

CONCEPTION D'UN LOGICIEL DE VALIDATION DES METHODES BIOANALYTIQUES

LALAOUNA Abd El Djalil⁽¹⁾ ; DALIA Farid⁽²⁾ ; CHERIF Redouane Amine⁽³⁾ ; BENMOUSSA Mohammed Tahar⁽⁴⁾ ; TITEL Faouzi⁽¹⁾

(1). Laboratoire de Chimie Analytique, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Constantine 3.
 (2). Laboratoire de Pharmacognosie, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Constantine 3.
 (3). Laboratoire de Chimie Analytique, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Alger 1.
 (4). Laboratoire de Pharmacognosie, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Batna 2.

Introduction

La validation d'une méthode bioanalytique constitue une étape essentielle de la vie de la méthode, car non seulement elle permet de répondre aux exigences réglementaires, mais elle permet également à l'utilisateur d'évaluer la méthode et le risque statistique lié à son usage futur. Les travaux de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP), présentent une stratégie de validation globale basée sur le profil d'exactitude. Le guide de validation proposé par SFSTP présente quelques inconvénients, notamment, la nécessité d'avoir de bonnes connaissances en statistique. De plus, les méthodes bioanalytiques répondent à des exigences particulières définies par l'agence européenne des médicaments (EMA). La démarche proposée est donc très longue. Elle nécessite le calcul de plusieurs fonctions de réponse, l'alignement des observations, le calcul des prédictions inverses et enfin la détermination des critères de validation. C'est à cette problématique, qu'un projet de création d'un logiciel de validation des méthodes bioanalytiques, dénommé « iBVal », tente d'y répondre.

1. Présentation générale du logiciel

Importation des données
 L'importation des données peut se faire à partir d'un fichier Excel

Calcul des critères de performance
 Calcul de tous les critères de performance et établissement des profils d'exactitude et d'erreur

Exportation des résultats

Création/Édition d'une méthode

Nom du produit

Nombre de séries / répétitions

Données brutes
 Les données sont saisies directement sur l'application ou importées à partir d'un fichier Excel

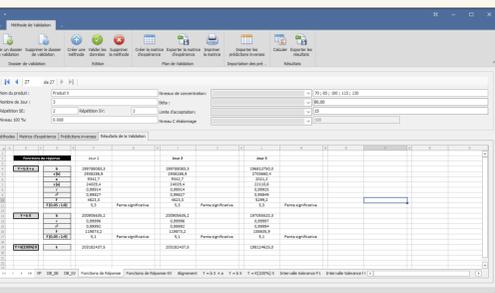
Les niveaux de concentration

Le risque bêta
 Bêta (β) est la proportion de mesures dans les limites d'acceptation.

Les limites d'acceptation
 La limite λ est la grandeur définissant les limites d'acceptation fixées a priori en fonction des contraintes du secteur d'activité et les exigences de l'analyste ou la finalité de la procédure analytique, laquelle est liée aux exigences communément admises par la pratique professionnelle (par exemple : 1 ou 2% sur des matières premières, 5% sur des spécialités pharmaceutiques, 15% en bioanalyse, environnement, etc.). Cette proportion représente donc le risque que l'analyste est prêt à prendre.

2. Principales fonctionnalités du logiciel

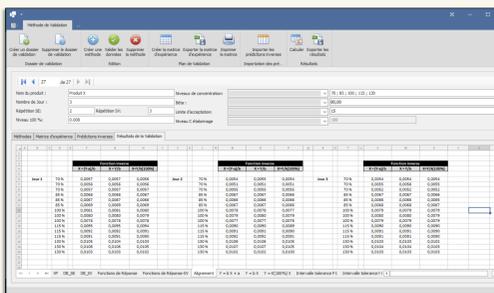
2.1. Ajustement des fonctions de réponse



Le logiciel permet de calculer trois fonctions de réponses ainsi que tous les paramètres statistiques permettent de les valider :

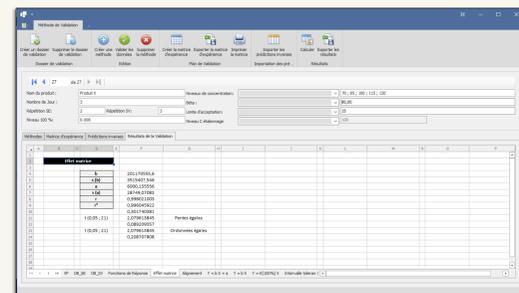
- Pente (b)
- Ordonnée à l'origine (a)
- Écart type de la pente (s_b)
- Écart type de l'ordonnée à l'origine (s_a)
- Coefficient de corrélation (r)
- Coefficient de détermination (r^2)
- Test de la pente ($F - p$ -value)

2.2. Alignement et calcul des prédictions inverses



Avant d'effectuer les prédictions inverses, c'est-à-dire calculer des concentrations en retour avec la fonction de réponse, l'algorithme du logiciel s'assure qu'au sein d'un niveau de concentration, les concentrations sont toutes identiques. Si ce n'est pas le cas, l'algorithme fait un alignement des résultats.

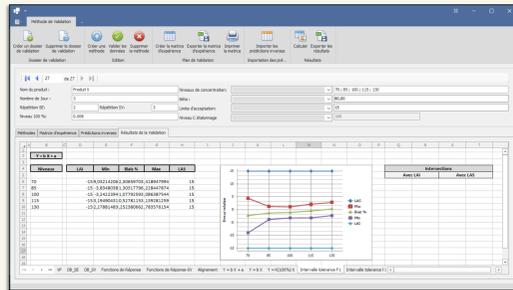
2.3. Evaluation de l'effet de la matrice



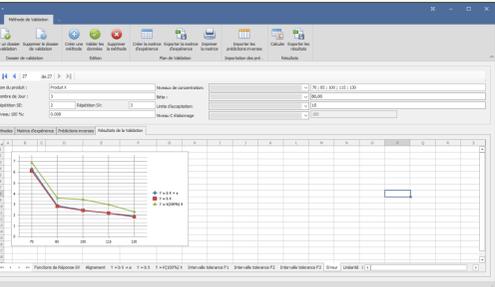
La matrice est l'ensemble des constituants de l'échantillon autres que l'analyte. Nombre d'interférences sont aussi dues à la présence d'autres constituants que celui qui est recherché dans l'échantillon : on parle alors d'effets de matrice. L'évaluation de l'effet de matrice se fait par la comparaison statistique des pentes et des ordonnées à l'origine des séries d'étalonnage et de validation, respectivement.

2.4. Établissement des profils d'exactitude

La méthode peut être considérée comme exacte au niveau de chance β pour le niveau de concentration en question, si l'intervalle de tolérance est inclus dans les limites $[-\lambda, \lambda]$ définies a priori en fonction des objectifs de la méthode [1].

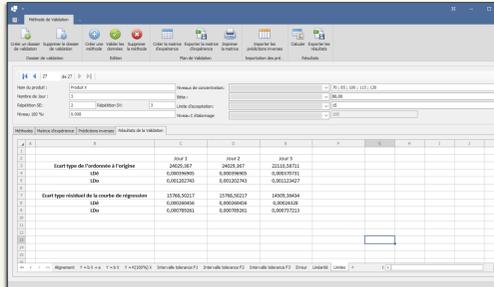


2.5. Établissement des profils d'erreur



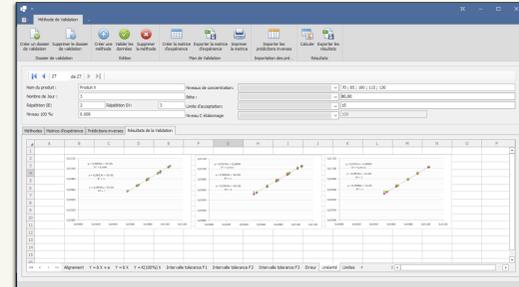
L'erreur totale d'une procédure analytique est donc bien un bon indicateur de l'exactitude des résultats qu'elle produit. Le graphique présente l'erreur totale observée avec chaque modèle et pour chaque niveau de concentration [2].

2.6. Calcul des limites de détection et de dosage



Le logiciel conçu permet l'évaluation des limites de détection et de dosage selon l'approche de l'ICH (Conférence internationale sur l'harmonisation) basée sur l'écart-type de la réponse et de la pente de la courbe d'étalonnage.

2.7. Vérification de la linéarité de la méthode



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 (ex : concentration) en analyte dans l'échantillon. L'exigence de linéarité s'applique aux résultats (concentration calculée = f (concentration introduite)), pas aux réponses (signal = f (concentration introduite)) [1].

Conclusion

La validation des méthodes analytiques a pour objectif de s'assurer que la méthode analytique donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse. Le guide de validation des méthodes d'analyse proposé par SFSTP constitue un document très complet sur l'application pratique de la stratégie de validation fondée sur le profil d'exactitude. Ce guide présente néanmoins quelques inconvénients, notamment, la nécessité de connaître les tests statistiques. En plus, la démarche proposée est très longue. Le logiciel développé (iBVal) produit automatiquement un rapport de validation spécifique à l'utilisateur. De cette manière, il peut épargner des heures voire des jours de travail pour le calcul des paramètres de validation. Cet outil permet de :

- Saisir facilement les données ou importer des fichiers Excel.
- Calculer et évaluer les fonctions de réponses.
- Calculer automatiquement tous les critères de validation.
- Tracer les profils d'exactitude et les profils d'erreur.
- Créer un rapport de validation.

Le présent travail constitue un premier pas pour une mise en œuvre facilitée et sûre de la validation des méthodes analytiques et bioanalytiques.

Références bibliographiques

1. Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives - Harmonisation des démarches. STP PHARMA PRATIQUES. 2003;13(3).
2. Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, N. Cohen, P.A. Compagnon, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives - Harmonisation des démarches - Partie II - Statistiques. STP PHARMA PRATIQUES. 2006;16(1).
3. Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques relatives à l'homologation des produits pharmaceutiques à usage humain. Texte concernant la validation des méthodes d'analyse. Ottawa: Programme des produits thérapeutiques, Santé Canada; 1998.
4. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency; 2011.