



FICHES METHODES AQUAREF LABORATOIRES ET VALIDATION DE METHODE

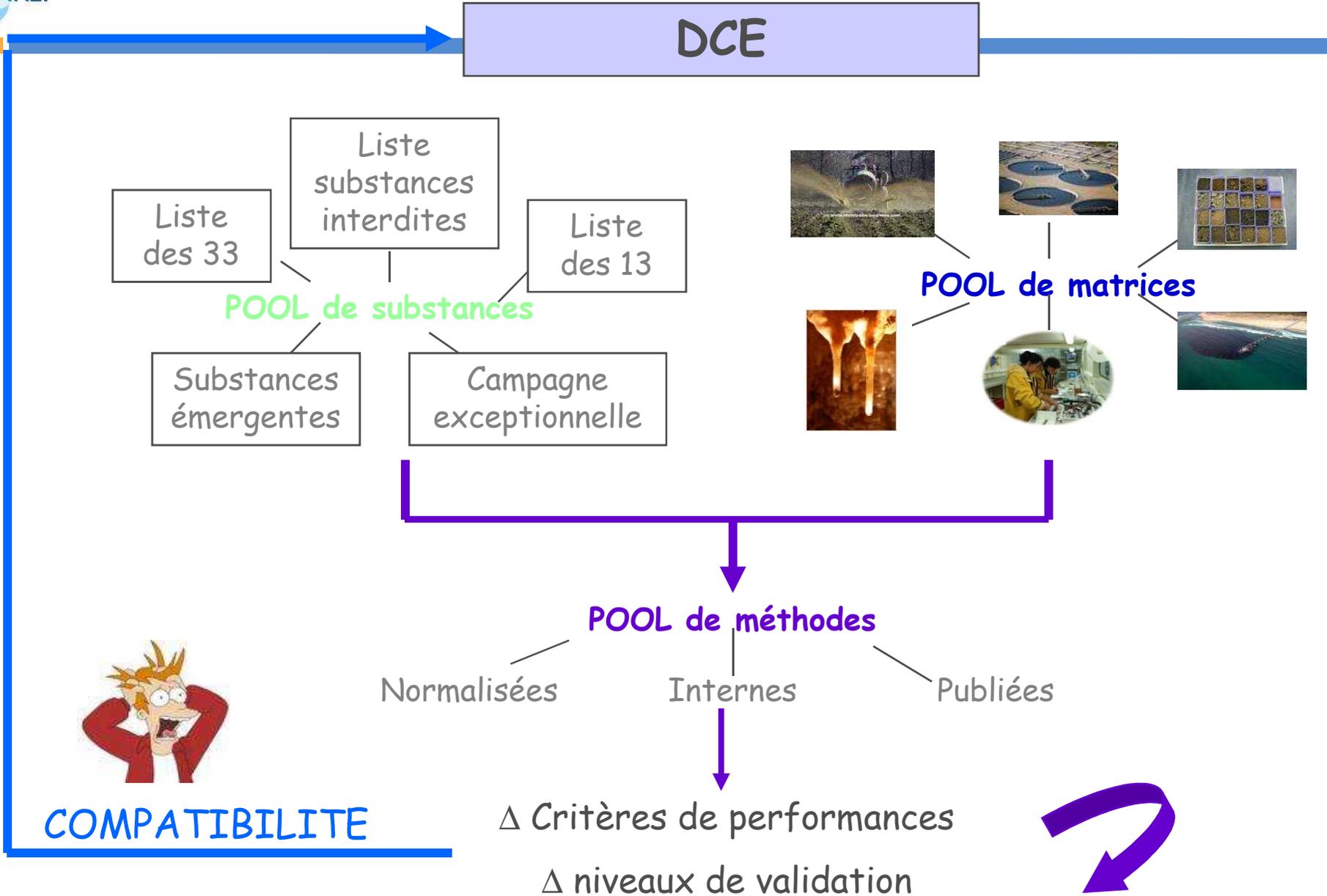
Travaux en cours AQUAREF et discussion sur les Perspectives et Interactions avec les laboratoires



Sophie LARDY-FONTAN, DMSI-LNE



SEMINAIRE TECHNIQUE, Le 22/10/2009



COMPATIBILITE

Qualité et comparabilité des mesures

Consortium AQUAREF

1/ mettre à disposition des méthodes validées comme « modèles-exemple »

Comment les hiérarchiser/
indice de validation ??

2/ CHOIX DES NIVEAUX DE VALIDATION NORMAN

POURQUOI ce choix ?

- simplicité;
- compatible avec la norme **NF T 90-210**
- processus d'adoption au CEN pour devenir la référence européenne

Les NIVEAUX de VALIDATION NORMAN

+ Niveau de validation, maturité -

Méthode à un stade recherche
 - validation interne incomplète
 - non applicable à l'organisme, le milieu ou la matrice d'intérêt



Méthode utilisable par un laboratoire de recherche
 - validation intra laboratoire complète



Méthode utilisable par des laboratoires "experts"
 - transférabilité de la méthode vers des laboratoires à "haute compétence"



Méthode utilisable par des laboratoires de routine
 - validation externe détaillée



Normalisation
 CEN

Niv.1

Niv.2

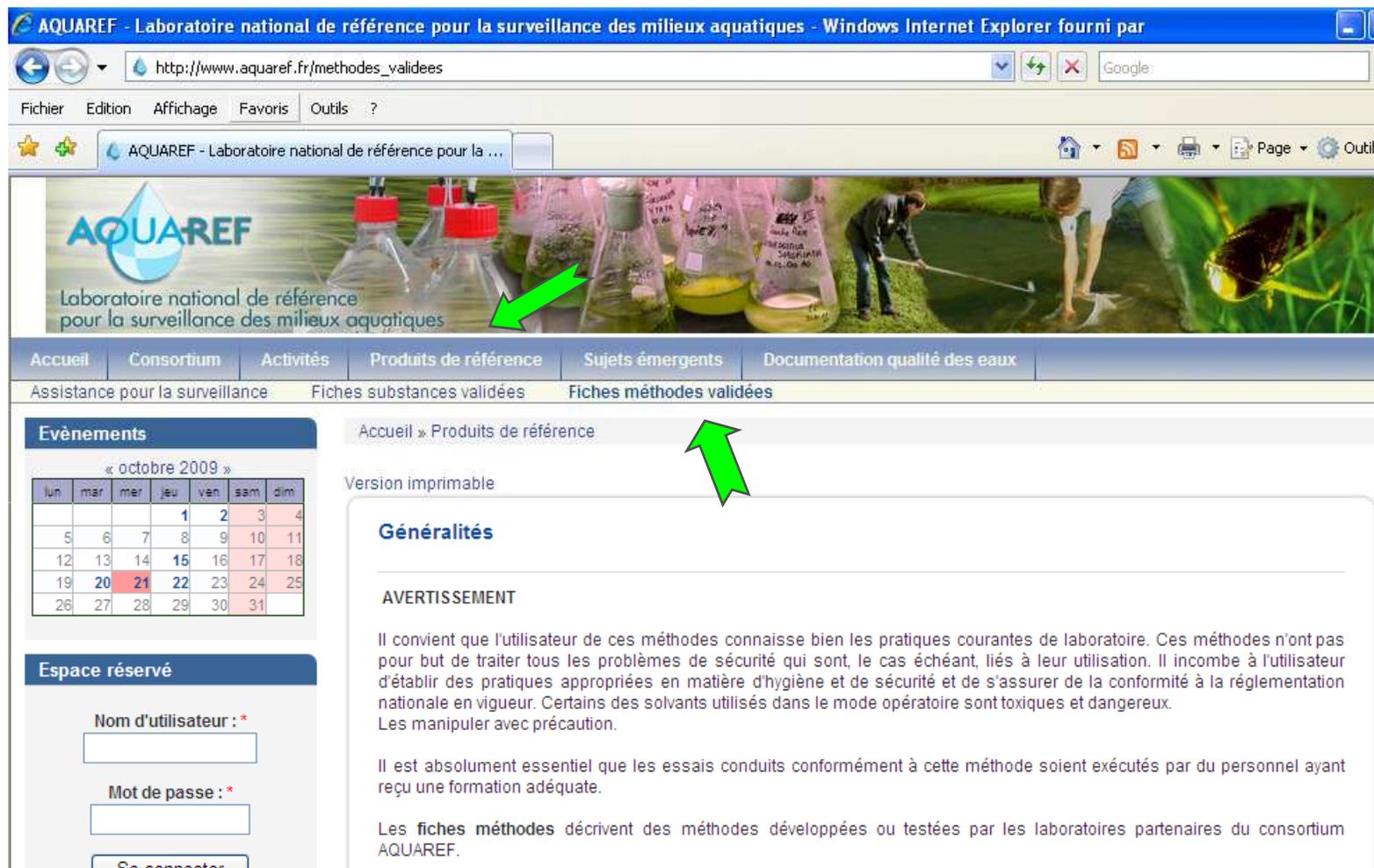
Niv.3

MODULE		VALIDATION		
A	Conditions opératoires : description exhaustive (principe physique, réactions mises en jeu, appareillage, réactifs, protocole, traitement des données, sécurité associée...)	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
B	Domaine d'application (matrices, plages de concentrations, interférences, ...)			
C	Performances intra-laboratoire (exactitude, justesse, sélectivité, paramètres d'ambiance ayant une influence, ...) dans le laboratoire développeur.			
D	Robustesse au transfert : les éléments disponibles à l'issue des modules A, B et C permettent-ils à un ou plusieurs autres laboratoires ayant le même niveau d'expertise d'obtenir des résultats concordants ?			
E	Application en routine : la robustesse d'un protocole de routine doit être supérieure à celle nécessaire pour un transfert entre laboratoires experts. L'outil principal qui permette de l'évaluer est une comparaison inter-laboratoires impliquant l'analyse de matériaux représentatifs par tous les laboratoires participants. Cette comparaison permet en outre d'établir les performances de la méthode, en particulier sa reproductibilité			

Liens utiles

http://www.aquaref.fr/methodes_validees

http://www.norman-network.net/index_php.php?module=public/qa_qc/validation&menu2=public/qa_qc/qa_qc



AQUAREF
Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques

Accueil Consortium Activités Produits de référence Sujets émergents Documentation qualité des eaux

Assistance pour la surveillance Fiches substances validées **Fiches méthodes validées**

« octobre 2009 »

lun	mar	mer	jeu	ven	sam	dim
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	

Espace réservé

Nom d'utilisateur : *

Mot de passe : *

Se connecter

Accueil » Produits de référence

Version imprimable

Généralités

AVERTISSEMENT

Il convient que l'utilisateur de ces méthodes connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Ces méthodes n'ont pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à leur utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

Les **fiches méthodes** décrivent des méthodes développées ou testées par les laboratoires partenaires du consortium AQUAREF.

Analytes	Listes DCE	Matrices	Niveau de validation NORMAN	UE (2008)	DCE compatibles	
Glyphosate+AMPA	liste des 13	Eaux	1	-	X	Dissous
Hg	Annexe X	Biote	3	20 µg/kg (poids frais)	✓	
Métaux	Annexe X	Sédiments, Boues. Biote	2		✓	
PBDE	Annexe X	Eaux	1	Somme = 0,5 ng/L	X	LQ > 1/3 NQE
PBDE	Annexe X	Sédiments	1	6 µg/kg pentaBDE	✓	
PBDE	Annexe X	Biote	1	-		
Chloroalcanes	Annexe X	Eaux	1	0,4 µg/L	✓	
Hormones estrogéniques	Sub. Émergentes	Eaux	2	-	X	Dissous
Substances pharmaceutiques	Sub. Émergentes	Eaux	1	-	X	Dissous

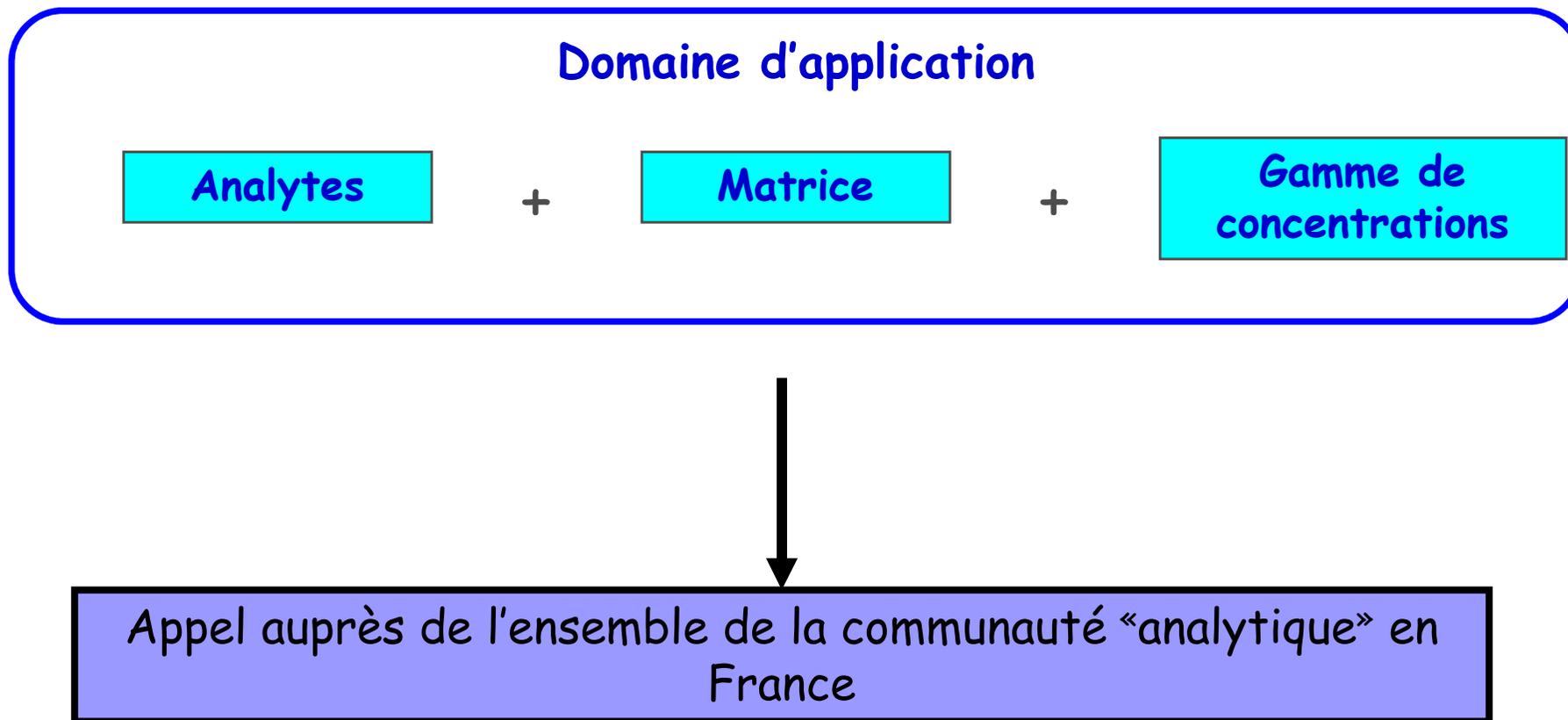
- Harmoniser les domaines d'application : matrice_analyte_concentration
- Harmoniser les méthodes de calcul des limites de quantification, calcul des rendements
- Évaluer la DCE compatibilité des méthodes qui ne sont pas encore DCE compatibles
⇒ Quid des MES pour les substances organiques
- Valider les méthodes par les calculs d'incertitudes (exigences niveau 1 NORMAN, QA/QC)

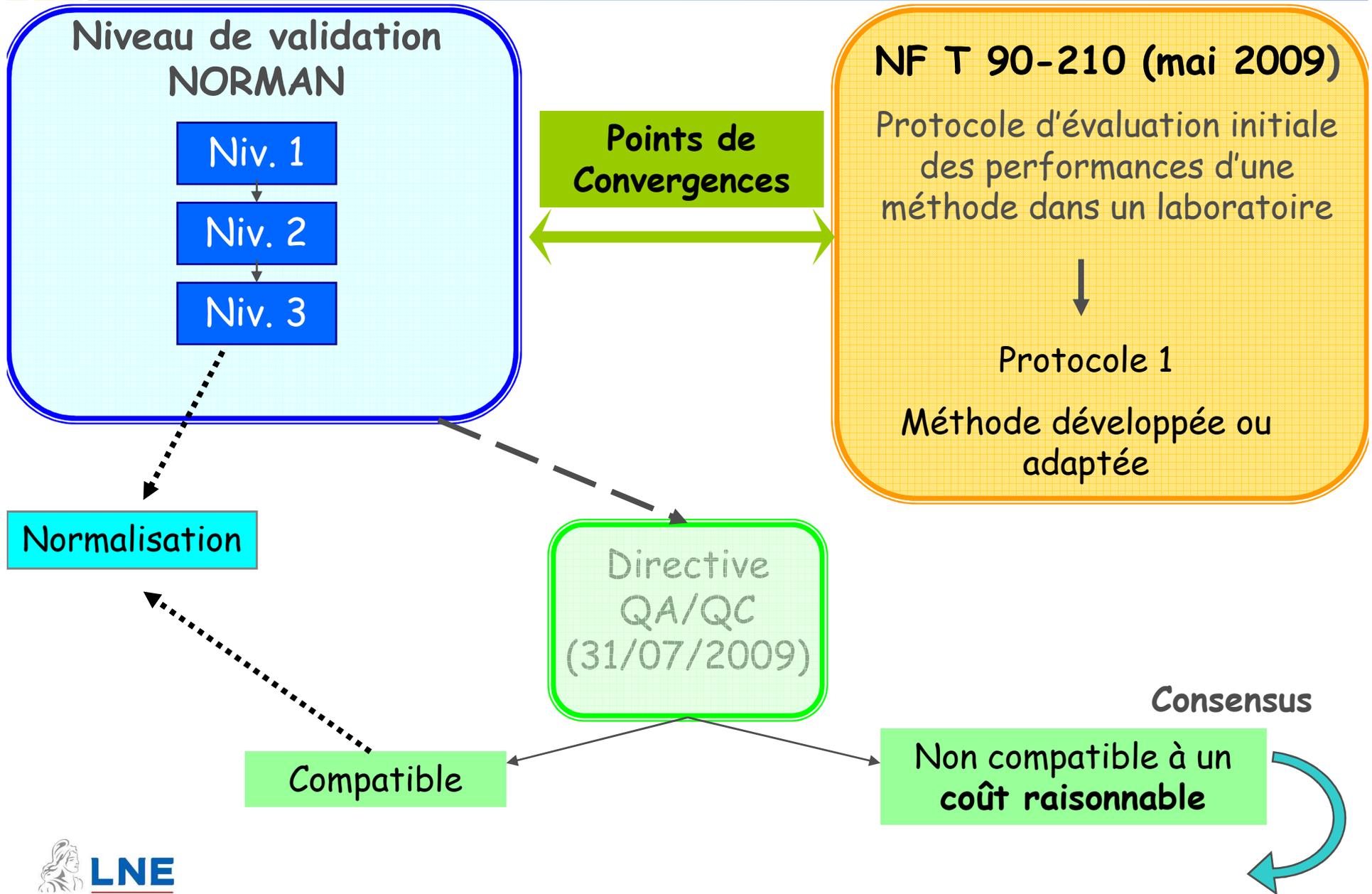


➤ Enrichir la base de données :

- 16 fiches méthodes en projet/en cours d'ici fin 2009-début

2010





VALIDATION 1 NORMAN

NF T90-210 (2009)

Validation intra laboratoire complète

Module C	
C-1 Justesse et biais	Description de l'approche de vérification et fournir les résultats
C-2 Précision	Description de l'approche de vérification et fournir les résultats (répétabilité, reproductibilité)
C-3 Etalonnage	Type d'étalonnage, Substances utilisées, Données et fonction de calibration, Stabilité de la calibration
C-4 Traçabilité	Traçabilité au SI ? si oui renseigner ; si non préciser
C-5 Limites de la gamme d'application	Limites basses et hautes d'applicabilité ; LOQ, LOD
C-6 Sélectivité, spécificité, interférences	Vérification des interférences, etc..
C-7 Robustesse	Vérifiée si oui comment quels sont les paramètres discriminants et préciser leur nature (quantitatif, semi quantitatif, qualitatif)
C-8 Incertitudes de mesure	Comment ont elles été déterminées, quelle approche a été utilisée, facteur d'élargissement, résultats
C-9 Evaluation finale	Est ce que tous les besoins définis dans A-1 sont atteints ?

3- Rendements

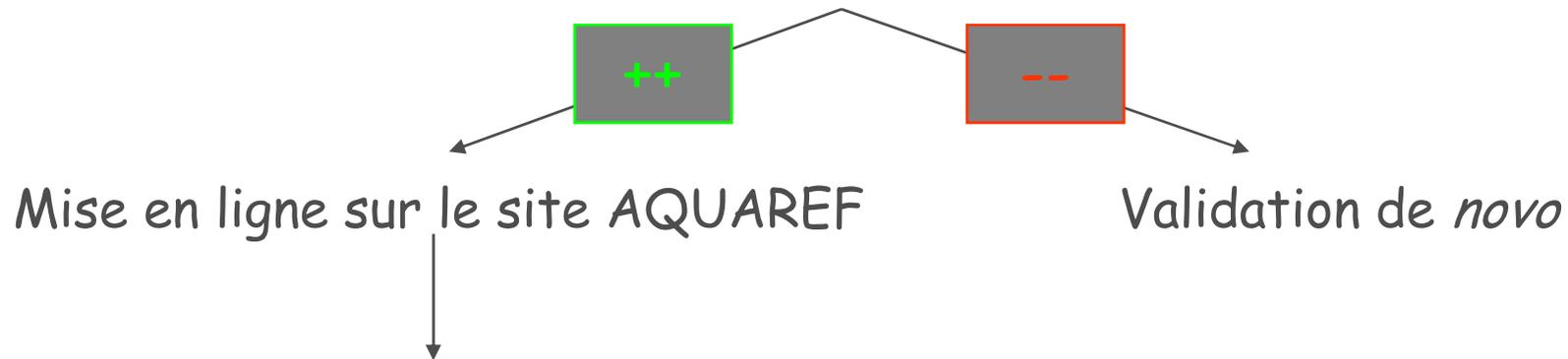
5-Exactitude

1-Fonction d'Etalonnage

2-Limite de quantification

4- Interférents spécifiques et non spécifiques

- Évaluation des méthodes par un groupe «expert» AQUAREF + autres ?? pour éligibilité à un niveau de validation 1 NORMAN

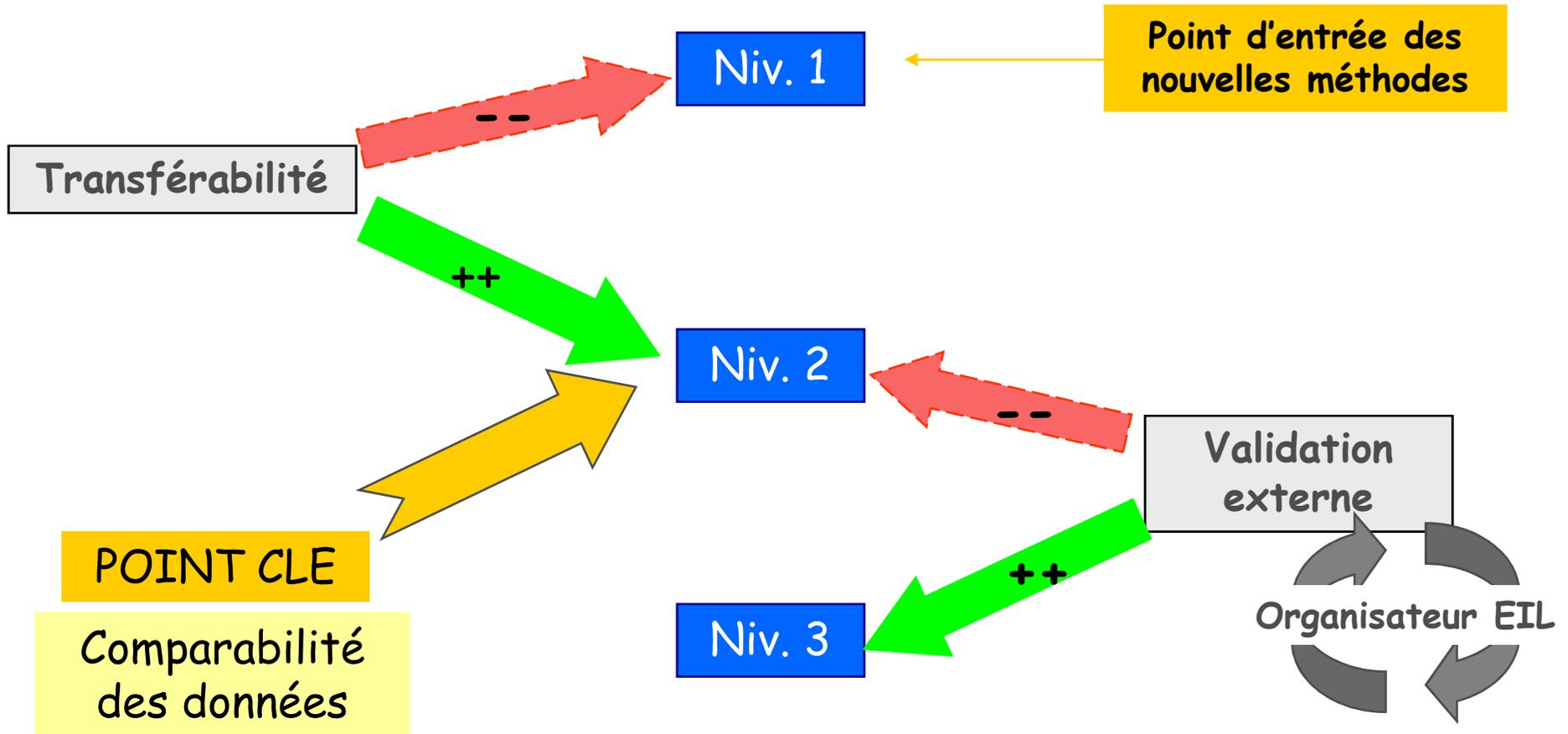


Cela implique un engagement de faire vivre et évoluer la méthode afin qu'elle demeure DCE compatible.

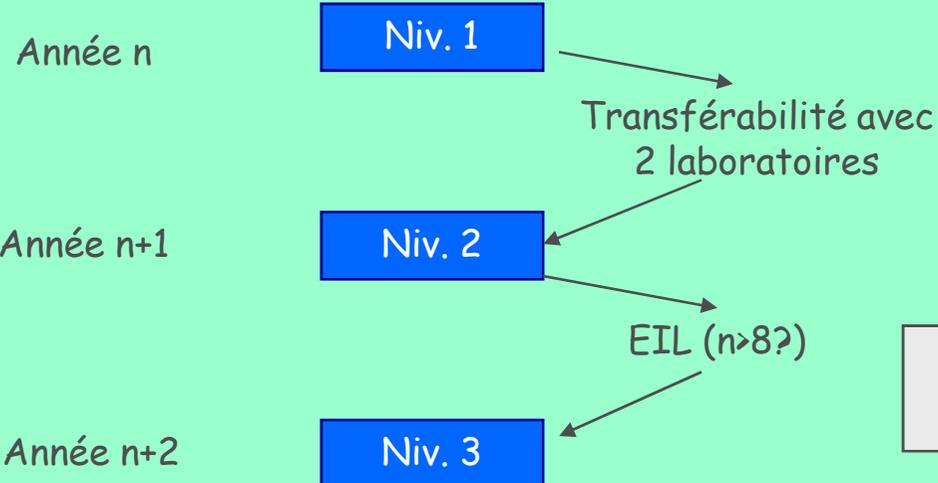
BASE DE DONNEES AQUAREF = ACTUALISEE

3/ Définir les méthodes sur lesquelles focalisées les actions de progression dans les niveaux de validation Norman

Niveaux de validation NORMAN



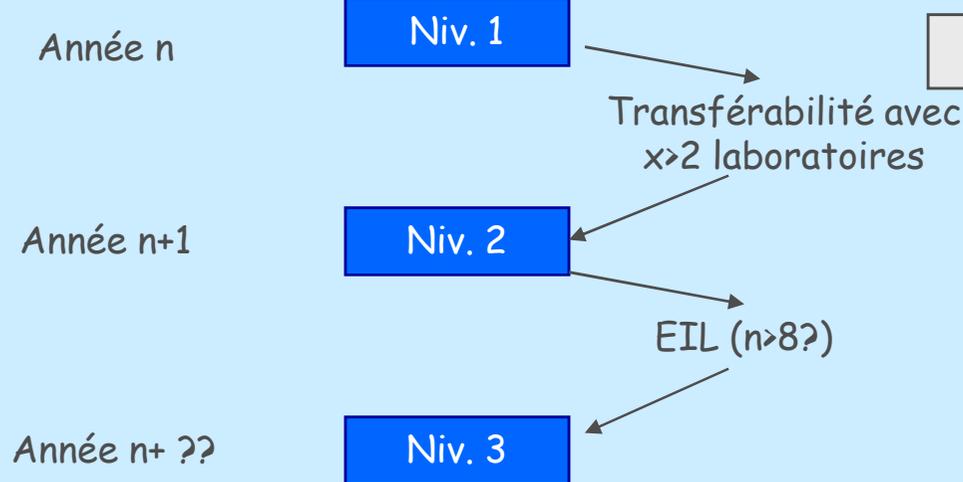
Scénario 1



Définition de transférabilité

Définition des laboratoires experts

Scénario 2



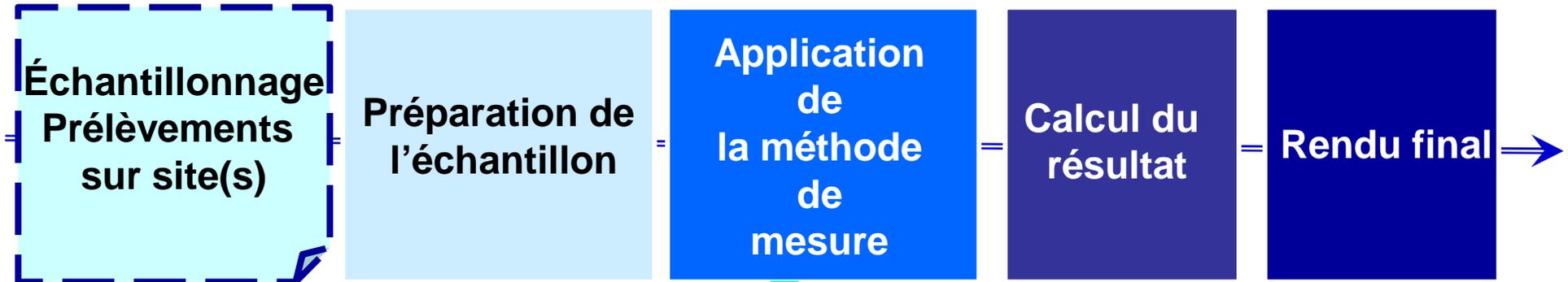
Coût

Merci pour votre attention

Et vos réactions.....

Problématique du contrôle des blancs par les laboratoires

Le processus de mesure

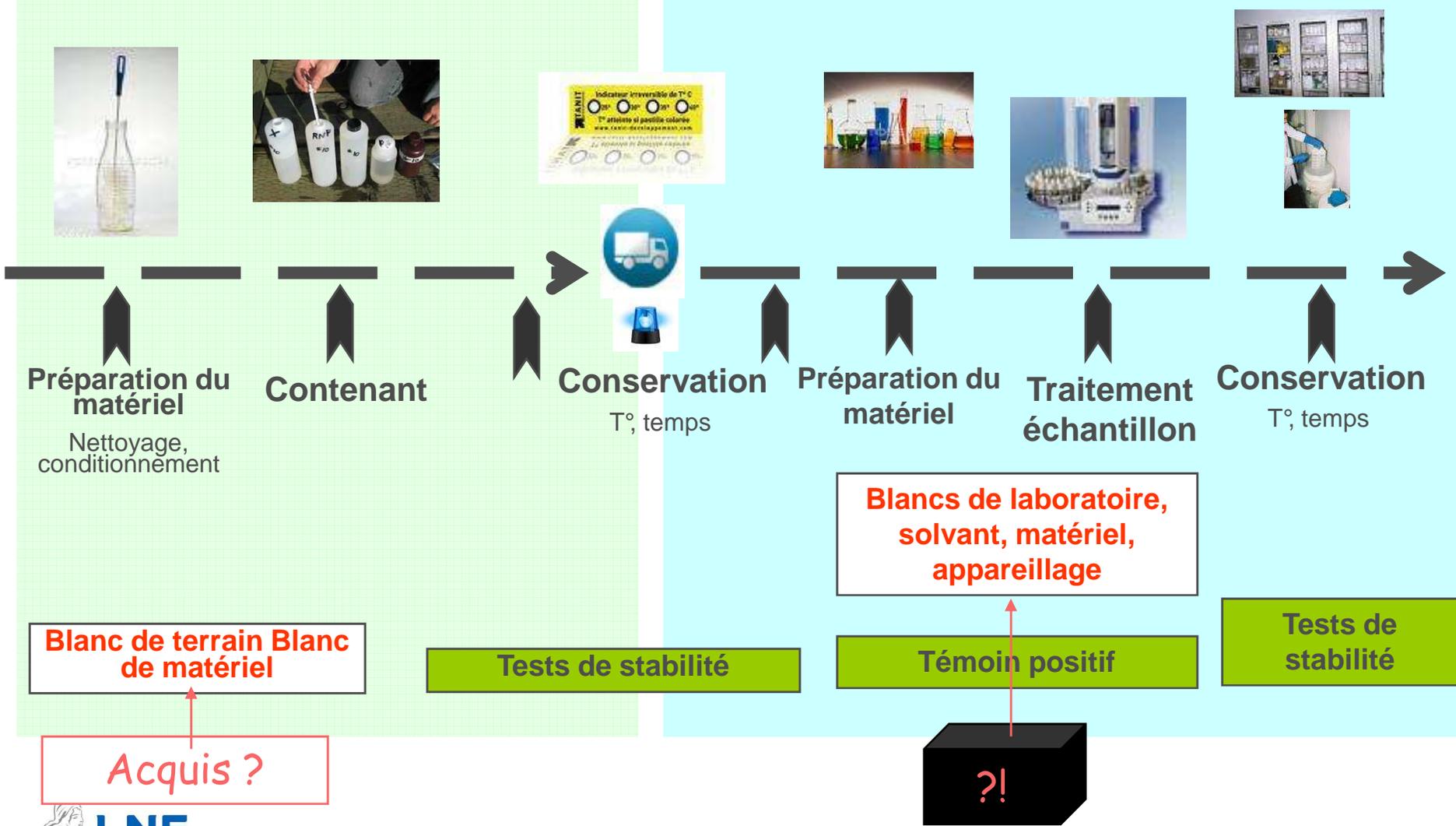


Qualité de la donnée de mesure

Qu'elle soit qualitative, semi-quantitative ou quantitative

Echantillonnage

Procédure d'Analyse de l'échantillon



Les laboratoires : des espaces sous contrôle ??



Environnement

Opérateurs qualifiés



Est-on vraiment capable de tout maîtriser ?

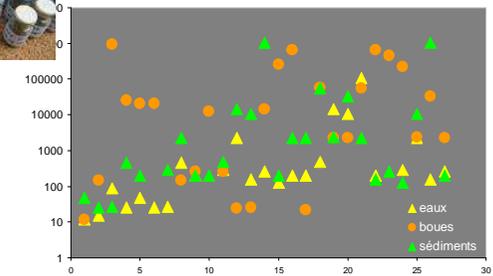


QA/QC

Echantillons



Consommables



Ce que disent les normes...

ISO 15680:2003(F) Dosage par chromatographie en phase gazeuse d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques monocycliques, du naphthalène et de divers composés chlorés par dégazage, piégeage et désorption thermique

Traiter les blancs (blanc méthode) de la même manière que les échantillons. Il est **recommandé** d'effectuer au moins un dosage à blanc avant d'analyser les échantillons réels de façon à juger de la performance du mode opératoire complet du point de vue de la contamination. Il est **recommandé** que le blanc ne dépasse pas 10 % de la solution d'étalonnage la plus faible ou du niveau considéré le plus faible.

NF EN ISO 22032 Dosage d'une sélection d'éthers diphényles polybromés dans des sédiments et des boues d'épuration

Il convient que la concentration de PBDE dans le blanc soit négligeable, en comparaison des concentrations de PBDE à déterminer.

ISO 21458:2008(F) Dosage du glyphosate et de l'AMPA

Le matériel ou les composés susceptibles d'entrer en contact avec l'échantillon doivent être exempts de tout résidu qui pourrait provoquer une interférence inacceptable dans les blancs.

Dans le cadre du contrôle qualité du mode opératoire d'analyse, déterminer la contribution des réactifs et du matériau en analysant une quantité équivalente d'eau (5.1) de la même façon que l'échantillon. En cas de présence de pics interférents dans la solution à blanc (généralement plus de 10 % de la valeur mesurée la plus basse), rechercher systématiquement les sources de contamination afin d'être en mesure de les éliminer.

NF EN ISO 18857-1 Dosage d'alkylphénols sélectionnés

Utiliser des réactifs dans lesquels les concentrations en alkylphénols recherchés sont **négligeables** par rapport à la concentration à déterminer, et procéder à des vérifications en réalisant des essais à blanc.

Or domaine d'application de la méthode compris entre 0,02 $\mu\text{g/L}$ et 0,2 $\mu\text{g/L}$ pour le nonylphénol (4-NP)

..., l'influence du blanc augmente à mesure que les concentrations diminuent.

ISO/TR 13530:1997(F) Guide de contrôle qualité analytique pour l'analyse de l'eau

Dans tous les cas, il est **recommandé** d'inclure au moins un blanc analytique par série, comme étant l'une des solutions analysées, pour permettre l'étalonnage.

Il est **recommandé** si nécessaire que ces résultats soient soumis à une correction de blanc en utilisant le blanc analytique qui correspond à la série concernée.

Concernant les démarches de contrôle qualité «blancs»,

Normes



Recommandations

Synonymes: conseils, préconisations



Liberté d'interprétation et d'action

La problématique du contrôle des blancs de laboratoire : une réalité ?

Quelques éléments

État des lieux des pratiques des laboratoires impliqués dans l'analyse des substances dangereuses pour le milieu aquatique R. NGUYEN, N.HOUEIX B.LEPOT (INERIS) (2006)

- ✓ 52,6 % à 55,6 % (selon la famille d'analytes) des laboratoires mettent en oeuvre un blanc méthode (extraction+ analyse)
- ✓ 16,6 % à 36,8 % réalisent un blanc réactif (selon la famille), en l'absence de matrice.
- ✓ Les critères d'acceptation sur les blancs d'analyse sont fixés dans :
 - 80 % par les laboratoires eux-mêmes
 - 5,6 % à 15 % (selon la famille) par les normes
- ✓ Les seules réponses au critère d'acceptabilité de la valeur du blanc sont :
 - inférieur à la limite de détection ou blanc
 - inférieur à la limite de quantification.
- ✓ Les actions mises en oeuvre au sein des laboratoires en cas d'écart sur le blanc d'analyse sont par ordre de priorité :
 1. le blanc d'analyse est ré-analysé (42 % à 60 % selon la famille)
 2. le blanc d'analyse est re-préparé puis ré-analysé (19 % et 42,1 % selon la famille).
Quelle est sa représentativité ??
 3. les résultats sont corrigés de la valeur du blanc d'analyse (10,5 % à 15 % selon la famille)
 4. les résultats ne sont pas corrigés de la valeur du blanc et la valeur du blanc n'est pas fournie au client (5 %). Toutefois, le laboratoire stipule que si la valeur du blanc est trop élevée, l'analyse est refaite.

Progrès obtenus suite à l'intégration de nouvelles exigences lors de l'essai inter-laboratoires 2008 et actions à poursuivre... B.LEPOT N.HOUEIX (INERIS) (2009) Note de synthèse

Les biais identifiés au cours de l'EIL 2008 sont :

liés à la contamination des réactifs, de la verrerie de laboratoire (biais détecté à l'aide du blanc pour 37 % des laboratoires pour les 4 substances HAP de faible poids moléculaire et pour 9,5 % des laboratoires pour certains chlorophénols),

Quelques idées reçues

POLARITE

Composés perfluorés... → Lepom, B. et al. (2009); Jahnke et al. (2009)

Alkylphénols → Loos et al. (2007); Lardy-Fontan. (2008); Stottmeister et al. (2009)

Stéroïdes : Progestérone → Vanderford et al. (2003)

Substances pharmaceutiques → Budzinski et al. (communication personnelle)



Le problème des blancs ne repose pas uniquement sur les caractéristiques physico-chimiques des molécules ciblées mais plutôt sur les exigences de l'analyse ultra-traces

Concernant les phtalates

Consensus sur «l'impossibilité » de quantifier le DEHP dans les matrices aqueuses et pourtant :

- les laboratoires allemands ont mis en place des procédures spécifiques
- publication de Dargnat et al. (2009) qui rapportent des bruits de fond \lt LOD.

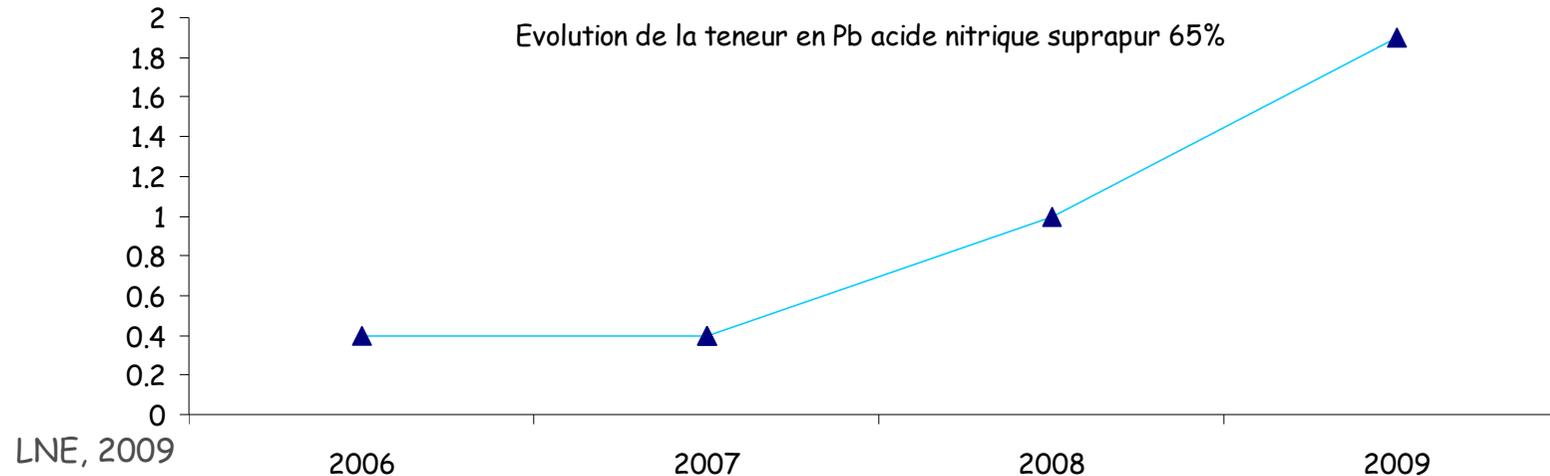
Hétérogénéité des procédures \longrightarrow Hétérogénéité des capacités analytiques



Bonnes ou meilleures pratiques ??

Quelques idées reçus

Des consommables de haute pureté permettent de «s'affranchir» de ces problèmes ??



➔ d'un facteur 5 en 3 ans bien que répondant toujours aux critères énoncés sur le certificat

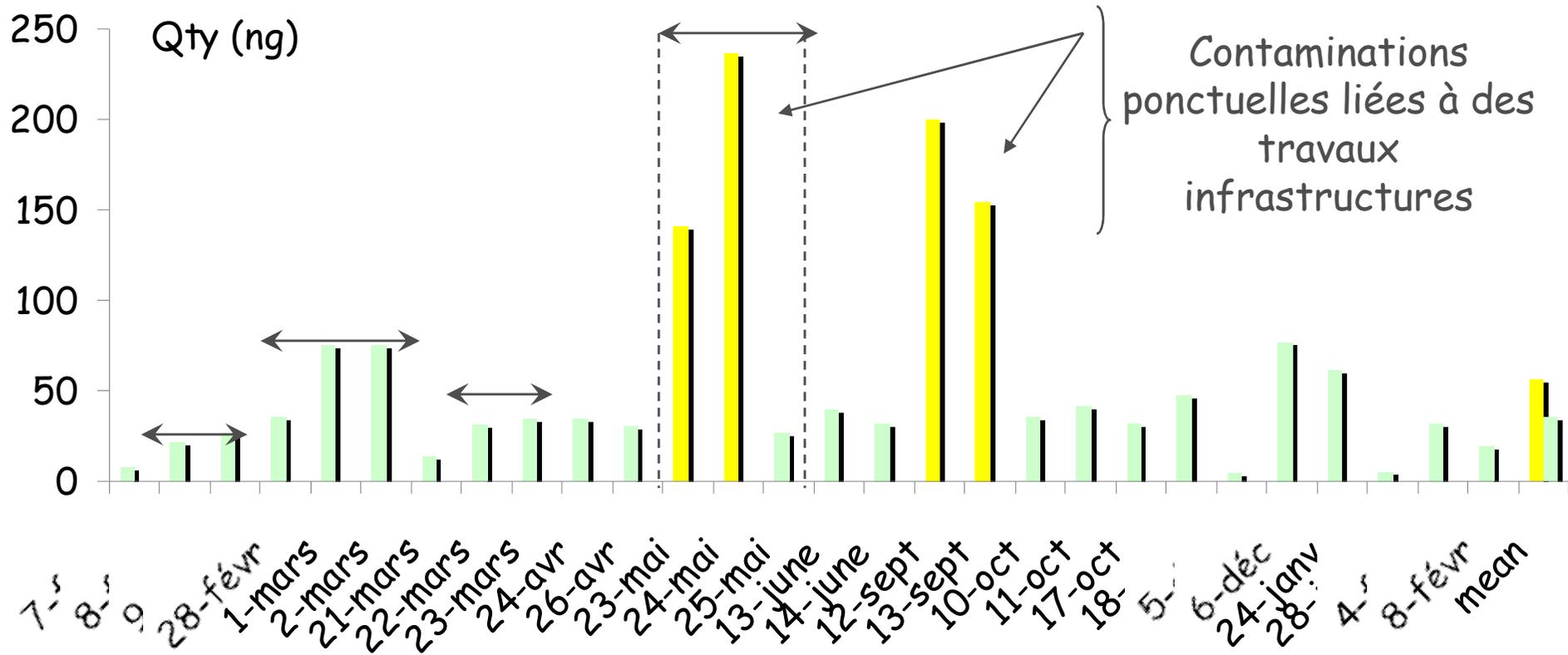
↪ Effet sur la LQ ?? → À redéfinir

Concernant les substances organiques : les solvants sont certifiés sur leur degré de pureté et non pas sur leurs impuretés.

- pb de contamination et d'interférences

Quelques idées reçues

Les bruits de fond dans les laboratoires sont stables



Lardy-Fontan (2008)

Importantes variations temporelles sur le court et/ou long terme

Nécessité d'un blanc de méthode associé à chaque série d'analyse

Finalités de l'enquête-étude

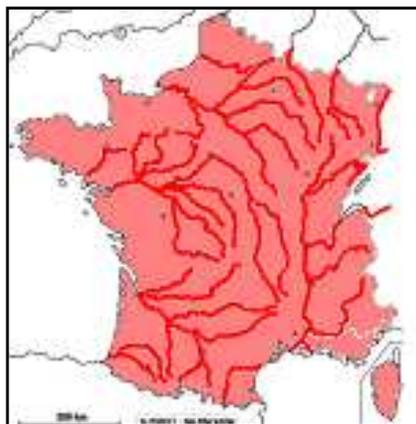
1- Par le biais d'un questionnaire, faire une première évaluation de l'état des pratiques des laboratoires

↳ Réflexions sur les approches mises en oeuvre et proposition de guides et/de recommandations (?) de bonnes pratiques

2- Dans une deuxième approche, évaluation de l'usage des blancs par les laboratoires. Correction des données ou pas? Quand? Comment?

↳ Evaluation des différents scénarii. Harmonisation des pratiques par les laboratoires ➤ ➤ Qualité des données + Comparabilité des données

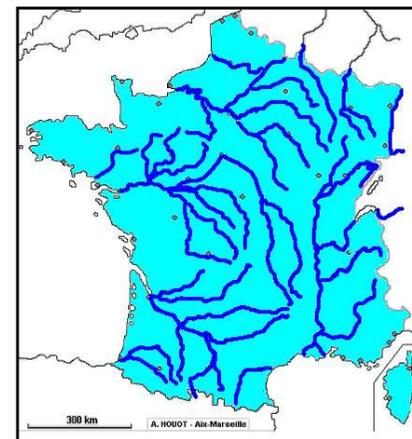
3- Quels impacts sur les couleurs de la France???



Mauvais état



Bon état



- 4- Perspectives... Anticiper la mise en place de nouvelles directives diversification des molécules et des matrices (boues, matrices biologiques, sédiments, etc....)
- 5- Perspectives... Évaluer les besoins de matériaux de référence certifiés «sans analyte»