



Validation d'une méthode analytique

Master II Chimie Pharmaceutique

Responsable de Module: Dr. KEMEL Meriem

Introduction

La validation des procédures analytiques quantitatives est aujourd’hui largement répandue dans tous les domaines d’activité 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 fini et les essais de stabilité.





Le contrôle analytique des produits pharmaceutiques est indispensable pour garantir que le médicament en question restera sûr et efficace pendant toute la durée de validité proposée, c'est-à-dire pendant les phases de stockage, de distribution et d'utilisation. Ce contrôle doit autant que possible être effectué selon les normes élaborées et validés lors de la mise au point du produit.



Comme toute validation, la validation d'une méthode analytique est un outil de l'assurance qualité.

Elle permet de vérifier la conformité d'un processus par rapport à un référentiel

What is ICH?

"International Conference on
Harmonisation of Technical
Requirements for Registration
of Pharmaceuticals for
Human Use"



Référentiel



ICH
International Conference on Harmonisation

**Pharmacopées USP, EP
FDA
SFSTP**



KEMES

Définitions

- Selon la norme ISO/IEC/17025 :

VALIDATION :

« C'est la confirmation par examen et fourniture de preuves réelles que les exigences particulières d'un usage projeté donné sont remplies »



Définitions

- Selon les BPF Européennes Ed 2004

VALIDATION

Etablissement de la preuve en conformité avec les BPF que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, matériel, produit ou activité permet d'atteindre réellement les résultats escomptés



Définitions

Selon les BPF Européennes Ed 2004

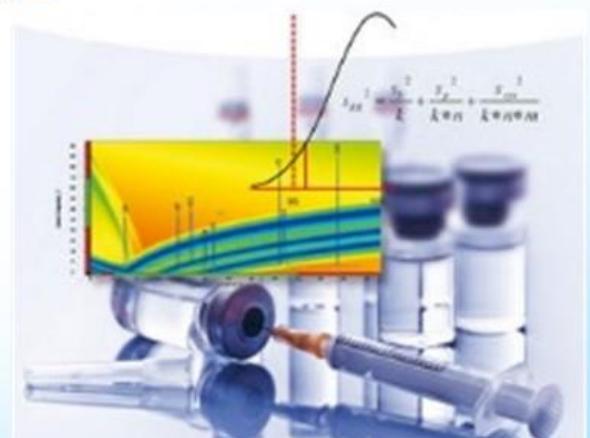
QUALIFICATION

Opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne normalement et donne les résultats attendus.



Le concept de validation est parfois élargi pour comprendre celui de qualification

Paramètres ou critères de validation



Classification des méthodes analytiques



M E T H O D E A N A L Y T I Q U E	USP		ICH
	Quantification d'un produit majeur		Identification TLC, IR, NMR
	Détermination des impuretés ou des produits de dégradation		
	Identification	Quantification CPG, HPLC UV, titrimétrie....	
REMEs		REMEs	

CRITERES DE VALIDATION (USP)

Paramètres	Catégorie I	Catégorie II		Catégorie III
	Dosage du PA	Dosage des Impuretés	Test limite, Impuretés	Identification
Exactitude	oui	oui	*	*
Fidélité	oui	oui	non	Oui
Spécificité	oui	oui	oui	*
Limite de détection	non	non	oui	*
Limite de quantification	non	oui	non	*
Linéarité	oui	oui	non	*
Zone de linéarité	oui	oui	*	*
Robustesse	oui	oui	oui	oui



CRITERES DE VALIDATION (ICH)

Méthode analytique				
Paramètres	Catégorie I	Catégorie II	Catégorie III	
	<i>Identification</i>	<i>Dosage des Impuretés</i>	<i>Test limite, Impuretés</i>	<i>Dosage du PA</i>
Exactitude	non	oui	non	oui
Fidélité Répétabilité Fidélité intermédiaire	Non Non	Oui oui	Non non	Oui oui
Spécificité	oui	oui	oui	oui
Limite de détection	non	non	oui	non
Limite de quantification	non	oui	non	non
Linéarité	non	oui	non	oui
Zone de linéarité	non	oui	non	oui

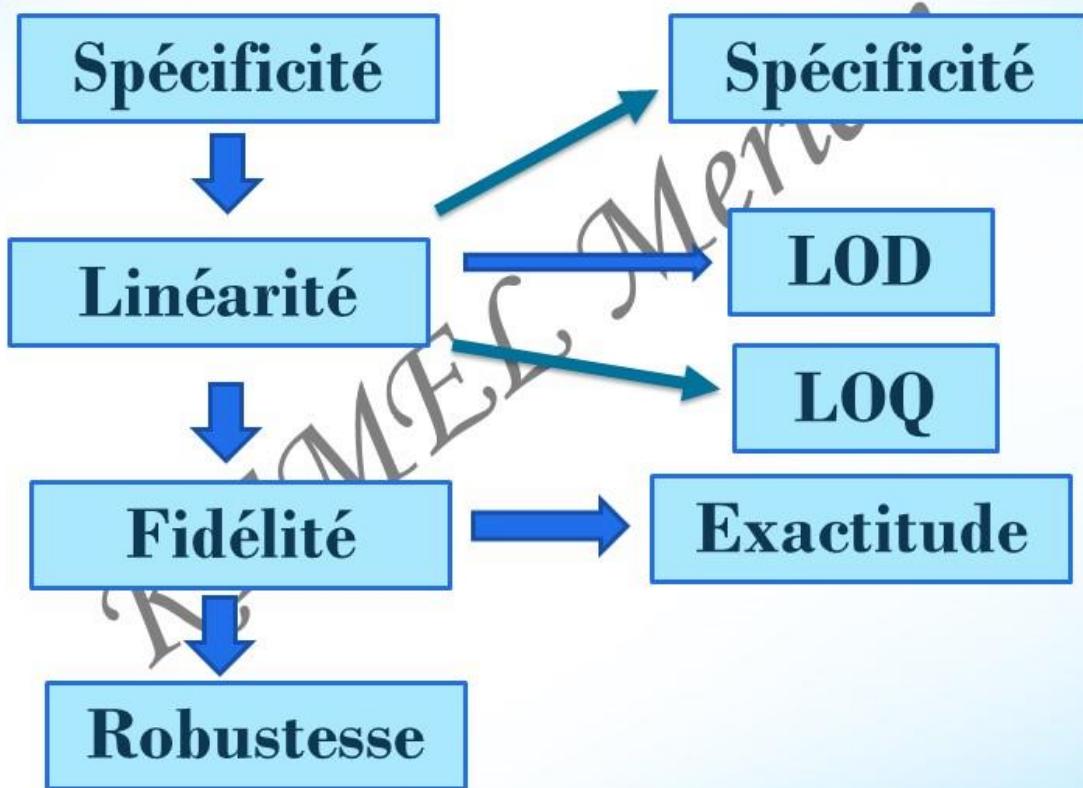
En résumé



Critère	Type d'analyse		
	Identification	Essai limite	Quantification
Spécificité	+	+	+
Linéarité	-	-	+
Répétabilité	-	-	+
Fidélité intermédiaire	-	-	+
Exactitude	-	+	+
Limite de quantification	-	+	+
Robustesse	+	-	+

Ordre dans la détermination des critères de validation





Validation d'une Méthode Chromatographique





*C'est quoi la validation
et quels sont ses
critères??!!*

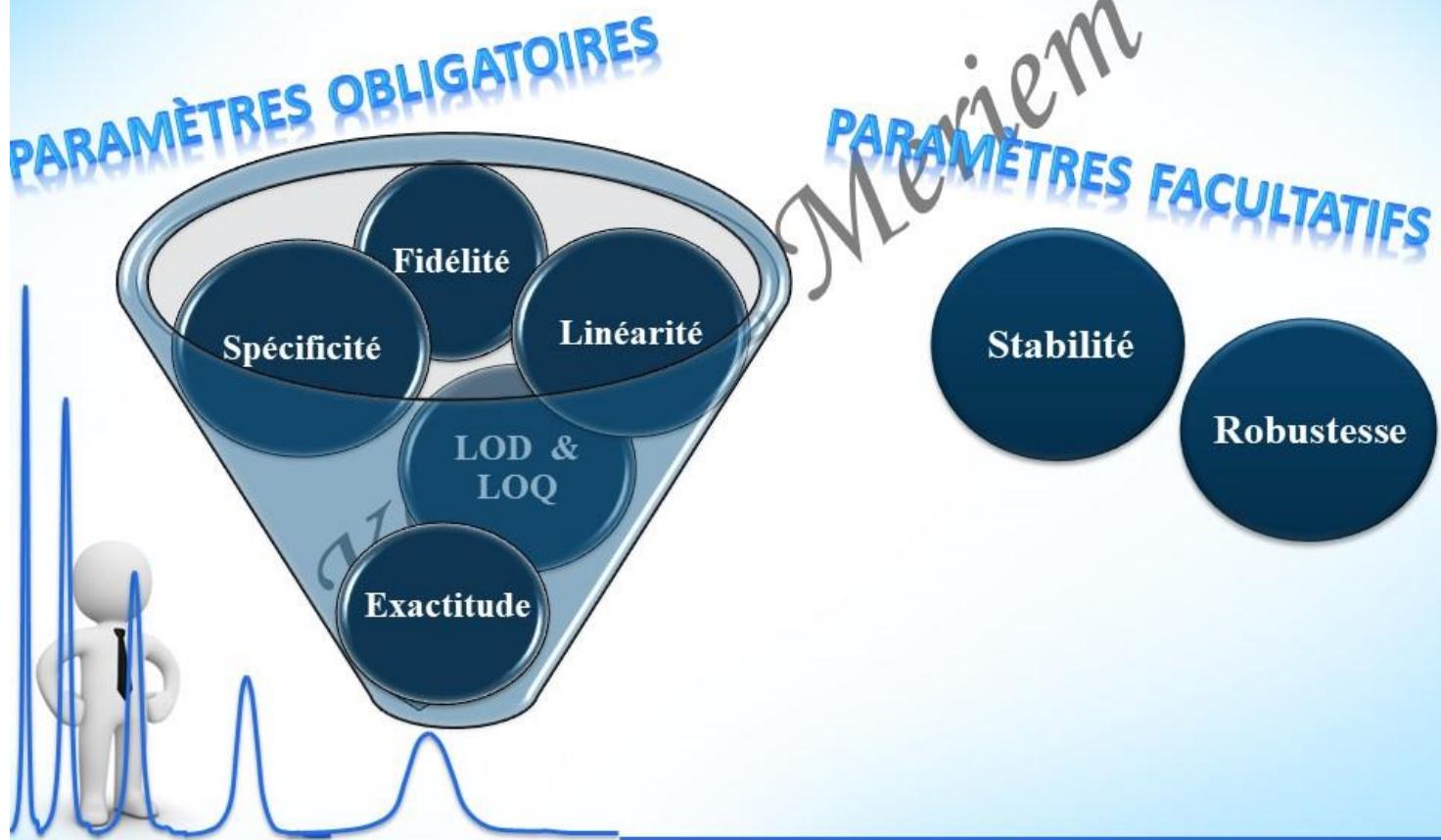
KEMEI Meriem

La validation d'une méthode d'analyse est une procédure permettant d'apporter des preuves que la méthode est adaptée à ces objectifs. Son objectif est de démontrer les performances de la procédure de dosage et de prouver que les résultats obtenus sont fiables et ceci dans des limites bien définies.





Les critères de la validation



Spécificité

Capacité d'une méthode analytique à mesurer un analyte particulier sans que cette mesure ne soit faussée par d'autres composants de l'échantillon.

La spécificité mesure le degré d'interférences entre un principe actif et d'autres composants présents dans l'échantillon (excipients, produits de dégradation...)



Spécificité

Pour vérifier qu'il n'y a pas interférence des excipients :

- Vérifier l'absence de réponse liée aux excipients
- Faire une linéarité avec des étalons surchargés en excipients et la comparer à celle réalisée avec les étalons seuls



Linéarité

Capacité d'une méthode analytique à générer des résultats de mesure dont la dépendance par rapport à la concentration ou à la quantité de l'analyte peut être décrite par une équation de droite (régression linéaire)



Linéarité

Possibilité qu'offre une méthode pour obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration de la substance à analyser dans un domaine de concentrations (range) déterminé.



Linéarité: cinq niveaux de concentration (40% à 120%), trois-cinq essais par niveau

Linéarité

linéarité, on détermine

l'ordonnée à l'origine et la pente,

le coefficient de régression R^2

l'existence d'une pente significative, la compatibilité de l'origine avec la valeur zéro



Linéarité

on détermine ensuite :

$$\text{Biais} = 100 \cdot (y - b) / ax$$

Et le biais moyen Bi

Si Bi est compris entre 95 et 105 %

On a le droit d'utiliser une solution étalon pour faire le dosage



Domaine de linéarité

Dosage d'un principe actif ou d'une forme pharmaceutique

de 80 à 120 % de la concentration à tester.

teneur en impureté individuelle :

du seuil de quantification ou de 50 % de la spécification de la teneur en chaque impureté, (si cette valeur est supérieure) à 120 % de la spécification.



Domaine de linéarité

test d'uniformité de teneur (content uniformity),

il est justifié de couvrir un minimum de 70 % à 130% de la concentration.

test de dissolution,

± 20 % au-delà de l'intervalle spécifié,



Fidélité

L'ICH définit 3 niveaux de fidélité d'une méthode

<i>Répétabilité</i>	<i>Fidélité intermédiaire</i>	<i>Reproductibilité</i>
= statistiques sur des résultats obtenus dans un intervalle de temps court dans les mêmes conditions.	= statistiques sur des résultats du labo en fonction des jours, de l'équipement, du manipulateur	= statistiques sur des résultats se référant des études de différents laboratoires



Fidélité

répétabilité

répétition du traitement d'une même solution, le même jour, par le même opérateur avec le même système = **fidélité dans des conditions identiques**

Fidélité intermédiaire



deux opérateurs, deux séries sur deux jours différents par opérateur, avec éventuellement deux matériels différents = **fidélité dans des conditions différentes**

Exactitude – Justesse

Dans l'analyse d'une substance, la mesure de l'exactitude est obtenue par comparaison des résultats obtenus avec la méthode analytique avec ceux correspondants à la substance de référence ou par comparaison avec les résultats d'une seconde méthode validée.



L'ICH exige le traitement statistique d'un minimum de 9 déterminations de 3 concentrations différentes situées dans le domaine de linéarité considéré.

les données sont issues de la fidélité

Exactitude – Justesse

on détermine :

- Moyenne Yo de tous les résultats de la fidélité
- le pourcentage de récupération PR

PR = 100.Yo/valeur de référence

-les limites inférieure et supérieure de PR en fonction du nombre de degrés de libertés.



- Vérifier que le PR est compris dans les valeurs prévues

Limite de détection Limite de quantification

	LOD	LOQ
Définition	Plus petite concentration détectée mais non quantifiée. Correspond généralement à un signal/bruit = 2 ou 3	Plus petite concentration pouvant être déterminée avec une précision et une exactitude (accuracy) acceptables Un signal/bruit = 10 est utilisé pour avoir la LOQ
Importance analytique	-	+



Compléments de validation



Caractères d'usage

	Rigidité	Robustesse
Définition	degré de reproductibilité des résultats obtenus dans différentes conditions (différents laboratoires, analystes, instruments, réactifs, jours etc..)	Capacité de la méthode d'être inaffectée par des petites variations délibérées des paramètres (pH, force ionique, température, etc.)
ICH	Part de la précision	N'est pas considérée précocément dans le développement d'une méthode

Rigidité Robustesse

variations inter-laboratoires

variations intra-laboratoire

Ex : En HPLC, il faut rechercher l'influence de petite variations du pH, constitution de la phase mobile, température de la colonne, volume injecté, débit...



Stabilité des solutions

Permet d'estimer la validité des solutions étalons

- Injecter les solutions ayant servi à la détermination de la linéarité à des jours différents

- La stabilité est obtenue en faisant le rapport résultat moyen du temps t

$$R = \frac{\text{résultat moyen du temps t}}{\text{résultat moyen du temps t}_0}$$

Normes : R doit être supérieur à **98%**



4 étapes distinctes dans la validation

1- Software validation

2- Instrument qualification

3- Validation Method

4- System suitability



HPLC : Paramètres de Suitabilité

Paramètre	Recommandation
<i>Facteur de capacité</i>	> 2.0
<i>Résolution</i>	> 2 entre le pic du principe actif et l'interférence potentielle
<i>Facteur de trainée T</i>	$T_f \leq 2$
<i>Nombre de plateaux théoriques (N)</i>	> 2000



Renseignements complémentaires

- **Méthode transférée** = méthode validée transférée d'un site vers un autre
- **Méthode aménagée** = méthode ayant subit une modification mineure
Ex : modification du débit
- **Méthode modifiée** = méthode ayant subit une modification majeure
Ex : modification de la nature de la colonne

Références

- 1- Guideline for submitting samples and analytical data for methods validation. Food and Drug Administration, February 1987. US Government Printing Office:1990-281-794:20818.
- 2- U.S. Pharmacopeia 23, pp. 1982-1984,
- 3- International Conference on Harmonization. Draft guideline on validation of analytical procedures; definitions and terminology. Federal Register, Vol. 60, pp. 11260, March 1, 1995.
- 4-Maxwell, W. and Sweeney, J., Applying the validation timeline to HPLC system validation., LC/GC, Volume 12(9), September 1994, pg. 678-82.