N.
Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat

CONCLUSION

CONCLUSION

Les autorités réglementaires attendent de la part des laboratoires de contrôle des garanties que chaque mesure qui sera réalisée ultérieurement en routine, sera suffisamment proche de la "vraie valeur" inconnue de l'échantillon ou du moins comprise dans une limite acceptable. En d'autres termes ce que tout le monde attend d'une procédure analytique c'est que la différence entre le résultat rendu et la « vraie valeur » inconnue de l'échantillon, qui par ailleurs restera toujours inconnue, soit petite ou du moins inférieure à une limite d'acceptation.

Les résultats issus des méthodes analytiques ont un rôle essentiel dans de nombreux domaines suite aux décisions qui sont prises sur leur base telles que la détermination de la qualité des principes actifs, des spécialités pharmaceutiques, des études pharmacocinétiques, et de biodisponibilité.

La fiabilité des résultats analytiques est primordiale dans ce contexte, et surtout ils doivent être en accord avec les besoins des utilisateurs finaux. Pour s'assurer de la fiabilité des résultats qui seront fournis lors des analyses de routine, la validation des méthodes analytiques est un élément crucial du cycle de vie d'une méthode analytique.

Pour apporter la preuve que la procédure analytique peut atteindre les objectifs fixés, la validation est une étape importante de son cycle de vie. Fautes de directives claires pour la méthodologie à suivre pour décider correctement quand une méthode peut être considérée comme valide. L'analyste a la responsabilité de choisir l'approche méthodologique non pas la plus simple mais celle qui lui permettra d'atteindre les objectifs qu'il s'est fixé. Cette situation a conduit à l'utilisation de trois approches ICH Q2R1 et STP 2003-2006.

Selon *Journal of Chromatography A*, Volume 1217, Issue 19, 7 May 2010, Pages 3180-3192 Les méthodologies classiques tel que ICH Q2R1 donnent lieu à des conclusions insuffisantes et contradictoires qui ne leur permettent pas de répondre adéquatement aux objectifs de la validation de méthode. Il est constaté que la méthodologie de validation qui donne le plus de garanties quant à la fiabilité ou la pertinence de la décision de considérer une méthode comme valide est celle qui est basée sur l'utilisation du profil d'exactitude à savoir STP 2003-2006.

Il est important de rappeler que les différentes approches méthodologiques ne peuvent régler les problèmes de routines par exemple la qualité de l'étalonnage selon référence 2, ainsi que la validité d'une séquence d'analyse, l'analyste certes disposera d'une procédure validée mais son application correcte et le suivi de la performance de celle-ci incombe à l'analyste.

Finalement les autorités réglementaires doivent harmoniser l'approche méthodologique de la validation pour tous les opérateurs industriels, en élaborant des guides avec des algorithmes spécifiques ou plus simplement demander l'application de guide proposé par des sociétés savantes.

Résumé

Résumé :

Une méthode d'analyse est une procédure détaillée qui décrit les différentes étapes nécessaires pour effectuer l'analyse d'une substance donnée. Sa mise en œuvre comprend généralement quatre phases principales : la sélection, le développement et l'optimisation, la validation (interne et externe) et l'application en routine.

La validation des méthodes d'analyse est devenue un objectif important et omniprésent, notamment avec la mise en place des systèmes d'assurance qualité dans les laboratoires. Plusieurs guides réglementaires internationaux tels que la FDA, l'ICH, l'ISO, les BPC (bonnes pratiques de fabrication), etc., définissent les critères de validation à tester, tels que la spécificité ou la sélectivité, la linéarité, la justesse, la fidélité, la répétabilité et la fidélité intermédiaire, l'exactitude, la limite de détection, la limite de quantification, l'intervalle de dosage et la sensibilité. Cependant, ces guides ne proposent pas d'approches expérimentales spécifiques ni de méthodologies concrètes pour les réaliser. L'ICH présente une liste de critères de performance pour la validation d'une méthode d'analyse, avec leurs définitions, mais propose des modes de calcul assez sommaires basés sur un nombre minimal de séries d'essais et de concentrations, sans préciser comment préparer ces échantillons.

C'est pourquoi plusieurs méthodologies pratiques ont été proposées pour aider les analystes à valider leurs procédures d'analyse. Par exemple, le document SFSTP pharma 1992 a été le premier à fournir une méthodologie concrète pour la préparation d'un protocole de validation, l'application d'une méthodologie statistique et l'aide à la prise de décision, afin de répondre aux différents critères de validation. SFSTP pharma 2003 a introduit une nouvelle stratégie de validation basée sur le profil d'exactitude, qui correspond parfaitement à l'objectif d'une méthode analytique, à savoir sa capacité à quantifier le plus précisément possible chaque quantité inconnue que doit déterminer un laboratoire. Une deuxième partie du guide SFSTP Pharma 2006 développe tous les calculs statistiques nécessaires à la mise en œuvre des concepts présentés dans la première partie du guide, en fournissant un exemple concret.

En résumé, la validation des méthodes d'analyse est un processus essentiel et complexe, et différentes méthodologies ont été proposées pour aider les analystes à atteindre les critères de validation définis par les réglementations internationales.

Abstract:

An analytical method is a detailed procedure that reads different types of substances necessary for the effect of an analysis of a given substance. Its implementation generally includes four main phases: selection, development and optimization, validation (internal and external) and routine application.

The validation of analytical methods has become an important and ubiquitous objective, not with the establishment of quality assurance systems in laboratories. In addition, international guides regulated by FDA, ICH, ISO, BPC (good for manufacturing), etc., define the validity criteria of the tester, which are specific or selective, linear, trueness, precision, repeatability

Résumé

and intermediate precision, accuracy, no limit of detection, no limit of quantification, assay range and sensitivity. However, these guides do not offer specific experimental approaches or concrete methodologies for directors. The ICH presents a list of performance criteria for the validation of an analytical method, with their definitions, which proposes methods for calculating summaries based on a minimum number of test series and concentrations, without specifying how Prepare these samples.

This is why more practical methodologies have been proposed to help analysts validate their analytical procedures. For example, the SFSTP pharma 1992 document was the first to provide a concrete methodology for the preparation of a validation protocol, the application of a statistical methodology and decision-making support, in order to meet the different Validation criteria. The SFSTP pharma 2003 introduced a new validation strategy based on the accuracy profile, which corresponds to the purpose of an analytical method, and provides an ability to quantify as accurately as possible an unknown quantity as to what determines the Workforce. A second part of the SFSTP Pharma 2006 guide developed for us the statistical calculations necessary to implement the concepts presented in the first part of the guide, by providing a concrete example.

In summary, validation of analytical methods is an essential and complex process, and different methodologies on these proposals allow analysts to witness criticisms of validation definitions by international regulations.

ملخص

الطريقة التحليلية هي إجراء منصل يُدرأ أنواعاً مختلفة من المواد اللازمة لتأثير تحليل مادة معينة. يشمل تنفيذ عمود على أربع مراحل رئيسية: الاختيار والنظير والتحسين والتحقق (داخلاً وخارجاً) والنظير الروتيني. أصبح التحقق من صحة الأساليب التحليلية هدفاً مهماً وشاملاً، وليس مع إنشاء أنظمة ضمان الجودة التي المخبرات. بالإضافة إلى ذلك، تحدد الأدلة الدولية التي تنظمها FDA و ICH و ISO و BPC جيدة للتصنيع (وما إلى ذلك مع غيرها) صالحة المخبر، والتي تكون محددة أو انبثاقية، وخطية، وصدق، ودقة، وإبالية للتكرار ودقة وسيطة، ودقة، الوجود حد للكشف، الوجود حد للتغير، ونطاق النقص والحساسية. ومع ذلك، الوجود هذه الأدلة مزاج تجريبية محددة أو منهجيات محددة للمديرين. يُقدم ICH قائمة بمعايير الأداء للتحقق من صحة طريقة تحليلية، مع تعريفاتها، والتي تُنرح طرقاً لحساب الملخصات بذاً على الحد الأدنى من سلاسل الاختيار والتكرارات، دون تحديد كيفية تحضير هذه العينات. هذا هو السبب وراء اقتراح المزيد من المنهجيات العملية لمساعدة المحللين على التحقق من صحة إجراءات التحليلية. على سبيل المثال، كانت وثيقة SFSTP pharma 1992 هي الأولى التي قدمت منهجية لموسسة إعداد بروتوكول التحقق، وتطبيق منهجية إحصائية ودعم اتخاذ القرار، من أجل تلبية معايير التحقق المختلفة. يُدم SFSTP pharma 2003 استراتيجيات تحقق جديدة تستند إلى ملف تعريف الدقة، والذي يتوافق مع الغرض من الطريقة التحليلية، ويوفر القدرة على تحديد الكمي بأكثر قدر ممكن من الدقة للكيفية غير المعروفة لها بتحديد القوة العملية. طور لنا الجزء الثاني من دليل SFSTP Pharma 2006 الحسابات الإحصائية التي تلزم لتنفيذ المناهج الواردة في الجزء الأول من الدليل، من خلال تقديم مثال لموسس. باختصار، يُعد التحقق من صحة الأساليب التحليلية عملية أساسية ومعقدة، والمنهجيات المختلفة التي هذه المنهجيات تسمح للمحللين بمساعدة الزوائد لعرضيات التحقق من الصحة بواسطة الوثائق الدولية.

Résumé
