

Université de Lille
Année Universitaire 2019/20220
Faculté de Pharmacie de Lille

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIEN HOSPITALIER**

**Soutenu publiquement le 25 Septembre 2020
Par Melle WILECZEK Amandine**

**conformément aux dispositions réglementaires en vigueur
tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Mise en place d'un appareil de spectromètre d'émission atomique à plasma
microondes dans le contrôle des poches de nutrition parentérale pour la néonatalogie au
sein d'une unité certifiée 9001

Membres du jury :

Président : Pr. Decaudin Bertrand, doyen de la faculté de Pharmacie de Lille, Professeur des
Universités –Praticien Hospitalier

Asseseurs :

Dr Aurélien Mary - MCU-PH CH Amiens

Dr Dautel Dominique - PH CH Valenciennes,

Dr Sandrine Bulcourt - PH CH Valenciennes (Directeur de Thèse).



Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CED

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIE
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire

Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire

Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL

M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique

M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques

M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurie	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

//

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises
dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

REMERCIEMENTS

A mon président de thèse, Monsieur Bertrand Decaudin, Doyen de la faculté de pharmacie de Lille, pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A ma maitre de thèse Madame Sandrine Bulcourt, de m'avoir proposé ce sujet, du temps que tu m'as accordé pour la réalisation de ce mémoire et pour le soutien que tu m'as apporté.

A Dominique Dautel, Chef de l'unité de préparation UCPS du CH de Valenciennes, pour l'honneur que tu me fais de siéger parmi les membres du jury. Je te remercie également pour mon semestre au sein de l'unité et mes nombreuses venues pour la réalisation de ce mémoire.

A Monsieur Aurélien Mary Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A Justine Egot et Constance Georgel pour la relecture et leur soutien. Aux préparateurs de l'UCPS.

Je remercie toutes les équipes des différents services dans lesquels j'ai effectué mes stages : au CHU d'Amiens, au CH de St Quentin, au CH de Valenciennes, au CHU de Lille, au CH de St Philibert et au CH de Douai.

A tous mes co-internes amiénois et lillois avec qui j'ai passé quatre années d'internat formidables.

A toutes les belles rencontres que j'ai pu faire au cours de ces quatre ans, je pense à l'internat d'Amiens, à tous les membres des différents bureaux de l'AIPBMP et de l'AIPBL, aux AGistes de France. Et particulièrement aux membres du bureau de l'AIPBL de cette année 2019-2020.

A mes amis, seconde famille qui sont toujours là pour moi ! Vous prenez vraiment une place importante.

A Juju, ma meilleure amie depuis déjà plus de 10 ans.

A la coloc de l'enfer, pour ces deux années inoubliables ! A ma compère que j'attends pour de nouvelles aventures !

A mon coloc et meilleur ami, mon Loulou avec qui j'espère encore partager de somptueux moments !

A mes parents, mon frère, mes grands-parents, Tatie, ma marraine, mon parrain, ... toute ma famille qui m'ont toujours soutenu et particulièrement au cours de mes études.

SOMMAIRE

Liste des tableaux	13
Liste des figures	13
I. Introduction	14
II. Qualification de la méthode	17
A. Matériel	17
1. Choix de l'appareil et principe de fonctionnement du MP AES 4210.	17
2. Choix des éléments dosés et échantillonnage pour le contrôle	20
a) Choix des ions dosés	20
b) Choix de l'échantillon	20
B. Méthode	21
1. QO : qualification opérationnelle	21
a) Temps d'analyse	21
b) Temps de prélèvement de l'échantillon	22
c) Temps de rinçage	22
d) Choix des longueurs d'onde	22
e) Traitement pré-analytique de l'échantillon	22
f) Comparaison des résultats des deux méthodes.	23
2. QP : qualification de performance	23
a) Protocole de référence	23
b) Définitions des différents tests effectués (définitions normes ISO (11))	25
c) Plan d'expérience	27
i) Domaine de validation	27
ii) Préparation des solutions et conditions d'analyse	27
iii) Passage des échantillons	28
• Répétabilité	28
• Fidélité intermédiaire et justesse	29
• L'exactitude	29
• La contamination inter-échantillon	30
• La linéarité	30
• Vue globale du plan de passage des échantillons	31
d) Acceptabilité préétablie	32
C. Résultats	33
1. Résultats de la qualification opérationnelle	33
a) Temps d'analyse et vitesse de pompe	33
b) Temps de prélèvement de l'échantillon	33
c) Temps de rinçage	33
d) Choix des longueurs d'onde	33
e) Le traitement pré analytique de l'échantillon	35
f) Comparaison des deux méthodes	36
2. Résultats de la qualification de performance	37
a) Répétabilité ou précision intra analyse	37
b) Fidélité intermédiaire	38
c) Linéarité	39
i) Analyse graphique de la linéarité	39
ii) Analyse statistique de la linéarité	40
Comparaison de la pente à 1 :	41
Comparaison de l'ordonnée à l'origine à 0	41
d) Limite de quantification	42
e) Justesse ou biais	42
f) Contamination inter échantillons	43
g) Profils d'exactitude	44
D. Discussion	47
1. Analyse des résultats	47

2.	Retour d'expérience	48
3.	Mise en place du MP AES 4210 dans les autres centres français : une uniformisation de la méthode de contrôle des PNP ?	49
4.	Maintenances préventives	51
5.	Perspectives d'évolution	52
III.	Actions qualité sur la mise en place et le suivi	53
A.	Textes réglementaires et normes : exigences sur la mise en place d'un nouvel appareil de contrôle.	53
1.	Les bonnes pratiques de préparations (BPP)	53
2.	La norme ISO 9001	54
B.	Approches par risques	55
1.	Application d'un outil qualité performant SWOT (MOFF)	55
a)	Définition du SWOT	55
b)	Application d'un outil qualité performant SWOT (MOFF) dans le choix d'un appareil de contrôle des poches de nutrition parentérale	55
2.	Analyse AMDEC : maîtriser les risques à l'installation d'un nouvel équipement de mesures des ions dans les préparations de nutrition parentérale pédiatriques	56
C.	Acquisition des compétences par le biais des formations et de la planification et maîtrises opérationnelles (procédures)	58
1.	Formations	58
2.	Procédures d'utilisation du MP AES 4210	59
3.	Indicateurs mis en place	59
IV.	Conclusion	60
	Bibliographie	61
	Annexes	62
	Annexe 1 : Analyse AMDEC - maîtriser les risques à l'installation d'un nouvel équipement de mesures des ions dans les préparations de nutrition parentérale pédiatriques	62
	Annexe 2 : Exemple de fiche de fabrication d'une poche de nutrition parentérale pédiatrique au CH de Valenciennes	63

Liste des tableaux

Tableau 1 - tableau des éléments.....	18
Tableau 2 - tests à effectuer pour la qualification de performance (extrait de lu guide de l'ANSES(10)).....	24
Tableau 3 - plan d'expérience de la répétabilité.....	28
Tableau 4 - plan d'expérience de la fidélité intermédiaire et du biais.....	29
Tableau 5 - plan d'expérience de l'exactitude.....	29
Tableau 6 - concentrations en Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ et Mg ²⁺ définies pour réaliser le test de linéarité.....	30
Tableau 7 - récapitulatif des plans d'expériences pour chaque test.....	31
Tableau 8 - valeurs limites préétablies pour la validation des tests.....	32
Tableau 9 : visualisation des longueurs d'onde disponibles pour l'analyse du sodium sur le logiciel MP Expert®.....	34
Tableau 10 - longueurs d'onde d'analyse sélectionnées pour chaque ion.....	35
Tableau 11 - résultats de répétabilité pour chaque ion : coefficients de variation en %.....	37
Tableau 12 - résultats de la fidélité intermédiaire pour chaque ion : coefficients de variation en %.....	38
Tableau 13 - résultats de la linéarité pour chaque ion : équations de droite, R ² & graphiques.....	39
Tableau 14 - résultats du test de corrélation (test de Fisher).....	40
Tableau 15 - résultats de corrélation linéaire pour chaque ion et chaque longueur d'onde.....	41
Tableau 16 - résultats de limite de quantification.....	42
Tableau 17 - résultats de justesse : biais relatif en %.....	43
Tableau 18 - résultats de la contamination inter échantillons.....	44
Tableau 19 - synthèse des résultats avec seuil de validité.....	47
Tableau 20 - SWOT : forces et faiblesses.....	55
Tableau 21 - SWOT : opportunités et menaces.....	56

Liste des figures

Figure 1 - part de la production de NP pédiatrique des PUI subissant des contrôles quantitatifs systématiques d'éléments(4).....	15
Figure 2 - cycle de vie d'une méthode d'analyse & relation client (PNP : poche de nutrition parentérale).....	16
Figure 3 - schéma du MP AES 4210 d'Agilent®.....	17
Figure 4 - Schéma du principe de fonctionnement d'un spectromètre d'émission atomique à plasma micro-ondes... 18	18
Figure 5 - vue interne du MP AES 4210 objectivant la torche à gauche et le détecteur à droite.....	19
Figure 6 - un résultat d'analyse du sodium à 588,995 nm.....	19
Figure 7 - approche globale : le profil d'exactitude (10).....	26
Figure 8 - visualisation des interférences possibles pour l'analyse du sodium aux longueurs d'onde sélectionnées (588,995 nm et 589,592 nm).....	34
Figure 9 - comparaison des concentrations obtenues avec le spectromètre de flamme et le MP AES 4210 à différentes longueurs d'onde pour le sodium et le potassium.....	36
Figure 10 - courbe de régression du sodium analysé à 588.995 nm.....	40
Figure 11 - légende des profils d'exactitude.....	44
Figure 12 - profils d'exactitude du calcium.....	45
Figure 13 - profils d'exactitude du potassium.....	45
Figure 14 - profils d'exactitude du sodium.....	46
Figure 15 - profils d'exactitude pour le magnésium.....	46
Figure 16 - approche par processus : le PDCA.....	54

I. Introduction

La nutrition parentérale est une technique de nutrition artificielle permettant d'apporter par voie intraveineuse macronutriments (lipides, glucides et protéines) et micronutriments (vitamines et oligoéléments). Non physiologique, cette voie d'abord est indiquée lorsque les autres modalités de nutrition, orale ou entérale sont insuffisantes, impossibles ou contre-indiquées : prématurité, chirurgie, situations d'agression, insuffisance intestinale, maladies inflammatoires chroniques et cancers.

Les préparations de nutrition parentérale (NP) sont un mélange complexe composé d'eau, de glucose, d'électrolytes (sodium, potassium, calcium, magnésium, phosphore), d'acides aminés (Primène®), d'oligoéléments et vitamines (zinc, Junimin®, Cernevit®), et de lipides ajoutés séparément ou non (mélange dit binaire ou ternaire). Elles peuvent être de trois types : mélange industriel avec AMM, mélange standardisé et mélange individualisé (ou à la carte – à façon).

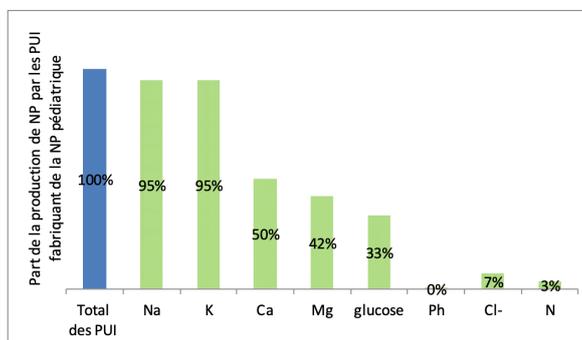
Bien qu'arrivant en troisième choix dans l'arbre décisionnel de la HAS (1), les poches de nutrition parentérale à la carte, c'est-à-dire produites sur une prescription de formulation personnalisée en fonction de l'état physiologique du patient, sont une activité grandissante au sein des Pharmacies à usage intérieur (PUI).

Centraliser la production des préparations de NP en PUI permet de sécuriser le circuit en minimisant le risque d'erreur : quantités de principes actifs, fautes d'asepsie (2)... A l'instar du secteur industriel, les contrôles analytiques sont réglementaires au sein des PUI (3).

Le rapport de l'IGAS de 2015 (4) faisant suite à ces incidents, fait le point sur les différents contrôles réalisés, notamment sur le produit fini :

- contrôles qualitatifs :
 - contrôle de l'étiquetage (identité, prescription apparente)
 - contrôle visuel : aspect de la préparation, intégrité du conditionnement...
 - contrôle du poids
- contrôles quantitatifs :
 - contrôle de l'osmolalité de la préparation (glucose)
 - contrôle des éléments : dosage

Dans ce rapport, il est constaté (*Figure 1*) que la majorité des contrôles quantitatifs étaient basés en 2014 sur le dosage du sodium et du potassium(4) ; délaissant ainsi les autres éléments.



Source : Enquête IGAS 2014, données 2013

Figure 1 - part de la production de NP pédiatrique des PUI subissant des contrôles quantitatifs systématiques d'éléments(4)

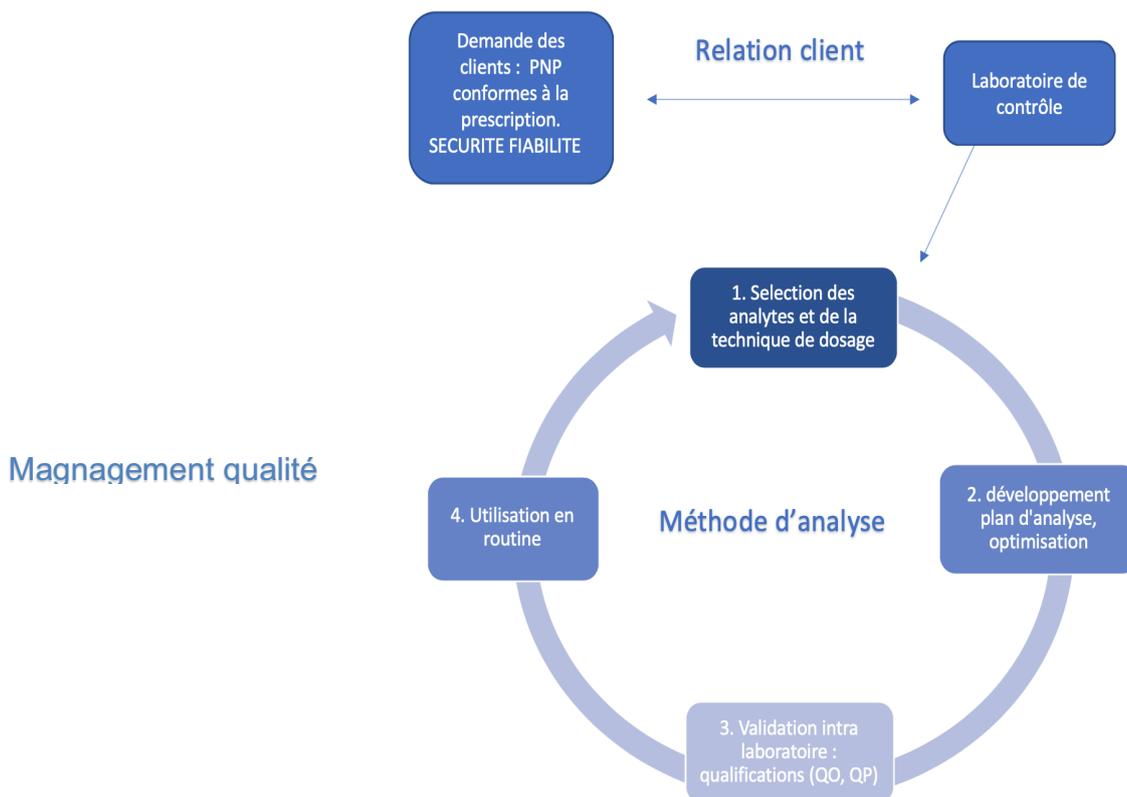
Au-delà du cadre réglementaire, la mise en œuvre du management de la qualité et de la gestion des risques est évaluée et permet à l'ARS de délivrer les autorisations pour la fabrication, et aux organismes de certifier les unités de préparation.

Au sein de l'unité certifiée (norme ISO 9001 de 2015) de production de préparations stériles (NP) du centre hospitalier de Valenciennes, les contrôles effectués sont qualitatifs (pesée, aspect visuel, étiquetage) et quantitatifs (dosage des ions et osmolalité). En raison de l'arrêt de l'activité de maintenance de l'appareil et de production des consommables, il était nécessaire de mettre en place une nouvelle méthode de dosage des éléments. Ce changement d'appareil a également permis d'étendre les analyses (calcium, magnésium).

Cette thèse a pour but de décrire notre expérience dans la mise en place d'une technique de spectrométrie d'émission atomique à plasma micro-ondes (MP AES 4210 – société Agilent Technologies) au sein de l'unité de production des préparations de nutrition parentérale du CH de Valenciennes.

Elle développera en première partie sa mise en place en regard du cycle de vie d'une méthode analytique (*Figure 2*), et ce dans un contexte de management de la qualité et de gestion des risques.

Figure 2 – cycle de vie d'une méthode d'analyse & relation client (PNP : poche de nutrition parentérale)



Y seront détaillés la phase de sélection des outils et les éléments à doser, la caractérisation intra-laboratoire, ainsi que la qualification de la méthode pour l'utilisation en routine (qualification opérationnelle et qualification de performances ; la qualification d'installation n'est pas détaillée dans ce mémoire).

La seconde partie exposera les actions qualité effectuées sur la mise en place et le suivi de la technique. Y sera développée l'utilisation d'outils qualité pour le choix de l'appareil et l'analyse de risques de son installation, mais également les documents qualité mise en place pour l'utilisation et le suivi de l'appareil.

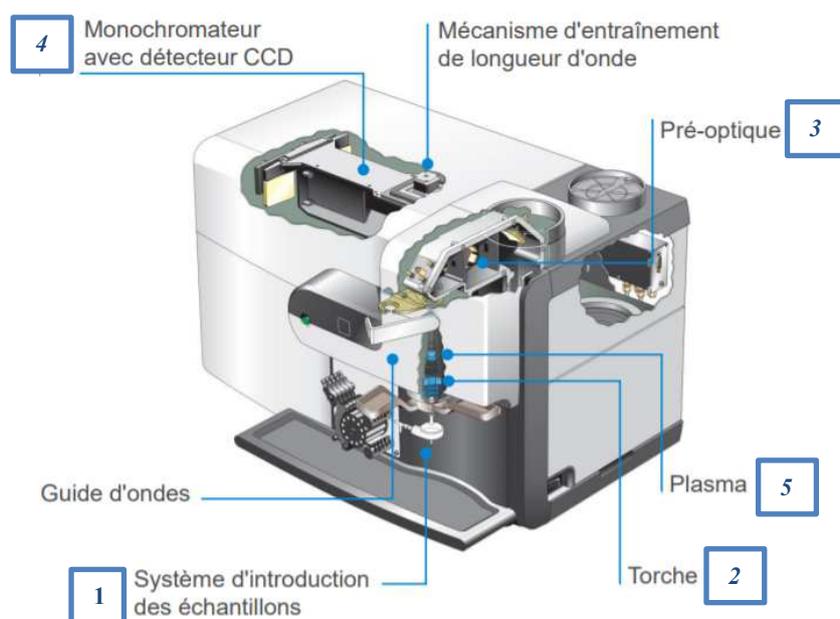
II. Qualification de la méthode

A. Matériel

1. Présentation et principe de fonctionnement du MP AES 4210.

L'appareil qui est mis en place au sein de l'unité de contrôle est un MP AES 4210 Agilent®.

Figure 3 - schéma du MP AES 4210 d'Agilent®



Le principe de fonctionnement est basé sur la spectrométrie d'émission atomique à plasma microondes. Il est composé d'un site d'introduction avec nébuliseur One neb® (**1** de la *Figure 3*(**5**)) relié à un passeur automatique par des tubulures connectées à la pompe (non représentée en figure 3), d'une torche à plasma (**2**), d'un pré-optique (**3**) et d'un mécanisme de détection monochromateur avec détecteur à transfert de charge CDD « Charge Coupled Device » (**4**).

La spectrométrie d'émission atomique à plasma micro-ondes repose sur le principe d'excitation atomique par le biais d'un plasma (**5**), généré grâce à de l'azote et maintenu grâce à un champ magnétique axial et un champ électrique radial qui accumulent et concentrent l'énergie des microondes. Ce plasma très robuste, puisque créé par un champ magnétique, est capable de traiter une grande variété de matrices (matrices fortement chargées en sel jusqu'à 30 g/L voire plus) et d'en déterminer la concentration de divers éléments du tableau périodique des éléments (*Tableau 1*).

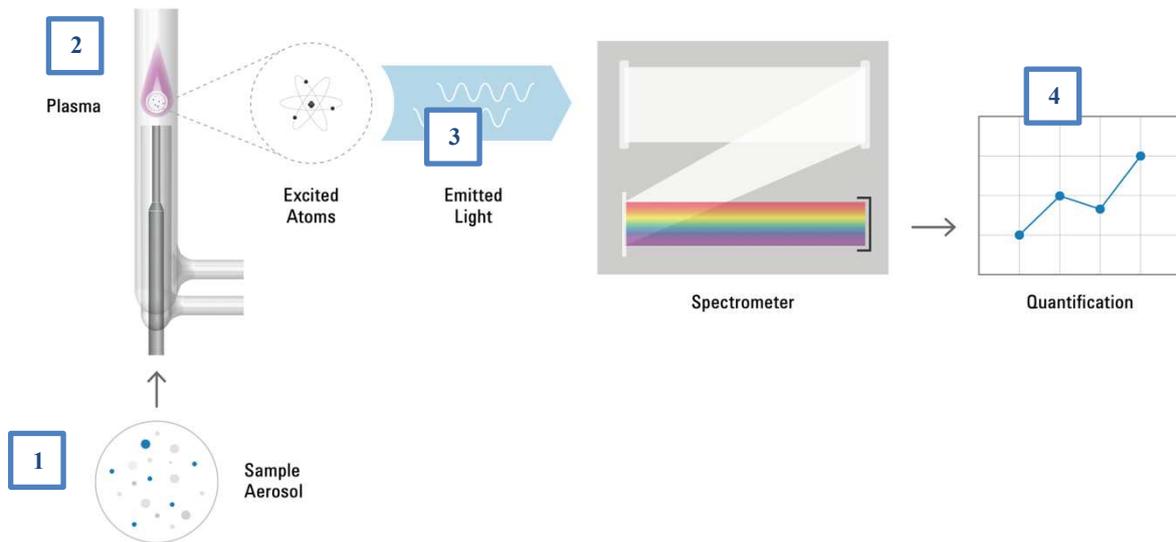
Tableau 1 - tableau des éléments

En gris ; les éléments analysables par le MP AES 4210

H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac															
		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

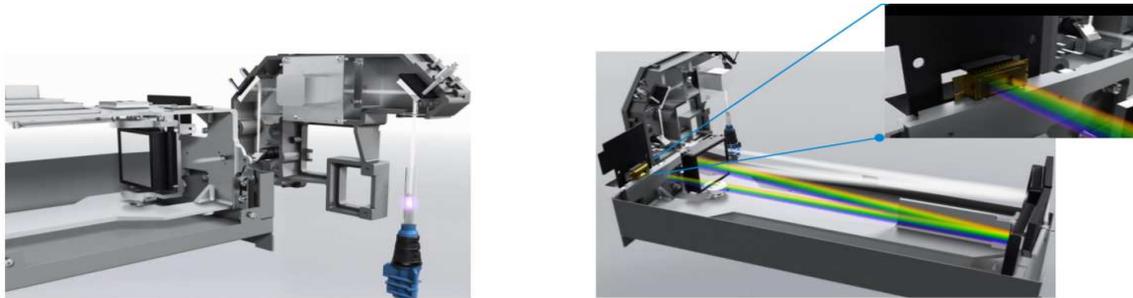
Une chambre de nébulisation transforme l'échantillon dilué en micro gouttelettes (**1** de la *Figure 4* – Schéma du principe de fonctionnement d'un spectromètre d'émission atomique à plasma micro-ondes). L'aérosol est ensuite mis en contact avec le plasma d'azote (flamme violette) chauffé à environ 5000 °K (soit 4726,85°C) (**2**), qui va désolvater, atomiser et exciter les éléments présents dans l'échantillon (*Figure 4*).

Figure 4 – Schéma du principe de fonctionnement d'un spectromètre d'émission atomique à plasma micro-ondes



Les éléments excités émettent alors de la lumière pour revenir à un état d'énergie inférieur (3) en sortie de plasma. L'émission lumineuse (raie caractéristique de l'élément à doser) est dirigée dans l'optique du monochromateur à balayage rapide (Figure 5(5)), permettant l'analyse en multi élémentaire, c'est-à-dire l'analyse de plusieurs éléments dans un même prélèvement.

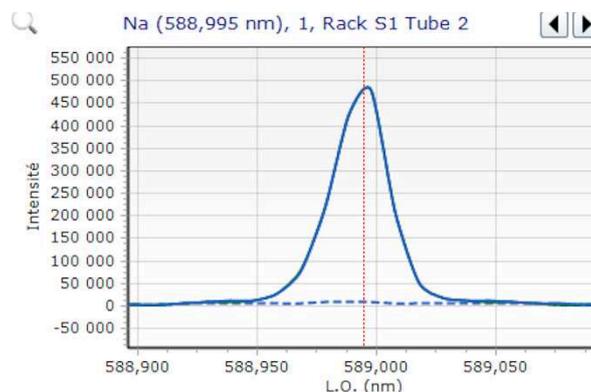
Figure 5 - vue interne du MP AES 4210 objectivant la torche à gauche et le détecteur à droite



C'est l'intensité de la lumière émise qui va être mesurée en utilisant la détection optique aux longueurs d'onde caractéristiques des éléments d'intérêt. La quantité d'énergie lumineuse captée par le détecteur est proportionnelle à la concentration en éléments de la solution analysée.

Nous obtenons donc sur le logiciel MP Expert® (livré avec l'automate, permettant le recueil et l'exploitation des résultats) des pics représentant la concentration en éléments puisque l'appareil quantifie la concentration d'un élément dans l'échantillon en comparant son émission à celle des concentrations connues de l'élément, tracées sur une courbe d'étalonnage (Figure 6(6)). Le résultat final est la concentration de l'élément dans l'échantillon (4 de la Figure 4). Le détecteur CCD permet d'analyser simultanément le fond et le signal. Cette mesure simultanée du pic et du bruit de fond permet d'obtenir d'excellentes limites de détection et une grande précision.

Figure 6 - un résultat d'analyse du sodium à 588,995 nm



2. Choix des éléments dosés et échantillonnage pour le contrôle

a) *Choix des ions dosés*

Les bonnes pratiques de préparations (BPP)(7) imposent le contrôle des produits finis des préparations hospitalières et magistrales. Cependant, pour le dosage des éléments des préparations de nutrition parentérale, les BPP ne précisent pas quels éléments doser.

La technique utilisée précédemment était basée sur le principe de la spectrophotométrie de flamme. Cette méthode permettait de doser le sodium (Na⁺) et le potassium (K⁺), qui sont les ions les plus « critiques » présents dans les poches de nutrition parentérale.

La technique de spectrométrie d'émission à plasma microonde permet de balayer de manière plus vaste le tableau périodique des éléments, ce qui permet de tester en plus du sodium et du potassium le calcium et le magnésium. Le dosage de ces ions supplémentaires apporte une plus grande fiabilité et sécurité des préparations et participe ainsi à l'amélioration de la qualité.

Les ions à ajouter au dosage ont été sélectionnés en concertation avec les médecins et selon le niveau de criticité d'une potentielle erreur dans la quantité injectée dans un mélange de NP (entraînant alors un sur/sous-dosage) :

- un apport en ions calciques inadapté peut entraîner des effets indésirables potentiellement graves tels que des déshydratations extracellulaires, des troubles cardiaques de type arythmies,... (8)
- le magnésium est le deuxième cation intracellulaire le plus courant et un bloqueur naturel des canaux calciques. En cas de surdosage, les conséquences sont notamment cardiaques puisqu'il entre en compétition avec le calcium (inhibition de réaction calcium dépendant). Le surdosage en magnésium peut également induire des réactions mimant un choc septique, puisque l'hypermagnésémie peut provoquer un blocage parasympathique objectivé par une hypotension, un intervalle QT prolongé, une conduction intraventriculaire retardée, une dépression respiratoire, un blocage neuromusculaire et un coma (9).

Les apports en calcium et magnésium doivent alors être contrôlés avec autant d'attention que le sodium et le potassium. C'est pourquoi l'ajout du dosage de ces ions renforce le contrôle qualité des préparations et limite le risque d'erreur.

b) *Choix de l'échantillon*

Les mélanges de NP à la carte sont des préparations magistrales, au centre hospitalier de Valenciennes elles sont administrées le jour de leur production. Un échantillon est prélevé sur chaque poche après homogénéisation, à raison d'un millilitre par poche, quantité nécessaire et suffisante pour effectuer les contrôles d'osmolarité et le dosage des ions. Ce prélèvement d'échantillon est réalisé en isolateur stérile pour maintenir l'intégrité de l'asepsie des préparations.

B. Méthode

Afin de transposer la méthode de spectrométrie d'émission atomique à plasma microondes du MP AES 4210 Agilent © aux analyses de routine effectuées sur les poches de nutrition parentérale, nous avons procédé aux qualifications opérationnelles et de performance de l'appareil au sein du laboratoire de contrôle.

1. QO : qualification opérationnelle

La méthode d'analyse par spectrométrie d'émission atomique à plasma microondes du MP AES 4210 nécessite, au préalable à l'utilisation en routine, un paramétrage du logiciel MP Expert permettant de contrôler les paramètres d'analyse.

Cette qualification opérationnelle permet de régler les différents paramètres de l'analyse qui font suite à la qualification d'installation réalisée par le fournisseur non développée dans ce manuscrit.

Ces paramètres sont :

- Le temps d'analyse
- Le temps de prélèvement de l'échantillon
- Le temps de rinçage
- Le choix des longueurs d'onde
- Le traitement pré-analytique de l'échantillon

Afin de paramétrer l'appareil, nous avons utilisé des échantillons prélevés sur des poches de nutrition parentérale dont les concentrations en ions sodium et potassium ont été déterminées en spectrométrie de flamme, méthode de référence mise en place précédemment. Le spectromètre de flamme ne permettant pas de doser les ions calcium et magnésium, un double contrôle visuel en zone des volumes injectés dans les poches a été mis en place comme moyen de confirmation des concentrations de ces ions.

Cette "comparaison" des deux méthodes permet de vérifier le paramétrage du nouvel appareil.

a) Temps d'analyse

Le temps d'analyse est fonction du temps de lecture au niveau de l'optique. Les recommandations du fournisseur indiquent que pour les signaux faibles ou des concentrations très basses le temps de lecture peut être augmenté afin d'obtenir de meilleurs résultats. Nous avons donc testé plusieurs temps d'analyse lors de la qualification opérationnelle.

b) Temps de prélèvement de l'échantillon

Le temps de prélèvement de l'échantillon comprend le prélèvement par la pompe, la traversée de la chambre de nébulisation et le passage dans la torche avant lecture. Il dépend principalement de la longueur de la tubulure qui relie la sonde d'aspiration du passeur automatique au nébuliseur. Si ce temps n'est pas correctement paramétré et est trop court par rapport à l'installation, l'échantillon n'aura pas le temps de parvenir à la torche pour l'analyse et les résultats seront incorrects.

c) Temps de rinçage

Le temps de rinçage est la durée nécessaire pour nettoyer toute trace d'échantillon précédemment analysé. Un temps de rinçage optimal permet également de s'assurer de l'absence de contamination inter-échantillon. Le calcul du temps de rinçage doit prendre en compte la longueur de la tubulure entre le site de prélèvement de l'échantillon et l'arrivée de l'échantillon dans la chambre de nébulisation jusqu'à l'analyse, il est donc également calculé en fonction de la vitesse de la pompe qui permet l'avancée des échantillons dans cette tubulure. Le rinçage s'effectue grâce à de l'eau ultra pure acidifiée 1% HNO_3^- .

d) Choix des longueurs d'onde

En spectrométrie, les éléments peuvent émettre à plusieurs longueurs d'onde qui leurs sont propres. Pour chaque élément, il est donc nécessaire de définir une longueur d'onde permettant d'obtenir un signal d'une intensité suffisante pour une quantification optimale.

Afin de choisir la longueur d'onde d'analyse la plus pertinente, le type de raie a été pris en compte ainsi que l'absence d'interférence, c'est-à-dire, l'absence d'élément potentiellement présent dans la composition d'une poche de nutrition émettant un signal à une longueur d'onde proche.

Il faut également prendre en compte la capacité du détecteur à déterminer les intensités. Sur les conseils de la société Agilent®, chaque élément a été testé sur deux longueurs d'onde.

e) Traitement pré-analytique de l'échantillon

Le fonctionnement de l'appareil impose une étape pré-analytique de dilution des échantillons. Cette étape est indispensable au bon fonctionnement de la torche. Le fournisseur recommande une dilution entre $1/500^e$ et $1/100^e$.

La température de la flamme à 5000°K permet une excitation des ions suffisante même à de faibles concentrations, la détection des ions reste donc optimale malgré la dilution.

Plusieurs dilutions ont été testées : $1/500^e$ $1/250^e$ et $1/100^e$ afin d'établir laquelle est la plus adaptée à l'analyse en routine.

f) Comparaison des résultats des deux méthodes.

Une comparaison entre la technique de référence sur site (spectrométrie de flamme) et la technique mise en place (spectrométrie à émission atomique plasma microondes) a été réalisée sur 10 échantillons de poches de NP pris aléatoirement « en routine » dans le but de valider les paramètres d'analyse lors de la qualification opérationnelle.

g) Acceptabilité pré établie

L'écart maximal accepté entre les résultats attendus et les résultats obtenus avec le MP AES 4210 est de 10%.

2. QP : qualification de performance

L'ANSES définit la caractérisation d'une méthode comme « la détermination ou l'estimation statistique des caractéristiques de performance de cette méthode (...). La performance des méthodes peut être caractérisée par :

- des caractéristiques techniques : elles caractérisent la méthode au regard des résultats donnés par la méthode par comparaison avec le statut réel (ou supposé) des échantillons.
- des caractéristiques de mise en œuvre : elles visent à définir si la méthode proposée peut être facilement utilisée en routine et / ou transférée à d'autres laboratoires. »(10).

La qualification est « un processus démontrant de façon tangible et documenté qu'un équipement est capable de répondre aux exigences spécifiées »(10), un appareil doit faire ce pourquoi il a été conçu.

L'objectif de la caractérisation d'une procédure analytique est de prouver que cette dernière est adaptée à l'usage auquel elle est destinée et dans les limites de détection établies.

a) Protocole de référence

La méthode analytique évaluée dans cette thèse est une méthode de dosage d'ions dans une matrice complexe qu'est la nutrition parentérale, notamment de par l'osmolarité variable due au glucose. C'est donc une méthode quantitative pour laquelle les tests suivants doivent être réalisés :

- ✓ Répétabilité ou précision intra analyse
- ✓ Fidélité intermédiaire
- ✓ Linéarité
- ✓ Justesse
- ✓ Exactitude
- ✓ Contamination inter échantillons

Comme décrit dans le [Tableau 2](#) ci-dessous extrait du guide de L'ANSES(10)

Tableau 2 - tests à effectuer pour la qualification de performance (extrait de la guide de l'ANSES(10))

Caractéristiques de performance à déterminer pour les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives.

Étape du processus de validation	Caractéristique	Caractéristique de performance à déterminer en fonction du type de méthode		
		Qualitative	Quantitative	
Caractérisation Intra labo	Spécificité	X	X	
	Sensibilité	X	(X)	
	Fonction d'étalonnage/efficacité (PCR)		X	
	Fidélité	Répétabilité	(X)	X
		Fidélité intermédiaire	X	X
	Justesse	sans objet	X	
	Exactitude (justesse + fidélité) ^a	sans objet	X	
	Linéarité	sans objet	X	
	Limite de	quantification	sans objet	X
		détection	X	(X)
Domaine de validité	X	X		
Caractérisation interlaboratoires	Reproductibilité	X	X	
	Répétabilité	(X)	X	
	LOD	(X)	sans objet	
	LOQ	sans objet	(X)	
	Spécificité ^b	X	sans objet	
	Sensibilité ^c	X	sans objet	
	Autres caractéristiques non techniques à définir selon les points critiques et le cahier des charges (délai, rapidité, efficacité, coût)	X	X	

sans objet : caractéristique non pertinente (x) : les caractéristiques inscrites entre parenthèses sont recommandées.

Le choix de la qualification de performance de la méthode se base dans un premier temps sur une approche caractéristique par caractéristique, en évaluant en premier lieu les différents paramètres de caractérisation intra laboratoire décrits dans le *Tableau 2*. Une approche globale, prenant en compte l'exactitude, a ensuite permis de construire un outil statistique visuel objectivant la validité des résultats : le profil d'exactitude.

La caractérisation inter-laboratoire n'est pas réalisée ici car cette caractérisation de méthode analytique est basée sur un appareil, le MP AES 4210 installé dans nos locaux (caractérisation intra laboratoire uniquement). La méthode ne sera pas reproduite sur un autre appareil.

b) Définitions des différents tests effectués (définitions normes ISO (11))

- **La fidélité**

Elle s'exprime mathématiquement par le coefficient de variation d'une série de mesures, c'est l'erreur aléatoire. La fidélité est représentée lors de validation intra-laboratoire par la répétabilité et la fidélité intermédiaire.

La reproductibilité permet également d'évaluer la fidélité dans le cas de validation inter laboratoire. Le dosage des ions sera effectué en routine dans un seul laboratoire et sur un seul appareil, la reproductibilité n'a donc pas été réalisée dans ce protocole.

- **La répétabilité**

La répétabilité est un indicateur de la fidélité. Elle représente le nombre de répétitions effectuées dans des conditions opératoires identiques (même opérateur et sur une courte période). Elle permet de conclure sur le fait que la qualité de l'analyse ne varie pas pendant une série de mesure.

- **La fidélité intermédiaire**

La fidélité intermédiaire est un paramètre qui évalue également la fidélité des résultats en y ajoutant des variables. Ces variabilités intra-laboratoires sont basés sur les « 5 M » ; Matériel, Méthode, Main d'œuvre, Matière, Milieu.

Les différents paramètres intra-laboratoires qui varient au sein de ce protocole de validation sont basés sur 3 items des 5 M :

- le Matériel** : celui-ci ne varie pas ; mêmes pipettes calibrées, mêmes vortex pour la préparation des échantillons en pré-analytique, même appareil de mesure.
- la Méthode** : ne varie pas au cours des analyses
- la Main d'œuvre** est le principal paramètre variable puisqu'en routine plusieurs pharmaciens, internes, techniciens habilités peuvent procéder au dosage. C'est pourquoi, cinq manipulateurs ont été choisis pour réaliser les tests de fidélité intermédiaire. Parmi ces cinq manipulateurs sélectionnés deux étaient des préparateurs, un était un interne et deux des pharmaciens.
- la Matière** : Pour chaque série d'analyse, une gamme d'étalonnage est réalisée extemporanément à l'analyse. La préparation de la gamme est le second paramètre de variabilité. Pour cela les cinq manipulateurs ont réalisé chacun leur gamme pour l'analyse.
- Le Milieu** : bien que l'environnement entourant l'appareil varie peu au cours du temps, les différentes séries ont été effectuées sur cinq jours différents. Ceci permet de tenir compte des faibles variations de température de la pièce pouvant influencer les analyses.
-

- **La justesse**

La justesse s'exprime statistiquement sous la forme du biais, c'est l'erreur systématique. Elle exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de mesures et la valeur qui est acceptée soit comme une valeur vraie conventionnelle soit comme une valeur de référence acceptée. Ici la valeur de référence est définie grâce à une solution standard de concentration connue et validée, fournie par Agilent® avec un certificat de conformité attestant notamment la concentration de l'élément en solution(10).

- **L'exactitude**

L'exactitude combine la justesse et la fidélité (*Figure 7*), c'est la "valeur vraie". L'exactitude permet de prendre en considération l'erreur systématique ainsi que les erreurs aléatoires. (10)

Pour une qualification de méthode quantitative, l'exactitude peut se présenter sous la forme d'un outil visuel : le profil d'exactitude. Ce profil d'exactitude est un graphique permettant de définir les limites dans lesquelles la méthode est statistiquement juste et fidèle : il permet de statuer sur la validation de la performance de la méthode.

Figure 7 - approche globale : le profil d'exactitude (10)

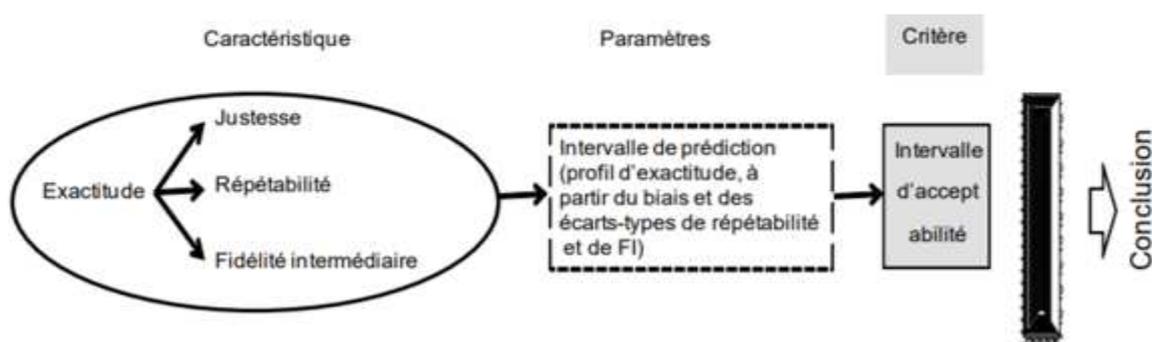


Illustration de la méthodologie de caractérisation des caractéristiques de performance basée sur un critère unique .
(Approche globale, communication personnelle de Max Feinberg modifiée par le GT Val 2)

- **La spécificité**

La spécificité se définit comme la capacité d'identifier une substance (ici un ion) dans un mélange (plus ou moins complexe, ici la nutrition parentérale) composés d'autres substances.

Celle-ci est testée tout au long de la validation, car pour le contrôle de chaque ion, les tests sont effectués en multi élémentaire. La spécificité est ici inhérente à la technique puisque pour chaque ion une longueur d'onde caractéristique permet de quantifier l'élément et d'en déduire une concentration.

- **La linéarité**

L'étude de la linéarité a pour but de démontrer une proportionnalité entre les résultats obtenus par le biais de l'analyse et les résultats attendus. Pour évaluer statistiquement la linéarité, des tests de corrélation linéaire ont été effectués.

- **La limite de quantification**

Il s'agit de la plus faible concentration quantifiable par l'appareil. Il existe plusieurs méthodes pour déterminer la limite de quantification (LOQ). La méthode retenue est la méthode par calcul de l'écart type du blanc (Sbl) puisque la LOQ estimée est 0.

$$LOQ = 10 \times Sbl$$

La limite de quantification peut également se définir comme étant le premier point de gamme (10).

- c) *Plan d'expérience*

- i) *Domaine de validation*

La spectrométrie d'émission atomique à plasma micro-ondes permet de doser la quantité d'ions sodium, potassium, magnésium et calcium, présents dans les préparations.

Le protocole est élaboré sur une gamme de concentrations représentatives des concentrations rencontrées dans les préparations réalisées en routine (analyse rétrospective des concentrations des poches de NP des années antérieures). Elle s'étend de 0 à 25 mg/L pour le sodium et le potassium ; 0 à 10 mg/L pour le calcium et de 0 à 2 mg/L pour le magnésium.

Dans ce domaine de validité, trois concentrations ont été testées, selon les recommandations de la SFSTP(12) : concentration basse, moyenne et élevée. Ces différentes concentrations permettent d'encadrer les résultats en routine.

- ii) *Préparation des solutions et conditions d'analyse*

- La gamme d'étalonnage est préparée grâce à des solutions standards diluées dans de l'eau ultra pure acidifiée à 1% HNO_3^- . Tous les jours et pour chaque série de mesures, l'équipement s'étalonne sur un blanc et 3 points de gamme à partir de solutions multi-élémentaires contenant des concentrations connues en sodium (Na), potassium (K), calcium (Ca) et magnésium (Mg).
- Les standards de "validation" sont préparés grâce à des solutions standards de concentration connue. Les différentes concentrations sont réalisées dans une solution reproduisant la matrice des poches de nutrition à 1500 mOsm (osmolalité moyenne des poches analysées en routine, l'osmolalité de ce mélange a été mesurée via un osmomètre qualifié, Osmopro de chez Radiometer) composée d'un tiers de glucose (G50%), un tiers de Primène® et d'un tiers d'eau pour préparation injectable. Une fois les solutions de différentes concentrations obtenues, chaque échantillon est dilué au 1/100^e, dilution minimale recommandée par le fournisseur pour conserver l'intégrité de la torche à plasma au cours des analyses. Cette étape pré-analytique est obligatoire pour chaque échantillon introduit dans l'appareil.

La préparation des standards de validation dans une solution de 1500 mOsm permet d'être représentatif des échantillons testés en routine.

La gamme et les solutions de standard de validation sont préparées extemporanément à l'analyse. Ceci sera également vrai en routine puisque la stabilité de la gamme n'a pas été démontrée dans l'eau ultra pure acidifiée.

Afin d'être le plus représentatif de l'analyse effectuée en routine, tous les tests sont effectués en multi élémentaire, cela signifie que sur un prélèvement de l'échantillon les quatre ions sont dosés simultanément, ce qui est également un des avantages de l'appareil de spectrométrie à émission atomique plasma microonde MP AES 4210.

Afin d'homogénéiser la méthode de dosage qui doit être fixe, l'appareil est allumé au moins 30 minutes avant l'analyse afin d'avoir un temps de stabilisation de la torche à plasma suffisant pour une analyse optimale.

iii) Passage des échantillons

Le plan de passage des échantillons choisi est basé sur les recommandations du guide de l'ANSES (10). Pour chaque paramètre à valider, un plan d'expérience a été mis en place. Le [Tableau 7](#) en résume les étapes.

- **Répétabilité**

Le test de répétabilité comprend 3 séries de 20 répétitions de 3 concentrations différentes (valeur basse, moyenne et haute) représentatives des valeurs attendues en routine pour les 4 éléments recherchés : Na, K, Ca et Mg ([Tableau 3](#)). Tous les tests sont effectués sur 2 longueurs d'onde pour chaque élément. Les tests de répétabilité ont été effectués sur une période rapprochée, la plus courte possible (dans la même journée).

Le choix du nombre de répétitions a été réalisé en se basant sur la quantité maximale d'échantillons passés en routine pour chaque série afin de tester l'appareil en conditions réelles.

Les tests de répétabilité ont été réalisés en condition multi-élémentaire pour être proche des conditions analytiques qui seront développées en routine. Les moyennes, écart-types et coefficients de variation ont été calculés pour les séries de chaque élément.

Tableau 3 - plan d'expérience de la répétabilité

	Série 1	Série 2	Série 3
[Basse]	20 répétitions	20 répétitions	20 répétitions
[Moyenne]	20 répétitions	20 répétitions	20 répétitions
[Élevée]	20 répétitions	20 répétitions	20 répétitions

- **Fidélité intermédiaire et justesse**

La fidélité intermédiaire ou reproductibilité intra-laboratoire teste la variabilité d'une méthode lorsque des facteurs d'influence « sensibles » sont modifiés. Dans nos conditions opératoires, nos sources de variation sensibles sont l'opérateur et le « lot » des solutions d'étalonnage et solutions standards de validation. Le jour de l'analyse est également un des paramètres que nous modifions, ce qui permet de prendre en compte d'éventuelles variations de température et d'humidité au sein du laboratoire de contrôle.

Nous avons réalisé 5 séries de 5 répétitions sur 3 niveaux de concentrations (bas, moyen et haut) pour chaque élément (*Tableau 4*). Les analyses ont également été réalisées en multi-élémentaire.

Tableau 4 - plan d'expérience de la fidélité intermédiaire et du biais

	Série 1 Manipulateur 1 Jour 1	Série 2 Manipulateur 2 Jour 2	Série 3 Manipulateur 3 Jour 3	Série 4 Manipulateur 4 Jour 4	Série 5 Manipulateur 5 Jour 5
[Basse]	5 répétitions				
[Moyenne]	5 répétitions				
[Élevée]	5 répétitions				

Le coefficient de variation a été calculé pour chaque concentration de chaque élément.

La justesse est l'estimation du biais relatif obtenue en comparant la moyenne (m) des résultats de l'étude de fidélité intermédiaire à la valeur cible attendue assimilée à la valeur vraie (v) de l'échantillon testé.

$$\text{Biais relatif (\%)} = 100 \times ((m-v)/v)$$

- **L'exactitude**

Les profils d'exactitude sont basés sur la réalisation de 3 séries de 5 répétitions sur 3 niveaux de concentrations différents (*Tableau 5*) (inspiré par le protocole V2 de le SFSTP (12)).

Tableau 5 - plan d'expérience de l'exactitude

	série 1	série 2	série 3
[Basse]	5 répétitions	5 répétitions	5 répétitions
[Moyenne]	5 répétitions	5 répétitions	5 répétitions
[Élevée]	5 répétitions	5 répétitions	5 répétitions

- **La contamination inter-échantillon**

La contamination inter-échantillon consiste en une alternance des séries de mesures de très hautes concentrations (10 mg/L pour Ca/Na/K et 2 mg/L pour Mg) (H) et des échantillons de concentration nulle (eau ultra pure acidifiée 1% HNO₃) (B).

La séquence d'analyse suivante a été répétée 3 fois :

H1
H2
H3
B1
B2
B3

La contamination se mesure à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Contamination\%} = 100 \times ((B1m-B3m) / (Hm-B3m))$$

- **La linéarité**

Afin de démontrer la linéarité des résultats obtenus par l'analyse en fonction des valeurs vraies, trois séries de 8 concentrations progressivement croissantes de 0,1 à 25 mg/L pour le Na et le K et de 7 concentrations croissantes de 0,1 à 10 mg/L pour le Mg et le Ca ont été analysées (les concentrations utilisées pour réaliser le test de linéarité sont détaillées dans le [Tableau 6](#)).

Tableau 6 - concentrations en Na⁺, K⁺, Ca²⁺ et Mg²⁺ définies pour réaliser le test de linéarité

Concentrations (mg/L)	
Na ⁺ & K ⁺	Ca ²⁺ et Mg ²⁺
0,1	0,1
0,4	0,2
0,5	0,5
1	1
2	2
5	5
10	10
25	

Les gammes de linéarité effectuées pour le Mg et le Ca ne comportent que 7 points de concentrations puisque les concentrations attendues sont plus faibles et ne dépassent pas 10 mg/L.

- **Limite de quantification**

Afin de déterminer la limite de quantification, 20 répétitions du blanc ont été effectuées. Pour rappel, le blanc est une solution d'eau ultra pure acidifiée à 1% HNO₃²⁻ utilisée pour la reconstitution de la gamme et la dilution des échantillons.

- **Vue globale du plan de passage des échantillons**

Le plan de passage d'échantillon pour chaque test est résumé dans le *Tableau 7*.

Tableau 7 - récapitulatif des plans d'expériences pour chaque test

Paramètre testé	Plan d'expérience	Exploitations des tests
Répétabilité	3 séries de 20 répétitions sur 3 concentrations	<ul style="list-style-type: none"> • Écart type • Moyenne • CV
Fidélité intermédiaire	5 séries de 5 répétitions sur 5 jours différents avec 5 techniciens différents préparant chacun leur gamme et standards de validation	<ul style="list-style-type: none"> • Écart type • Moyenne • CV
Justesse	Découle de la fidélité intermédiaire	Biais = erreur systématique
Exactitude	3 séries de 5 répétitions sur 3 niveaux différents	Profils d'exactitude (représentation graphique)
Contamination inter échantillon	Alternance de dosage entre un échantillon de concentration élevée et un échantillon contenant juste la matrice	%contamination
Linéarité	<ul style="list-style-type: none"> • 3 séries de 8 concentrations pour le Na et K • 3 séries de 7 concentrations pour le Mg et le Ca 	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect visuel de la droite et calcul du r^2 • La significativité de la corrélation • Comparaison de la pente à 1 • Comparaison de l'ordonnée à 0
Limite de quantification	20 répétitions du blanc analysé en multi élémentaire	LOQ = 10 x Sbl

d) Acceptabilité préétablie

Approche « caractéristique par caractéristique » (10):

Pour chaque test, des valeurs limites d'acceptabilité ont été définies et sont résumées dans le *Tableau 8* ci-dessous.

Tableau 8 - valeurs limites préétablies pour la validation des tests

Caractéristique de performance	Valeur limite préétablie
Répétabilité → CV	CV < 5%
Fidélité intermédiaire → CV	CV < 5%
Justesse → biais	BR <ou= 5%
Linéarité → r ²	r ² > 0.99
Contamination inter échantillons C%	C% < 1%

« Approche globale » (10):

La valeur limite d'acceptabilité pour l'exactitude a été fixée à 15%.

C. Résultats

1. Résultats de la qualification opérationnelle

a) *Temps d'analyse et vitesse de pompe*

Les temps de 1 et 3 secondes ont été testés. Le temps d'analyse optimal a été choisi selon les recommandations du fournisseur. Il est de :

- une seconde pour le Na et le K qui ont un signal intense.
- trois secondes pour le Ca et Mg qui ont un signal plus faible et des concentrations moins élevées dans nos échantillons.

b) *Temps de prélèvement de l'échantillon*

La société Agilent® recommande un temps de prélèvement de 30 secondes, paramétré comme tel sur l'équipement de démonstration sur lequel les échantillons ont pu être testés lors de la recherche d'équipement. Avec 30 secondes de temps de prélèvement, les résultats obtenus n'étaient pas conformes aux résultats attendus (+/- 10% de variation entre le résultat attendu et le résultat obtenu via le MP AES). L'explication résulte d'un temps de prélèvement trop court dû à l'installation de tubulures légèrement plus longues puisque l'ergonomie de l'espace de travail fait que la position du passeur automatique permettant le prélèvement des échantillons a été installée plus loin du site d'analyse.

Un temps de prélèvement à 60 secondes a ensuite été testé. Ce dernier laisse assez de temps à l'échantillon pour arriver dans la chambre de nébulisation et la torche avant la lecture du signal. Les résultats obtenus avec ce temps de prélèvement étaient conformes aux attentes.

c) *Temps de rinçage*

Deux temps de rinçage ont été testés :

- 30 secondes : temps recommandé par Agilent®.

Avec ces 30 secondes de rinçage, les résultats obtenus n'étaient pas conformes aux résultats attendus (+/- 10%). L'explication est identique à celle pour le temps de prélèvement et résulte également d'un temps de rinçage trop court dû à la configuration de l'installation.

- 60 secondes : cette durée permet un rinçage optimal des tubulures, de la chambre de nébulisation et minimise ainsi une éventuelle contamination inter-échantillon. Les résultats obtenus avec ce temps de rinçage étaient conformes aux attentes.

d) *Choix des longueurs d'onde*

Pour chaque ion dosé, deux longueurs d'onde ont été testées. Le premier critère de choix est le type de raie primaire ou secondaire, seules les primaires ont été sélectionnées. Le second critère est la bonne détection de l'ion par le capteur représenté dans le [Tableau 9](#) sous le libellé « intensité ». Plus l'intensité du signal de détection est élevée plus l'intensité du signal de concentration sera représentative.

Tableau 9 : visualisation des longueurs d'onde disponibles pour l'analyse du sodium sur le logiciel MP Expert®

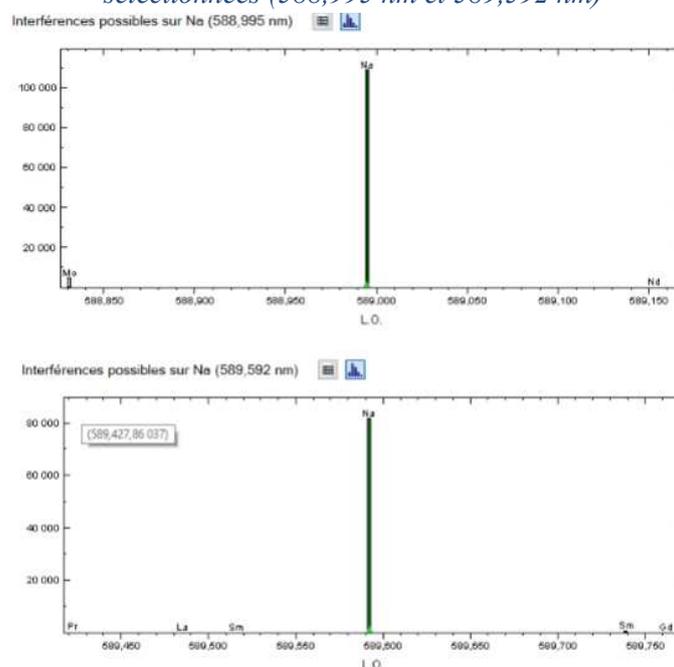
L.O. (nm)	Ion	Intensité	Ordre
588,995	I	108731,2	1
589,592	I	81616,0	2
330,237	I	597,4	3
568,820	I	516,8	4
568,263	I	254,0	5
330,298	I	239,4	6
616,075	I	96,1	7
498,281	I	68,7	8
315,953	II	50,4	9
615,423	I	48,3	10
328,560	II	37,7	11
497,854	I	35,2	12

Symbole	L.O. (nm)	Ion	Intensité
Mo	588,831	I	4713,5
Na	588,995	I	108731,2
Nd	589,153	II	152,3

Une étude des potentielles interférences a ensuite été réalisée. En effet, des longueurs d'onde proches peuvent entraîner des interférences avec d'autres éléments lors des dosages, d'autant plus lorsque les échantillons sont dosés en multi élémentaire.

Pour chaque ion, une analyse des interférences a été réalisée grâce aux graphes émis par le logiciel MP Expert. Voici un exemple en *Figure 8* pour le sodium.

Figure 8 - visualisation des interférences possibles pour l'analyse du sodium aux longueurs d'onde sélectionnées (588,995 nm et 589,592 nm)



Aucune interférence potentielle avec la formulation des poches de nutrition parentérale n'est constatée. Les ions potentiellement interférents n'entrent pas dans la composition des poches de nutrition parentérale. Les pics de détection émettent une intensité suffisante et distincte pour isoler et quantifier les ions présents dans nos échantillons.

Les longueurs d'onde choisies sont représentées dans le *Tableau 10* ci-dessous.

Tableau 10 - longueurs d'onde d'analyse sélectionnées pour chaque ion

Ion testé	Na	K	Mg	Ca
Longueurs d'onde sélectionnées	Na 588.995 nm	K 766.491 nm	Mg 517.268 nm	Ca 396.847 nm
	Na 589.592 nm	K 769.897 nm	Mg 518.360 nm	Ca 422.673 nm

e) Le traitement pré analytique de l'échantillon

Plusieurs dilutions ont été envisagées : 1/500^e, 1/250^e et 1/100^e. Pour plus de facilité dans le pré traitement des échantillons, une dilution au 1/100^e est retenue. Il s'agit de la dilution minimale à effectuer pour garantir le bon fonctionnement et l'intégrité dans le temps de la torche à plasma.

Cette dilution directe au 1/100^e permet de s'affranchir des erreurs de pré-analytique qu'entraînent potentiellement des dilutions avec de faibles volumes d'échantillons ou avec des dilutions par entraînement.

En effet, pour des dilutions élevées 1/250^e et 1/500^e, les prises d'échantillon étaient de faible volume (20 µL) et donc plus à risque d'imprécision dans le prélèvement.

La dilution s'avère suffisante au regard de l'éventail de concentrations retrouvées sur l'historique des préparations de nutrition parentérale pédiatrique. Dans l'éventualité où la concentration prévue, notamment en sodium (ions présentant les concentrations les plus élevées) dépasserait la limite supérieure de la gamme de validation, la préparation sera effectuée en double contrôle. En cas d'absence de double contrôle, l'échantillon sera analysé avec une dilution à 1/500^{ème} obtenue en réalisant une dilution par entraînement.

Suite à cela, le protocole de préparations des standards de validation a été mis en place : la préparation de ces standards est réalisée à partir d'une solution à 1000 µg/mL pour chaque ion analysé. Afin de reproduire la matrice de nos échantillons, un mélange de 1500 mOsm contenant 1/3 d'eau PPI, 1/3 de glucose (G50%) et 1/3 de Primène® a permis de préparer les différents niveaux de concentrations. Une fois ces niveaux de concentrations obtenus, la dilution imposée par l'appareil au 1/100^e a ensuite été réalisée dans de l'eau ultra pure acidifiée à 1% HNO₃⁻ soit 100 µL dans 10 mL d'eau ultra pure acidifiée à 1% HNO₃⁻.

En routine, 100 µL d'échantillon seront prélevés à partir du millilitre extrait des poches. Puis ces 100 µL seront également dilués dans 9,9 mL d'eau ultra pure acidifiée à 1% HNO₃⁻ pour une dilution au 1/100^e.

f) Comparaison des deux méthodes

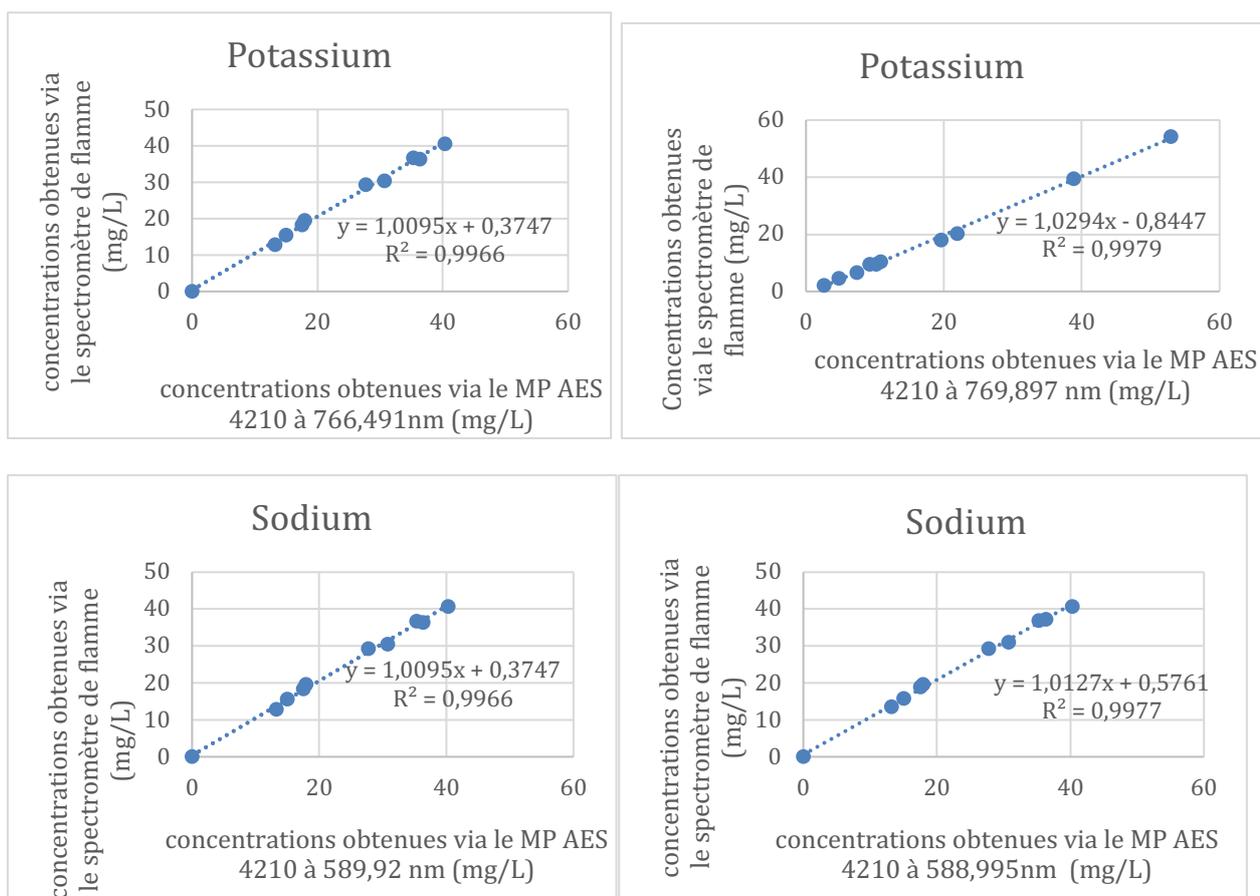
Dix échantillons de préparation de nutrition parentérale effectuée en routine ont été prélevés. Ces 10 échantillons ont été testés via les deux méthodes d'analyse : photomètre de flamme et spectromètre d'émission à plasma microonde pour le sodium et le potassium (seuls éléments dosés par le photomètre de flamme).

Les résultats obtenus ont été reportés sur un graphique représentant en ordonnées la concentration obtenues par le photomètre et en abscisse la concentration obtenue par le MP AES 4210, présenté en *Figure 9*.

Le résultat est une droite passant par 0, de pente environ égale à 1 et de coefficient de corrélation (r^2) supérieur à 0,99.

Pour chaque ion, il existe une relation linéaire entre les deux techniques de dosage ($r^2 > 0,99$). Ceci n'apporte pas de preuve statistique de la fiabilité de la méthode, mais apporte une première assurance sur la détection des ions dans la matrice étudiée.

Figure 9 - comparaison des concentrations obtenues avec le spectromètre de flamme et le MP AES 4210 à différentes longueurs d'onde pour le sodium et le potassium



Pour le calcium et le magnésium, la conformité des poches est assurée par un double contrôle visuel en cours de production. L'ensemble des concentrations obtenues au MP AES 4210 était conforme à la limite d'acceptabilité fixée pour la qualification opérationnelle (+/- 10%).

2. Résultats de la qualification de performance

Les résultats sont présentés sous forme de tableaux récapitulatifs.

a) Répétabilité ou précision intra analyse

Afin d'évaluer la fidélité de la méthode, les coefficients de variation ont été calculés pour chaque série des 3 concentrations, chaque ion et pour chaque longueur d'onde. Les exigences émises préalablement aux tests exigent des CV < 5%. Pour chaque série de 20 répétitions et pour chaque ion, les CV sont inférieurs à 5% (*Tableau 11*). La répétabilité est validée. Cela signifie donc que la qualité de l'analyse ne varie pas au cours d'une série. En routine, 20 échantillons maximum seront passés par série avec la garantie d'une qualité d'analyse identique.

Tableau 11 - résultats de répétabilité pour chaque ion : coefficients de variation en %

	Ca 0,5 mg/L		Ca 1 mg/L		Ca 5 mg/L	
	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm
Série n°1	1,08	1,57	1,29	0,68	0,85	0,98
Série n°2	1,83	1,44	1,35	1,10	1,12	1,24
Série n°3	0,98	1,01	1,43	1,25	0,80	3,91

Coefficient de variation (%) pour le calcium (Ca)

	K 2 mg/L		K 5 mg/L		K 25 mg/L	
	K 766.491 nm	K 769.897 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm
Série n°1	0,9	0,42	0,91	0,79	0,91	0,98
Série n°2	1,18	1,04	0,51	0,65	0,98	0,80
Série n°3	0,84	0,84	0,87	0,93	1,71	1,47

Coefficient de variation (%) pour le potassium (K)

	Mg 0,1 mg/L		Mg 0,2 mg/L		Mg 0,5 mg/L	
	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm
Série n°1	4,84	3,78	2,35	1,02	1,19	1,36
Série n°2	0	4,74	2,14	1,94	0,99	1,19
Série n°3	2,22	0	1,07	0	1,06	0,99

Coefficient de variation (%) pour le magnésium (Mg)

	Na 1 mg/L		Na 10 mg/L		Na 25 mg/L	
	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm
Série n°1	3,17	3,20	1,10	0,98	2,04	1,8
Série n°2	3,17	2,61	0,96	0,93	1,05	0,85
Série n°3	1,55	1,49	0,9	1,26	1,07	1,17

Coefficient de variation (%) pour le sodium (Na)

b) Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire exige des coefficients de variation inférieurs à 5%. Le coefficient de variation prend en compte les variations entre les cinq séries effectuées par 5 manipulateurs différents sur 5 jours différents, avec des solutions préparées extemporanément à l'analyse par chaque manipulateur.

Les coefficients de variations sont tous inférieurs à 5% (*Tableau 12*), la méthode est donc considérée comme fidèle. Cela signifie que les résultats sont identiques quel que soit l'opérateur, le jour de l'analyse et le lot de solutions.

Tableau 12 - résultats de la fidélité intermédiaire pour chaque ion : coefficients de variation en %

	Ca 1 mg/L		Ca 5 mg/L		Ca 10 mg/L	
	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm
Moyenne	1,12	1,01	5,11	5,04	9,71	10,02
Ecart-type	0,019945328	0,018827713	0,093236197	0,079988505	0,134431113	0,129737135
CV%	1,78	1,86	1,82	1,59	1,38	1,30

Coefficient de variation (%) pour le calcium (Ca)

	K 1 mg/L		K 10 mg/L		K 25 mg/L	
	K 766.491 nm	K 769.897 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm
Moyenne	1,03	1,02	10,12	10,15	25,34	25,41
Ecart-type	0,026173603	0,025063139	0,112055508	0,091506548	0,354837829	0,265056923
CV%	2,53	2,45	1,11	0,90	1,40	1,04

Coefficient de variation (%) pour le potassium (K)

	Mg 0,5 mg/L		Mg 1 mg/L		Mg 2 mg/L	
	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm
Moyenne	0,51	0,51	1,00	1,01	1,99	2,00
Ecart-type	0,006396838	0,004982729	0,02008316	0,021644994	0,025179813	0,024202213
CV%	1,26	0,97	2,00	2,14	1,27	1,21

Coefficient de variation (%) pour le magnésium (Mg)

	Na 1 mg/L		Na 10 mg/L		Na 25 mg/L	
	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm
Moyenne	1,01	1,01	10,12	10,21	25,17	24,94
Ecart-type	0,043385468	0,046644905	0,145974726	0,189709094	0,332635592	0,389868236
CV%	4,30	4,62	1,44	1,86	1,32	1,56

Coefficient de variation (%) pour le sodium (Na)

c) Linéarité

Afin d'évaluer la linéarité, plusieurs critères sont à étudier :

- le r^2 ou coefficient de détermination obtenu à partir de l'équation de la droite de fonction
 $f(\text{concentration vraie}) = \text{concentration mesurée}$
- la significativité de la corrélation
- comparaison de la pente à 1
- comparaison de l'ordonnée à 0

i) Analyse graphique de la linéarité

Pour chaque ion et pour chaque série, les points sont reportés sur le graphique représentant en ordonnée la concentration obtenue par l'analyse en fonction de la concentration vraie attendue en abscisse. Une courbe de tendance est tracée et objective pour chaque ion une droite passant par 0, de pente proche de 1 et de coefficient de corrélation (r^2) compris entre 0,99 et 1 (résultats résumés dans le *Tableau 13*). La représentation graphique ainsi que les équations des droites et coefficients de corrélation permettent de visualiser la linéarité de la méthode dans l'intervalle de validation.

Tableau 13 - résultats de la linéarité pour chaque ion : équations de droite, R^2 & graphiques

	Ca		K		Mg		Na	
	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm
R^2	0,99981	0,99999	0,99981	0,99996	0,99999	0,99999	0,99993	0,99985
équation de la droite	$y = 1,0208x + 0,0769$	$y = 1,016x + 0,0012$	$y = 0,9673x + 0,1124$	$y = 1,0398x - 0,0364$	$y = 1,0564x - 0,0085$	$y = 1,0469x + 0,0069$	$y = 1,0368x - 9E-05$	$y = 1,0243x + 0,0445$
R^2	0,99987	0,99996	0,99998	0,99999	0,99996	0,99994	0,99996	0,99998
équation de la droite	$y = 1,011x + 0,0689$	$y = 1,0233x + 0,0045$	$y = 1,0076x + 0,0147$	$y = 1,0155x - 0,0023$	$y = 1,03x - 0,0077$	$y = 1,0376x - 0,0153$	$y = 0,9981x + 0,1422$	$y = 1,0075x + 0,0993$
R^2	0,99982	0,99997	0,99995	0,99994	0,99998	0,99998	0,99993	0,99989
équation de la droite	$y = 0,9935x + 0,0761$	$y = 1,06562x - 0,0211$	$y = 1,0037x + 0,0648$	$y = 1,0058x + 0,0544$	$y = 1,0207x + 0,003$	$y = 1,0344x + 0,0106$	$y = 1,0015x + 0,1935$	$y = 1,0631x + 0,0729$

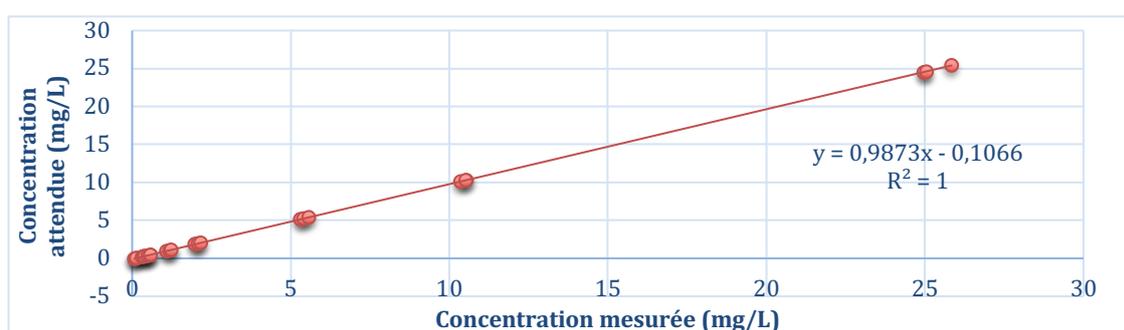
ii) *Analyse statistique de la linéarité*

Coefficient de détermination r^2 :

L'ensemble des résultats des trois séries du test de linéarité sont repris pour cette analyse (trois résultats pour chaque concentration). La courbe de régression est tracée via Excel®, on obtient alors le coefficient de détermination r^2 . Le seuil de validité du r^2 est >0.99 . Ce premier paramètre est validé car tous les r^2 obtenus sont > 0.999 . La fonction est une droite de type $y = ax + b$. Il s'agit donc d'une régression linéaire. Seule l'analyse du sodium à 588.995 nm est développée, les résultats obtenus pour les autres ions sont présentés dans le *Tableau 15*.

Significativité de la corrélation

Figure 10 - courbe de régression du sodium analysé à 588.995 nm



La significativité de la corrélation se vérifie grâce à un test de Fisher.

Déterminons l'hypothèse nulle H_0 : il n'y a pas de régression, les variables X et Y sont indépendantes.

$n = 24$; $ddl = 22$; le risque $\alpha = 5\%$; $F^\circ(0,05;1;22) = 4,26$

Tableau 14 - résultats du test de corrélation (test de Fisher)

<i>Statistiques de la régression</i>	
Coefficient de détermination multiple	0,99964678
Coefficient de détermination R^2	0,99929368
Coefficient de détermination R^2	0,99926158
Erreur-type	0,22237471
Observations	24

ANALYSE DE VARIANCE Sodium				
	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F
Régression	1	1539,17209	1539,17209	31125,5049
Résidus	22	1,08791122	0,04945051	
Total	23	1540,26		

	Coefficients	Erreur-type	Statistique t	Probabilité
Constante	-0,10658015	0,05541066	-1,92345945	0,06745876
concentration mesurée	0,98730935	0,00559622	176,424219	3,6722E-36

$F = 31\ 125 \gg F^\circ = 4.26$

Rejet de l'hypothèse nulle H_0 , les variables X et Y sont corrélées entre elles au risque de 5%. Il existe une régression linéaire significative. Le deuxième paramètre de linéarité est donc validé.

Comparaison de la pente à 1 :

L'hypothèse nulle H0 : a = 1 ; le risque $\alpha = 5\%$; $t^\circ (0,05;22) = 2,508$

$$t = \frac{a - 1}{\sqrt{\frac{sy^2/sx^2 - a^2}{n - 2}}}$$

a : pente, s2 la variance, n nombre de répétition

t = 0.26 < t° = 2.508

Acceptation de H0 l'hypothèse nulle, la pente de la droite est donc significativement égale à 1.

Comparaison de l'ordonnée à l'origine à 0

L'hypothèse nulle H0 : b = 0 ; le risque $\alpha = 5\%$; $t^\circ (0,05;22) = 2.819$

$$t = \frac{b}{\sqrt{\frac{sy^2/sx^2 - b^2}{n - 2}}}$$

b : l'ordonnée à l'origine, s2 la variance, n nombre de répétition

t = 0,788479945 < t° = 2.819

Non rejet de l'hypothèse nulle, l'ordonnée à l'origine est égale à 0.

Tableau 15 - résultats de corrélation linéaire pour chaque ion et chaque longueur d'onde

	Sodium		Potassium		Magnésium		Calcium	
	588.95nm m	589.592nm m	766.491nm m	569.897nm m	517.26 8	518.36 0 nm	396.84 7	422.673nm m
Équation de droite	y = 0,9873x - 0,1066	y = 0,9927x - 0,1224	y = 1,0066x - 0,0613	y = 0,9798x - 0,0035	y = 0,9652x + 0,0052	y = 0,9618x - 0,0004	y = 0,9911x - 0,0719	y = 0,9618x - 0,0004
R ²	0,9993	0,9992	0,9994	1	1	1	1	1
Corrélation	Significative		Significative		Significative		Significative	
Comparaison de la pente à 1	Acceptation de l'hypothèse nulle		Acceptation de l'hypothèse nulle		Acceptation de l'hypothèse nulle		Acceptation de l'hypothèse nulle	
Comparaison de l'ordonnée à l'origine à 0	Acceptation de l'hypothèse nulle. Ordonnée = 0		Acceptation de l'hypothèse nulle Ordonnée = 0		Acceptation de l'hypothèse nulle Ordonnée = 0		Acceptation de l'hypothèse nulle Ordonnée = 0	

d) Limite de quantification

La limite de quantification a été calculée pour l'ensemble des ions en multi élémentaire sur une série de 20 répétitions du blanc.

Le *Tableau 16* expose l'écart type ainsi que la LOQ pour chaque élément et pour chaque longueur d'onde.

Pour le calcium ainsi que pour le magnésium les limites de détection sont très proches de 0.

Pour le sodium et le potassium, les limites de quantification sont comprises entre 0 et 1 mg/L (en tenant compte du facteur de dilution).

Tableau 16 - résultats de limite de quantification

	Ca 396,847 nm	Ca 422,673 nm	K 766,491 nm	K 769,897 nm	Mg 517,268 nm	Mg 518,360 nm	Na 588,995 nm	Na 589,592 nm
Ecart type	0,0167	0,0164	0,0782	0,0751	0	0,0039	0,0447	0,0426
LOQ mg/L	0,167	0,164	0,782	0,751	0	0,039	0,447	0,426

Le guide de l'ANSES (10) explicite les différentes approches de la LOQ parmi lesquelles le premier point de gamme, utilisé pour établir le modèle d'étalonnage, permet de définir la limite inférieure de quantification. Cette méthode n'est pas optimale mais est acceptable. En reprenant les équations des droites des gammes d'étalonnage et des gammes d'analyses, nous observons que le premier point de gamme est 0, l'ordonnée à l'origine est également très proche de 0.

La limite de quantification pour chaque ion est alors considérée comme 0.

e) Justesse ou biais

La justesse est étudiée par le biais, c'est à dire la différence entre la valeur vraie et la valeur mesurée.

La justesse peut également être exprimée par le biais relatif. Parmi les exigences de départ, le biais relatif doit être < 5%. On constate que pour chaque ion, le biais ne dépasse pas 5% (*Tableau 17*). Les résultats sont donc justes. L'erreur systématique ne dépasse pas 5%, aucun facteur de correction n'est à appliquer à la méthode.

Tableau 17 - résultats de justesse : biais relatif en %

	Ca 1 mg/L (n=30)		Ca 5 mg/L (n=30)		Ca 10 mg/L (n=30)	
	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm
m	0,99	1,01	5,11	5,04	9,71	10,02
v	1	1	5	5	10	10
Biais relatif %	-1	1	2,2	0,8	-2,9	0,2

Biais relatif (%) pour le calcium (Ca)

	K 1 mg/L (n=30)		K 10 mg/L (n=30)		K 25 mg/L (n=30)	
	K 766.491 nm	K 769.897 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm
m	1,03	1,02	10,12	10,15	25,34	25,41
v	1	1	10	10	25	25
Biais relatif %	3	2	1,2	1,5	1,36	1,64

Biais relatif (%) pour le potassium (K)

	Mg 0,5 mg/L (n=30)		Mg 1 mg/L (n=30)		Mg 2 mg/L (n=30)	
	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm
m	0,51	0,51	1	1,01	1,99	2
v	0,5	0,5	1	1	2	2
Biais relatif%	2	2	0	1	-0,5	0

Biais relatif (%) pour le magnésium (Mg)

	Na 1 mg/L (n=30)		Na 10 mg/L (n=30)		Na 25 mg/L (n=30)	
	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm
m	1,01	1,01	10,12	10,21	25,17	24,94
v	1	1	10	10	25	25
Biais relatif %	1	1	1,2	2,1	0,68	-0,24

Biais relatif (%) pour le sodium (Na)

f) Contamination inter échantillons

La contamination se mesure avec la formule suivante :

$$\text{Contamination\%} = 100 \times ((B1m-B3m) / (Hm-B3m))$$

Les résultats doivent tendre vers 0 et sont présentés dans le *Tableau 18* :

Tableau 18 - résultats de la contamination inter échantillons

	Ca		K		Mg		Na	
	Ca 396.847 nm	Ca 422.673 nm	K 766.491 nm	K 769.897 nm	Mg 517.268 nm	Mg 518.360 nm	Na 588.995 nm	Na 589.592 nm
Contamination%	-0,03	-0,03	0,06	0,07	0,17	0,17	0,07	-0,03

Contamination (%) pour les 4 éléments

Notre seuil d'acceptabilité est fixé lorsque la contamination est < 1%. Nous pouvons conclure que l'équipement utilisé dans les conditions normales de mesure n'est pas à l'origine de contamination inter-échantillons.

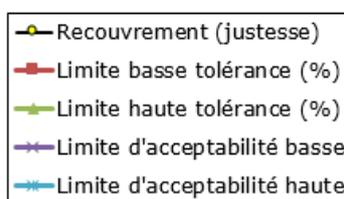
g) Profils d'exactitude

Le profil d'exactitude permet de déterminer l'étroitesse du résultat à la valeur vraie. Il définit l'erreur totale = erreur systématique + erreur aléatoire. Le profil d'exactitude reprend donc de manière globale la justesse et la fidélité.

Les lignes bleue et violette représentent les limites d'acceptabilité (alpha) respectivement hautes et basses (CF. légende [Figure 11](#)). Ces limites alpha sont fixées à +/- 15% ce qui signifie que le biais peut varier entre 85 et 115%. Ce choix est basé sur des recommandations donnant les domaines de validité compris entre 70 et 130% de la valeur attendue pour la vérification de concentration continue(13).

Les limites de tolérance (beta) sont représentées graphiquement par les lignes verte et rouge pour les limites haute et basse (CF. légende [Figure 11](#)). Ces limites beta sont fixées à 95%, ce qui signifie que le risque de produire des résultats en dehors de l'intervalle de confiance validé est de 1 sur 20(13).

Figure 11 - légende des profils d'exactitude

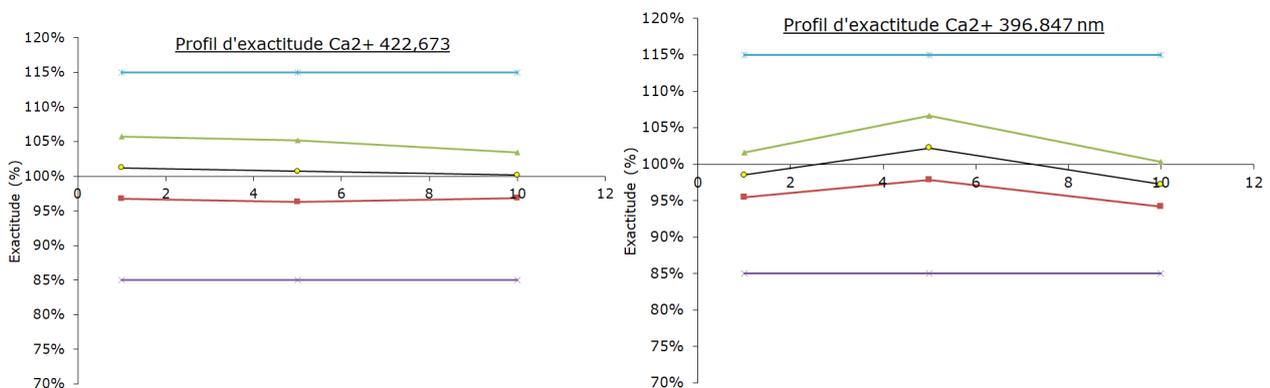


Les profils d'exactitude basés sur les deux longueurs d'onde exploitables pour le calcium mettent en évidence graphiquement la fiabilité de la méthode et son domaine de validité ([Figure 12](#)).

Il est possible de constater visuellement qu'il n'y a pas de correction à apporter pour obtenir des résultats fiables puisque la droite de recouvrement, comprise dans le domaine d'acceptabilité et de tolérance, est très proche de 100%.

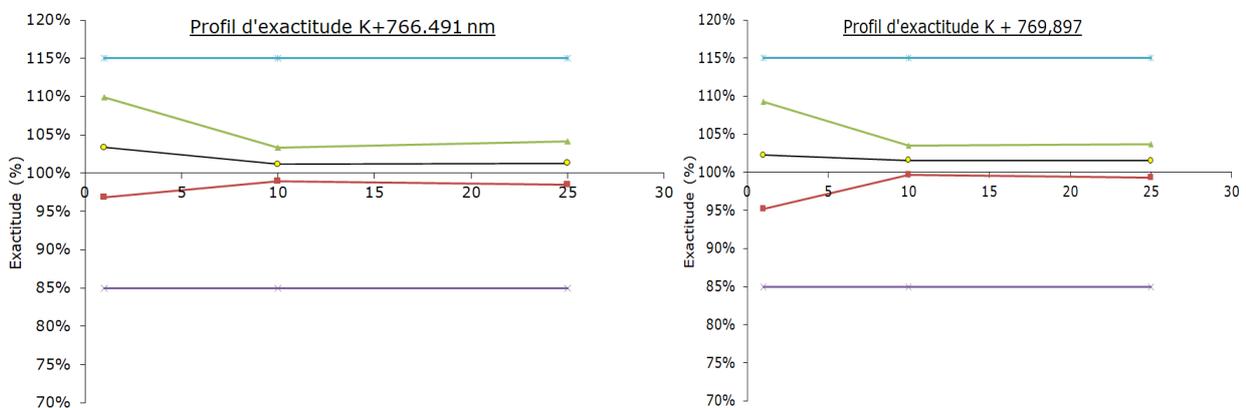
Le domaine de validité de la méthode appliqué aux analyses de l'unité et leurs contraintes est compris entre 1 et 10 mg/L.

Figure 12 - profils d'exactitude du calcium



Les profils d'exactitude du potassium démontrent également la conformité de la méthode dans l'intervalle de concentrations fixé (Figure 13). La droite de recouvrement est comprise entre les droites de limite haute et basse d'acceptabilité et de tolérance. Les droites de limites de tolérance restent comprises entre les limites d'acceptabilité, cela signifie donc que le risque d'obtenir un résultat hors de l'intervalle de tolérance est de 5%

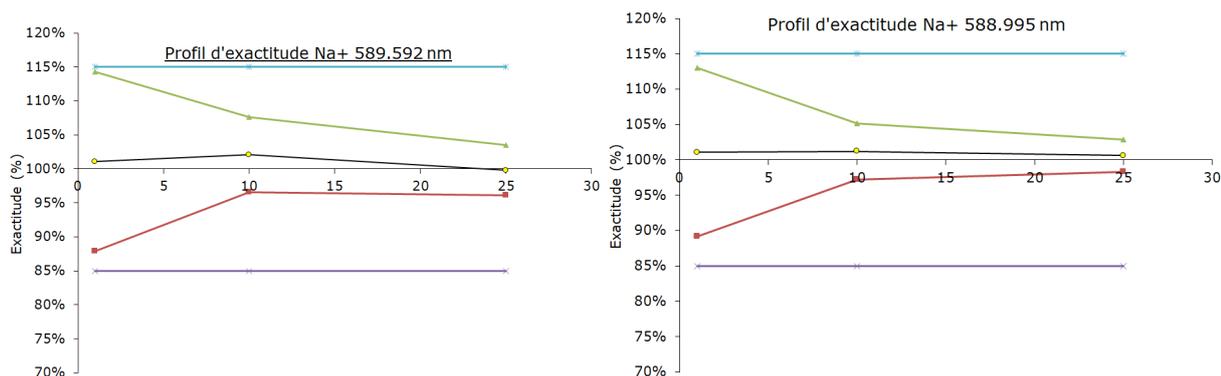
Figure 13 - profils d'exactitude du potassium



Le profil d'exactitude pour le sodium qu'il soit analysé à la longueur d'onde de 589.592 nm ou 588.995 nm, montre un taux de recouvrement proche de 100% (Figure 14).

Les limites de tolérance haute et basse se rapprochent des limites d'acceptabilité pour les faibles concentrations en sodium (à 1 mg/L), ce qui objective là aussi une limite de quantification entre 0 et 1 mg/L. la droite de recouvrement est comprise entre les limites d'acceptabilité à 95% et de tolérance à 15%, la qualification est donc validée aux objectifs fixés.

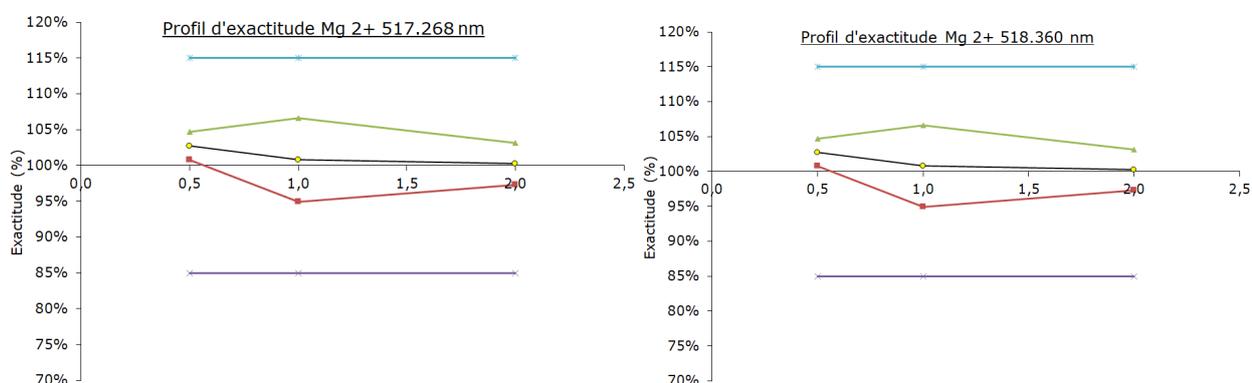
Figure 14 - profils d'exactitude du sodium



Les profils d'exactitude pour le magnésium aux longueurs d'onde 517,268 et 518,360 nm valident la qualification dans le domaine de concentration allant de 0,5 à 2 mg/L puisque l'on observe que les limites de tolérances sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans ce domaine de concentrations (Figure 15). Le pourcentage de recouvrement est très proche de 100%.

Les limites de tolérance sont bien distinctes des limites d'acceptabilité pour la concentration basse ce qui objective une limite de quantification inférieure à 0,5 mg/L.

Figure 15 - profils d'exactitude pour le magnésium



D. Discussion

1. Analyse des résultats

Les résultats de cette mise en place de méthode de dosage analytique, présentés dans le *Tableau 19*, sont tous sous les seuils limites précédemment définis. Ceci nous permet de conclure à la conformité de nos résultats et donc à la validation de la mise en place de la méthode d'analyse par spectrométrie d'émission atomique à plasma microonde pour le dosage des ions présents dans les échantillons de nutrition parentérale destinés à la néonatalogie.

Tableau 19 - synthèse des résultats avec seuil de validité

Paramètre testé	Seuils	Na		K		Mg		Ca		interprétation
		588.995 nm	589.592 nm	766.491 nm	569.897nm	517.268 nm	518.360 nm	396.847 nm	422.673 nm	
Répétabilité	<ul style="list-style-type: none"> CV < 5 % 	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	Conforme ✓
Fidélité intermédiaire	<ul style="list-style-type: none"> CV < 5 % 	4.30 1.44 1.32	4.62 1.86 1.56	2.53 1.11 1.40	2.45 0.90 1.04	1.26 2.00 1.27	0.97 2.14 1.21	1.78 1.82 1.38	1.86 1.59 1.30	Conforme ✓
Justesse	Biais relatif < ou = 5 %	1 1.2 0.68	1 2.1 0.24	3 1.2 1.36	2 1.5 1.64	2 0 -0.5	2 1 0	-1 2.2 -2.9	1 0.8 0.2	Conforme ✓
Contamination inter échantillon	% Contamination < 1 %	0.07	0.03	0.06	0.07	0.17	0.17	0.03	0.03	Conforme ✓
Exactitude	Acceptabilité < 15 % Tolérance 95 %	Conforme ✓								
Linéarité	<ul style="list-style-type: none"> R > 0.99 pende à 1 l'ordonnée à 0 	Conforme ✓								

Lorsque nous analysons ces résultats, nous constatons que bien qu'ils soient tous conformes, les résultats pour le sodium et potassium sont, pour les concentrations moyenne et haute, meilleurs que pour la concentration faible de la gamme d'étalonnage.

Cela est visible aussi bien pour les tests de fidélité intermédiaire ou les CV sont plus élevés pour les faibles concentrations que pour le biais relatif des tests pour le potassium. Mais cela est surtout visible au niveau des profils d'exactitude puisque pour les valeurs faibles, les limites de tolérance et d'acceptabilité se rapprochent.

Cette constatation n'est pas applicable au magnésium et au calcium. Cela peut s'expliquer par le fait que la gamme d'étalonnage est plus étendue pour le sodium et le potassium que pour le calcium et le magnésium.

Si nous reprenons le [Tableau 2](#), nous pouvons constater que la caractérisation inter laboratoire ou reproductibilité n'est pas intégrée à notre protocole de qualification. Cela s'explique par le fait que la caractérisation de méthode analytique est basée sur son utilisation en routine. En effet, l'alternative choisie en cas de défaillance du système n'envisage pas un contrôle par dosage des échantillons dans un autre laboratoire du fait des contraintes horaires imposées par les clients (production réalisée "extemporanément" le jour du branchement de la poche de nutrition parentérale au patient). En cas de défaillance de l'appareil, les poches de nutrition parentérale seront produites en double contrôle visuel effectué par un préparateur en zone de production (contrôle des produits injectés, volumes... conformément à la fiche de fabrication).

L'effet matrice n'a pas été testé dans ce protocole. Différentes hypothèses ont été formulées parmi lesquelles celle de négliger l'effet matrice au vu de la dilution au 1/100^e des échantillons. Finalement nous avons préféré simuler ce potentiel effet matrice en préparant nos échantillons dans une solution d'osmolalité égale à 1500 mOsm. Ceci nous a permis d'effectuer les tests dans des conditions mimant les conditions réelles. Le choix d'une osmolalité à 1500 mOsm est basé sur l'osmolalité moyenne représentative de nos échantillons de routine, qui dépasse rarement 1800 mOsm.

Concernant les résultats de la qualification opérationnelle, le choix de la dilution au 1/100^e simplifie l'étape de pré-analytique puisque nous travaillons dans des tubes à essai de 16 mL, la prise d'essai est donc plus confortable avec un volume d'échantillon de 100 µL dans 10 mL (1/100^e), qu'avec un volume d'échantillon de 20 µL dans 10 mL, (1/500^e). Agilent présente les résultats d'analyse des poches de nutrition parentérale obtenu par le MP AES 4210 avec des échantillons dilués au 1/500^e car les tubes utilisés ont une contenance de 50 mL (tubes Falcon™), ce qui permet de réaliser des dilutions jusqu'à 1/500^e en maintenant une prise d'essai de volume suffisant pour éviter les erreurs de dilution (homogénéisation, précision du prélèvement). En pratique quotidienne, ces tubes sont moins avantageux dans notre cas puisque cela représente une grande consommation d'eau ultra pure acidifiée 1% HNO₃ et un temps de préparation considérablement augmenté.

2. Retour d'expérience

Depuis l'installation du MP AES 4210 d'Agilent®, nous constatons peu de non-conformités (NC) liées au processus « contrôle ». Les non conformités observées sont essentiellement liées à l'étape pré analytique. En effet, de nombreuses NC liées à la réalisation des préparations ont été levées après une seconde dilution de l'échantillon et une seconde analyse.

A côté de cela, le MP AES 4210 qualifié a permis de déceler des erreurs de préparations telles que l'oubli d'ajout des « petits » volumes (dont font partie le NaCl, KCl, gluconate de calcium, magnésium, Phocytan® et Junimin®) qui ne se constate pas à la pesée des poches, ou bien des erreurs de volumes de préparation.

Depuis la mise en place en routine, nous n'avons que rarement rencontré des préparations dont les concentrations en sodium, potassium, magnésium et calcium dépassent les valeurs hautes de la gamme d'étalonnage. Par exemple, si on dilue au 1/100^e un échantillon de concentration supérieure à 100 µmol/L de sodium dans la poche (≈ 25 mg/L dans la gamme d'étalonnage en tenant compte de la dilution), l'analyse sera rendue comme ininterprétable puisque le signal est saturé et en dehors de la gamme de calibration et donc en dehors du domaine d'analyse.

Les quelques poches concernées par des concentrations élevées, notamment en sodium, sont préalablement détectées suite aux calculs théoriques réalisés sur les fiches de fabrication ([Annexe 2](#)), ce qui nous permet d'avertir les préparateurs qu'un double contrôle de tous les volumes est à réaliser sur la préparation. Une procédure de dilution par entrainement avant l'analyse par le spectromètre d'émission atomique à plasma micro-onde a été mise en place dans le cas où une poche, dont les concentrations en éléments ne sont pas comprises dans la gamme de validation, n'est pas produite en double contrôle.

Avec la qualification et ce retour d'expérience, nous avons donc prouvé que le MP AES d'Agilent, spectromètre d'émission atomique à plasma micro-onde, est une technique novatrice et fiable pour les analyses des ions dans les préparations de nutrition parentérale pédiatrique.

C'est une technique qui se déploie dans les unités de contrôle des poches de NP de France. Des CHU comme Lyon et Bordeaux ont été précurseurs dans la mise en place de cette technique. D'autres comme le CHU de Lille et de Grenoble sont en cours de qualification sur ce même appareil.

3. Mise en place du MP AES 4210 dans les autres centres français : une uniformisation de la méthode de contrôle des PNP ?

D'autres centres hospitaliers français, qui utilisaient également un photomètre de flamme, ont dû changer de méthode de contrôle des poches de nutrition parentérale, suite à l'arrêt de maintenance du photomètre de flamme. Certains de ces centres ont choisi le MP AES 4210 d'Agilent® pour le dosage des ions dans les poches de NP. Ceci nous a permis, en réalisant de la bibliographie et en contactant ces centres, de « comparer » leurs protocoles au notre.

Bien que des guides comme le guide de l'ANSES ou la SFSTP nous aiguillent dans la démarche à suivre pour la qualification de méthodes analytiques, ces derniers sont soumis aux contraintes qui entourent l'activité de préparation et de contrôle.

Globalement, les mêmes tests sont effectués quel que soit les activités des centres qui ont mis en place le MP AES 4210 d'Agilent® (adulte ou néonatalogie). Seules quelques différences n'impactant pas la qualification en elle-même sont à noter.

En effet, certains centres produisent des poches de nutrition parentérale pour adulte et néonatalogie, leur gamme de concentrations (gamme d'étalonnage) varie plus largement que pour nos échantillons qui sont exclusivement « pédiatriques ». Bien que les gammes soient différentes en concentrations, nous constatons que tous utilisent 3 points de calibration en plus du blanc.

La problématique des centres préparant des PNP, à la fois pour adultes et pour enfants – nourrissons, est que les concentrations en éléments varient fortement d'un échantillon à l'autre. Certains centres ont solutionné le problème en réalisant des dilutions variables (du 1/100^e au 1/1000^e) en fonction de la concentration théorique attendue des différents éléments. Ainsi en réalisant des dilutions variables, les échantillons analysés sont tous compris dans une gamme de validation allant de 0,2 à 5 mg/L. Notre centre réalise les poches de NP uniquement pour des services de néonatalogie, nous avons donc choisi de réaliser une gamme plus étendue avec une dilution des échantillons unique au 1/100^e qui suffit à analyser la grande majorité de nos échantillons.

De plus ce choix a également été fait dans le but de simplifier l'étape pré-analytique car c'est au pharmacien en poste sur les préparations stériles d'effectuer les contrôles. Il est donc important de conserver une étape de contrôle simple et rapide, pour éviter les erreurs liées à cette étape de pré analytique et livrer les préparations conformes dans le respect de nos délais.

Concernant l'éventuel effet matrice, un centre que nous avons contacté a choisi de le négliger en réalisant les tests dans le blanc. Un autre centre a choisi de procéder différemment en reproduisant la matrice en préparant ses échantillons dans du smofkabliven® (d'osmolarité ≈ 1300 mOsmol/L). Notre méthode se rapproche de ce choix de simuler l'effet matrice.

La contamination inter échantillon n'est pas présentée dans les qualifications des autres centres. Nous avons choisi de la tester puisque la sonde de prélèvement de l'échantillon est complètement immergée dans la solution à analyser et, bien qu'elle soit rincée entre chaque prélèvement par immersion dans de l'eau ultra pure acidifiée 1% HNO₃, il nous a paru important de vérifier le bon fonctionnement de l'étape de rinçage en testant la contamination inter échantillon.

Nous avons également choisi, de réaliser nos tests de répétabilité sur 20 échantillons (20 répétitions) dans le but premier de nous assurer de la fiabilité de l'analyse sur le nombre moyen d'échantillons d'une production journalière et également dans le but d'estimer le temps d'analyse de routine sur une série d'échantillons puisque nous craignons au départ d'allonger la durée de contrôle en analysant d'autres ions. Bien que la durée d'analyse s'avère en effet légèrement plus longue, le fait d'analyser les échantillons en multi élémentaires permet de tenir nos délais par rapport aux contraintes horaires qui nous sont imposées.

4. Maintenances préventives

L'ANSES recommande de procéder à une validation et qualification de la méthode en cas de modifications majeurs telles que changement d'analyse, modification des gammes(10)... Se pose alors la question de la durée de cette fiabilité d'analyse dans le temps. Nous nous sommes interrogés sur le fait de requalifier la méthode ponctuellement (répétabilité, linéarité, fidélité intermédiaire) et avons choisi de procéder à de nouveaux tests tous les 2 ans pour s'assurer de la fiabilité de nos analyses. A côté de cela nous avons mis en place des procédures de nettoyage, maintenance et calibration qui permettent de maintenir l'appareil dans un état de fonctionnement optimal et donc de garantir une qualité constante dans le temps de nos analyses.

Tout au long de la vie de l'appareil, plusieurs actions préventives sont donc réalisées :

- Un nettoyage hebdomadaire de la torche nous permet de prévenir le dépôt de sel, traces qui encrassent la torche. Une seconde torche a également été achetée afin de palier au défaut éventuel de la torche en fonctionnement au cours de nos analyses ; sachant qu'une torche a une durée de vie de 6 mois à un an en fonction de son utilisation.
- Après chaque séance d'analyse un rinçage final des tubulures et de la chambre de nébulisation est effectué avec de l'eau ultra pure acidifiée 1% HNO₃ puis de l'eau ultra pure dans le but de prévenir les dépôts qui pourrait boucher le système.
- Une maintenance annuelle a également été mise en place permettant de vérifier le bon fonctionnement de l'appareil.
- Une calibration mensuelle est réalisée à l'aide d'une solution fournie par Agilent®. Cette solution permet d'étalonner les longueurs d'onde détectées par le CDD.
- Un « test instrument » est réalisé tous les 6 mois. Ce sont des tests pré-paramétrés dans le logiciel MP Expert qui vérifient l'intégrité des éléments qui composent le MP AES 4210 et leur bon fonctionnement (optique, torche...)
- Un contrôle quotidien des gaz est également réalisé avant chaque allumage de la torche.

5. Perspectives d'évolution

Lors de la qualification de l'appareil nous nous sommes basés sur le dosage de quatre ions en gardant la possibilité d'étendre les analyses à d'autres éléments.

Suite à une hyperphosphatémie découverte chez un nourrisson alimenté par nutrition parentérale, un médecin du service de néonatalogie nous a interrogé sur la possibilité de doser le phosphore dans les préparations de nutrition parentérale. Une analyse rétrospective des préparations produites nous a permis de déterminer les concentrations moyennes en phosphore contenues dans les poches de NP. Ces calculs théoriques de concentration des ions phosphates dans nos échantillons ont permis de fixer les valeurs « basse, moyenne et haute » de la gamme d'étalonnage.

Les trois points de gamme choisis étaient 1, 5 et 20 mg/L. Nous avons ensuite procédé à des tests de faisabilité en prenant 30 échantillons de notre production et 30 échantillons de concentrations connues (1, 5 et 20mg/L) préparés à partir des solutions standards fournies par Agilent.

La longueur d'onde d'analyse du phosphore recommandée est à 213.618nm. Les résultats obtenus ont été comparés aux concentrations théoriques attendues. Notre objectif était d'obtenir un biais inférieur à 10% (entre la valeur mesurée et la valeur attendue).

Les résultats divergeaient de 20 % des valeurs attendues. Devant ces résultats décevants, l'intensité du signal a été étudiée avec plus d'attention. En effet, l'intensité de signal du phosphore est plus faible que celle des autres éléments analysés (Na^+ et K^+ sont 200 fois plus intenses, Ca^{2+} 500 fois et Mg^{2+} 20 fois) et nécessite d'utiliser des concentrations plus importantes pour la gamme d'étalonnage. Nous avons donc testé une nouvelle gamme beaucoup plus concentrée en phosphore : 100, 200 et 500 mg/L. De meilleurs résultats ont été obtenus avec un biais relatif moyen de 15% mais nous n'avons pas atteint notre objectif (fixé à 10%).

Ces fortes concentrations ont fait apparaître un nouveau problème. Comme nos analyses en routine sont faites en multi-élémentaire, chaque point de gamme contient les 4 éléments qui sont dosés simultanément dans un seul échantillon (5 éléments si on ajoute le phosphore). Or, la quantité de phosphore nécessaire pour la nouvelle gamme semble interférer dans les analyses et fausser les résultats des autres éléments. Le dosage en routine du phosphore en multi-élémentaire n'est pas réalisable dans nos conditions de travail. Cependant la problématique médicale soulevée reste pertinente. Nous travaillons sur l'amélioration de la précision des résultats pour proposer à nos praticiens un dosage ponctuel du Phosphore en mono-élémentaire sur demande. Deux pistes sont à l'étude : l'augmentation du temps de lecture du signal et la possibilité de moins diluer nos échantillons dans le respect des contraintes techniques de l'appareil.

III. Actions qualité sur la mise en place et le suivi

Comme les industriels, les Pharmacies à Usage Intérieur (PUI) doivent garantir la conformité de leurs produits. Pour cela, des processus qualité sont mis en place au sein des unités de préparations des PUI.

La qualité se présente sous plusieurs aspects :

- contrats entre les clients (services de soin, sous-traitants) et l'unité
- procédures et fiches techniques permettant le bon fonctionnement de l'unité
- formations
- management de la qualité et suivi (indicateurs qualité)

L'unité de préparations stériles du CH de Valenciennes est un service certifié ISO 9001 depuis 2011, c'est pourquoi la qualité prend une part importante dans l'activité.

A. Textes réglementaires et normes : exigences sur la mise en place d'un nouvel appareil de contrôle.

1. Les bonnes pratiques de préparations (BPP)

L'article L.5121-5 du CSP précise que "la préparation de médicaments doit être réalisée en conformité avec les bonnes pratiques".

Les BPP sont le guide objectivant les exigences à mettre en place pour les préparations, et notamment les préparations magistrales, que sont les poches de nutrition parentérale à la carte.

Elles définissent entre autres que :

- "Les appareils, équipements et installations de préparation ou de contrôle sont qualifiés avant utilisation"((7) chapitre 1.1.11).
- « La qualification d'un nouvel appareil doit faire appel aux qualifications d'installation, opérationnelle et de performances (QI, QO, QP) » (7).
- "Toute méthode de préparation et de contrôle est validée avant sa mise en œuvre"(7).
- "Le personnel est qualifié et régulièrement formé aux activités de contrôle"((7)chapitre 2.2).
- "Des procédures écrites sont disponibles pour l'échantillonnage, l'analyse [...]des préparations terminées".(7)

Ces textes réglementaires sont obligatoirement suivis par toute PUI souhaitant produire des préparations stériles.

2. La norme ISO 9001

La certification n'est pas obligatoire pour produire des préparations magistrales ou hospitalières en PUI. Elle apporte cependant aux clients une garantie supplémentaire de la qualité du circuit de préparation et contrôle.

Les exigences à satisfaire pour qu'une unité de production soit certifiée sont celles qui découlent de la norme NF EN ISO 9001 de 2015. Cette norme européenne, basée sur la norme internationale ISO 9001:2015, est homologuée par l'Association française de normalisation (AFNOR), elle a donc le statut de norme française.

Ces exigences sont centrées sur le management de la qualité permettant de :

- satisfaire le client
- Démontrer qu'un produit est conforme aux exigences du client, légales et réglementaires.

Pour cela, différentes approches de la qualité sont à envisager :

- approche par processus suivant la roue de Deming ou « PDCA » pour planifier (Plan), Réaliser (Do), Vérifier (Check), Agir (Act), tout au long du cycle de vie de la méthode analytique (*Figure 16*)
- approche par les risques

Lors de cette mise en place de nouvelle méthode analytique de dosage des ions pour le contrôle des poches de nutrition parentérale, les deux approches ont été prises en compte.

Figure 16 - approche par processus : le PDCA



L'approche par les risques consiste notamment en la réalisation d'analyse de risques pour les prévenir et y être préparé en cas de survenue.

La norme ISO 9001 objective non seulement les ressources pour la surveillance et la mesure ((14) chapitre 7.1.5.1) mais également les compétences ((14) chapitre 7.2) par le biais des formations et de la planification et maîtrises opérationnelles (procédures de contrôles).

a. Approches par risques

1. Application d'un outil qualité performant SWOT (MOFF)

a) Définition du SWOT

Le SWOT ou MOFF pour Menaces, Opportunités, Faiblesses et Forces est un outil qualité qui permet d'obtenir une vue d'ensemble sur une situation dans le but de prendre une décision plus sereinement.

b) Application d'un outil qualité performant SWOT (MOFF) dans le choix d'un appareil de contrôle des poches de nutrition parentérale

Cet outil a été utilisé, pour le choix de l'appareil lors du remplacement du photomètre de flamme IL943 Werfen ® devenu obsolète, lors de l'appel d'offre opposant trois fournisseurs :

- Agilent avec le MP AES 4210 (appareil 1 noté App 1) spectromètre d'émission atomique à plasma micro-ondes
- Ainsi que deux autres fournisseurs de photomètres de flamme :
 - Servilab avec le Sherwood 420 (App 2)
 - Krüss avec le FP8000 (App 3)

Le SWOT réalisé lors de brainstorming multidisciplinaire (pharmacien, interne en pharmacie, ingénieur biomédical, ingénieur qualité) a permis dans un premier temps d'objectiver les forces et faiblesses des différents appareils. Le *Tableau 20* détaille ces forces et faiblesses.

Tableau 20 - SWOT : forces et faiblesses

FORCES			FAIBLESSES		
App 1	App 2	App 3	App 1	App 2	App 3
Analyse performante : ions analysés Na, K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , augmentation des points de contrôles Alimentation en gaz par prise murale : éviter les risques présents avec des bouteilles. Gaz peu couteux	Courbe d'apprentissage facilité basée sur la technique déjà en place Prix compétitif	Courbe d'apprentissage facilité basée sur la technique déjà en place Ergonomie de l'appareil	Ajout d'une étape de pré analytique : risque d'erreur Courbe d'apprentissage du matériel plus complexe. Prix élevé	Défaut de sécurité par la présence de bouteille de gaz. Gaz couteux Manque d'ergonomie : utilisation peu intuitive	Défaut de sécurité par la présence de bouteille de gaz. Gaz couteux Prix élevé

Ces caractéristiques propres à chaque équipement, ont permis d'orienter notre choix en faisant la balance des forces et faiblesses en faveur de l'appareil 1 (MP AES du fournisseur Agilent®).

Les opportunités et menaces ont ensuite été *mises en avant* comme décrit dans le [Tableau 21](#).

Tableau 21 - SWOT : opportunités et menaces

Opportunités	Menaces
Augmente la satisfaction client : méthode plus performante, dosage d'ions supplémentaires	Augmentation du temps de contrôle entraînant un retard de livraison
Augmentation de l'activité de contrôle puisque l'appareil permet le dosage d'éléments présents dans les eaux de dialyse...	Rupture de l'approvisionnement en standard d'étalonnage et consommables
	Pannes : coupures de gaz et courant

Cet outil efficient d'aide à la décision lors de l'acquisition d'un nouvel appareil de contrôle a permis d'effectuer un choix en connaissance du rapport bénéfices/risques de la technique et de nos contraintes de production.

2. Analyse AMDEC : maîtriser les risques à l'installation d'un nouvel équipement de mesures des ions dans les préparations de nutrition parentérale pédiatriques

Le risque se définit en qualité sous la forme de l'équation suivante :

$$\text{Risque} = \text{Probabilité d'occurrence} \times \text{Effet ou Conséquence (Gravité)}$$

Il est important pour un responsable d'un processus à haut risque, comme le contrôle libérateur de préparation de NP pédiatrique, de pouvoir identifier les risques, de les quantifier, pour ainsi mettre en place des procédures de sécurisation. C'est pourquoi, lors de l'installation du spectromètre d'émission atomique à plasma micro-ondes MP AES 4210 d'Agilent, une analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité (AMDEC) a été réalisée face à la période de transition entre l'ancienne méthode (photomètre de flamme) et la nouvelle méthode (spectrométrie d'émission atomique à plasma micro-onde) afin d'anticiper un arrêt des analyses et le recours à la production en mode dégradée.

L'analyse AMDEC a été réalisée par *brainstorming* en présence du pharmacien responsable de l'unité de contrôle, du pharmacien chef de l'unité, de l'interne en poste et du PPH référent de l'appareil, afin de s'approprier le risque avec une vision globale de l'ensemble du processus. La méthodologie a ensuite été validée par un ingénieur qualité.

Le but est d'identifier les risques et d'estimer leur indice de criticité pour mettre en place les actions permettant de les maîtriser.

L'indice de criticité (IC) se calcule selon l'équation suivante :

$$\text{IC} = \text{Gravité} \times \text{Fréquence} \times \text{Déteçtabilité}$$

L'échelle de gravité de l'IC est la suivante :

1 < IC < 8	Négligeable : à surveiller
8 < IC < 14	Moyenne : procédure/documents à rédiger
14 < IC < 27	Élevée : action à mettre en place
27 < IC < 64	Interdit

Pour chaque entité de l'équation de l'IC, une valeur est appliquée selon la grille suivante :

Gravité	Fréquence	Défectabilité
1 = mineure	1 = exceptionnel	1 = évidente
2 = moyenne	2 = Rare	2 = Possible
3 = majeure	3 = Fréquent	3 = improbable
4 = importante	4 = Certain	4 = Impossible



Les résultats de l'AMDEC sur l'installation du nouvel appareil (présentés en [Annexe 1](#)) ont montré que sur les huit risques identifiés, 3 concernent le processus « Gérer la maintenance », 3 le processus « achat/approvisionnement » et 2 le processus « assurer les compétences et gestion des ressources humaines ». Les processus sont listés dans le « tableau de suivi des déclarations, risques et NC » de l'unité et permettent de catégoriser ces différents risques et non conformités. Par exemple pour le processus « gérer la maintenance » différents items lui sont associés : planification, maintenance préventive, curative, contrôle réglementaire, étalonnage, installation, ...

Ces risques sur l'installation étaient tous considérés comme de criticité « moyenne », entre 8 et 12 d'indice de criticité. Leur gravité est limitée, leur probabilité faible et leur détectabilité bonne.

Sur les 8 risques identifiés, 4 se positionnent en amont de l'installation (retard dans la procédure d'achat, travaux non réalisés, retard de livraison) et 4 concernent la mise en place en routine de l'analyse (retard dans la rédaction de procédure, qualification non conforme, rupture de consommables, retard de formation). Pour chacun des risques, une procédure ou une mesure a pu être mise en place.

Prenons pour exemple le risque à priori « qualification de l'appareil non conforme »(Cf. [Annexe 1](#)). L'effet serait donc un retard dans la mise en place en routine de l'analyse et donc un recours à une

production en mode dégradé, c'est-à-dire en double contrôle visuel (un préparateur contrôle l'étiquetage, le produit, les volumes injectés, ... conformément à la fiche de fabrication). La cause de ce risque serait une mauvaise gestion du plan de qualification (installation, opérationnelle et de performances). L'indice de criticité est calculé de la manière suivante :

- gravité : 3 « majeure » puisque la qualification serait à refaire
- fréquence : 2 « rare »
- détectabilité : 2 « possible » puisque les résultats nous informent de la validité de la qualification.

$$IC = 3 \times 2 \times 2 = 12$$

La criticité est donc considérée comme « moyenne », ce qui nous a imposé la rédaction d'un cahier des charges et la réalisation de réunions de suivi d'avancement de la qualification.

b. Acquisition des compétences par le biais des formations et de la planification et maîtrises opérationnelles (procédures)

La norme ISO 9001 (14) définit les compétences nécessaires à acquérir et leur moyen d'acquisition pour toute personne effectuant une tâche ayant une incidence sur les performances et l'efficacité du système de management de la qualité.

1. Formations

La première étape de ce volet "compétences" est d'identifier celles qui sont nécessaires pour effectuer la tâche. Une grille de compétences a donc été établie. Elle permet de prévoir les formations et évaluations à mettre en œuvre pour l'acquisition de la technique (*peut être fournie sur demande*).

La formation est à destination des pharmaciens, internes et préparateur et se présente sous la forme:

- d'une formation théorique : un diaporama de présentation du fonctionnement de l'appareil ainsi que la présentation des différentes procédures permettent d'appréhender l'utilisation de l'appareil.
- d'une formation pratique : permet la mise en application des procédures sous l'œil du pharmacien responsable du laboratoire de contrôle
- et d'une évaluation : sous forme de questionnaire de connaissances mais également une évaluation par la mise en pratique. Ces évaluations permettent de valider les acquis et d'habiliter à l'utilisation de l'appareil.

Une réévaluation des compétences régulière, tous les 2 ans ou à chaque changement majeur dans la technique, est également programmée avec la mise en pratique d'une situation de routine ainsi que la mise en pratique d'une situation problématique à résoudre.

2. Procédures d'utilisation du MP AES 4210

Afin de sécuriser le processus de contrôle, de nombreuses procédures ont été rédigées afin d'harmoniser les pratiques et d'éviter les erreurs de manipulation de l'appareil. Les différentes procédures rédigées lors de la mise en place de l'appareil de spectrométrie d'émission atomique à plasma micro-onde MP AES 4210 d'Agilent®, sont :

- procédure d'allumage
- procédure de préparation des échantillons (pré analytique)
- procédure de fonctionnement de l'analyse
- procédure d'arrêt
- procédures de maintenance et nettoyage
- procédure générale objectivant les situations particulières

3. Indicateurs mis en place

Un indicateur est un outil de mesure de survenue d'un événement considéré ici comme indésirable, c'est-à-dire perturbant l'activité de contrôle. Les indicateurs choisis sont des outils permettant d'évaluer le bon fonctionnement de l'appareil.

Les indicateurs ajoutés à la revue des non-conformités pour ce nouvel appareil de contrôle sont :

- taux de panne de l'appareil
- changement de bouteille d'argon nécessaire en cours d'analyse
- changement de torche nécessaire en cours d'analyse
- changement de capillaire nécessaire en cours d'analyse
- pannes inexplicables
- taux de non conformités dues à l'appareil
- taux de non conformités dues à des erreurs de pré analytique (erreur de manipulation).
- taux de réalisation des maintenances préventives

Une revue des non-conformités est réalisée régulièrement (tous les mois) ce qui permet de constater l'évolution de l'appareil au cours de sa vie et d'anticiper les défauts majeurs en réalisant par exemple des maintenances préventives plus fréquentes en cas de vieillissement prématuré de l'appareil.

Le retour d'expérience, nous a permis de mettre en évidence les points sensibles de cette analyse qui sont principalement basées sur le pré analytique. Des points sensibles comme les impératifs de changement des composants de la machine ont pu être palliées par l'achat de « consommables » et d'éléments de rechange.

IV. Conclusion

La mise en place de la technique de spectrométrie d'émission atomique à plasma microonde du MP AES 4210 d'Agilent pour le contrôle quantitatif, par dosage du sodium, potassium, calcium et magnésium, des poches de NP produites pour le service de néonatalogie, a été réalisée avec succès conformément aux BPP et à la réglementation en vigueur.

Cette mise en place s'est basée sur la qualification de l'appareil avec différents outils d'aide à la qualification tels que le guide de validation de l'ANSES et de la SFSTP. Elle a permis d'étendre les contrôles quantitatifs en ajoutant le dosage de deux éléments supplémentaires.

Le contrôle des poches de NP par le MP AES 4210 d'Agilent® est donc mis en place en routine dans l'unité de production, et continue à se développer sur le principe de la roue de Deming dans le but de toujours améliorer la qualité des produits finis.

Les « outils qualité » mis en place tout au long de l'installation de l'appareil et dans le suivi de son activité en routine permettent à l'unité de maintenir la certification ISO 9001 qui est un gage de la qualité de notre système de production dont le contrôle fait partie.

Bibliographie

1. Haute Autorité de Santé - Nutrition parentérale en néonatalogie - Recommandation de bonne pratique [Internet]. [cité 19 août 2020]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2859140/fr/nutrition-parenterale-en-neonatalogie-recommandation-de-bonne-pratique
2. Cherif A, Sayadi M, Ben Hmida H, Ben Ameer K, Mestiri K. Évaluation des erreurs d'administration des médicaments injectables en néonatalogie. *Ann Pharm Fr.* 1 nov 2015;73(6):461-70.
3. Bonnes pratiques de préparation - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 19 août 2020]. Disponible sur: [https://www.anism.sante.fr/Activites/Elaboration-de-bonnes-pratiques/Bonnes-pratiques-de-preparation/\(offset\)/7](https://www.anism.sante.fr/Activites/Elaboration-de-bonnes-pratiques/Bonnes-pratiques-de-preparation/(offset)/7)
4. Evaluation des pratiques en matière de nutrition parentérale pédiatrique [Internet]. [cité 30 août 2020]. Disponible sur: <http://www.igas.gouv.fr/spip.php?article460>
5. 5991-7282EN_MP-AES-eBook.pdf [Internet]. [cité 24 août 2020]. Disponible sur: https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-7282EN_MP-AES-eBook.pdf
6. 5991-6593_Agilent_Atomic Spectroscopy_Hardware_FR.pdf [Internet]. [cité 30 août 2020]. Disponible sur: https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/Public/5991-6593_Agilent_Atomic%20Spectroscopy_Hardware_FR.pdf
7. Bonnes pratiques de préparation - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 19 août 2020]. Disponible sur: [https://www.anism.sante.fr/Activites/Elaboration-de-bonnes-pratiques/Bonnes-pratiques-de-preparation/\(offset\)/7](https://www.anism.sante.fr/Activites/Elaboration-de-bonnes-pratiques/Bonnes-pratiques-de-preparation/(offset)/7)
8. Netgen. Dismagnésémies [Internet]. *Revue Médicale Suisse.* [cité 30 août 2020]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2007/RMS-101/32133>
9. Ali A, Walentik C, Mantych GJ, Sadiq HF, Keenan WJ, Noguchi A. Iatrogenic Acute Hypermagnesemia After Total Parenteral Nutrition Infusion Mimicking Septic Shock Syndrome: Two Case Reports. *Pediatrics.* 1 juill 2003;112(1):e70-2.
10. ANSES_GuideValidation.pdf [Internet]. [cité 19 août 2020]. Disponible sur: https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_GuideValidation.pdf
11. ISO 5725-2:1994(fr), Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 2: Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée [Internet]. [cité 29 août 2020]. Disponible sur: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5725:-2:ed-1:v1:fr>
12. Hubert Ph, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal – Part II. *J Pharm Biomed Anal.* 21 sept 2007;45(1):70-81.
13. Feinberg - 2010 - Mise en œuvre du profil d'exactitude.pdf [Internet]. [cité 29 août 2020]. Disponible sur: https://www6.inrae.fr/cahier_des_techniques/content/download/3289/31792/version/1/file/27_Feinberg_Valid.pdf
14. ISO - ISO 9000 — Management de la qualité [Internet]. ISO. [cité 29 août 2020]. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/iso-9001-quality-management.html>

Annexes

Annexe 1 : Analyse AMDEC - maîtriser les risques à l'installation d'un nouvel équipement de mesures des ions dans les préparations de nutrition parentérale pédiatriques

Processus concerné / Étape du processus	Risque <i>A priori</i>	Risque Patient	Risque Utilisateur	Risque Produit	Risque personnel labo de contrôle	Effets du risque	Cause du risque	Cotation				Actions mises en place
								G	F	D	GxFxD	
Gérer la maintenance	Non réalisation des travaux de la gaine d'aspiration		x			Retard installation MP AES 4210	Mauvaise gestion par services techniques de l'hôpital	2	2	2	8	Suivi régulier par mail avec biomédical et service maintenance - énergie
Achat/Approvisionnement	Retard procédure d'achat		x			Retard installation MP AES 4210	Mauvaise gestion par services techniques de l'hôpital	2	2	2	8	Relance régulière par le biomédical de la cellule achat
Gérer la maintenance	Non-respect contraintes installation		x			Retard installation MP AES 4211	Mauvaise gestion par services techniques de l'hôpital	2	2	2	8	Suivi régulier par mail avec biomédical et service maintenance énergie
Achat/Approvisionnement	Retard livraison MP AES 4210		x	x		Indisponibilité photomètre de flamme et production en mode dégradée	Non-respect calendrier fournisseur	3	2	2	12	Suivi rapproché fournisseur, date d'installation imposée dans le cahier des charges fournisseur
Gérer la maintenance	Qualification MP AES 4210 non conforme		x	x		Retard mise en place en routine et recours production en mode dégradée	Mauvaise gestion par le pharmacien responsable	3	2	2	12	Rédaction cahier des charges, réunions de suivi de l'avancement
Achat/Approvisionnement	Rupture consommable photomètre de flamme avant la fin de la qualification du MP AES 4210		x	x		Recours à la production en mode dégradé	Mauvaise gestion par le pharmacien responsable	3	2	2	12	NA (le fournisseur Werfen ne produit plus ses consommables, il écoule juste ses stocks)
Assurer compétences et Gestion RH	Retard de rédaction des procédures		x	x	x	Erreurs de manipulation matériel et perte de temps	Problème disponibilité pharmacien responsable	2	2	2	8	Dossier gestion modification
Assurer compétences et Gestion RH	Retard de réalisation de la formation utilisateurs		x	x	x	Erreurs de manipulation matériel et perte de temps	Problème disponibilité pharmacien responsable	3	2	2	12	Dossier gestion modification

Université de Lille

FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2019/2020

Nom : WILECZEK
Prénom : Amandine

Titre du mémoire / thèse : Mise en place d'un appareil de spectrométrie d'émission atomique à plasma microonde dans le contrôle des poches de nutrition parentérale pour la néonatalogie au sein d'une unité certifiée ISO 9001.

Mots-clés : contrôle analytique, qualité, nutrition parentérale, norme ISO9001, Spectrométrie d'émission atomique à plasma microonde

Résumé :

Les préparations de nutrition parentérale (NP) pédiatriques à la carte sont des préparations magistrales qui nécessitent des contrôles libérateurs rigoureux permettant d'éviter les erreurs d'administration (sur/sous dosages) et ainsi de satisfaire le client. Ce mémoire a pour but de décrire la mise en place d'une méthode de contrôle quantitatif par dosage des éléments (Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) par spectrométrie d'émission atomique à plasma microonde en développant également les exigences à satisfaire pour la certification ISO 9001.

Selon les recommandations du guide de l'ANSES et de la SFSTP, les qualifications opérationnelles et de performances ont été effectuées pour la mise en place de la méthode en routine. Des tests de répétabilité, fidélité intermédiaire, justesse, linéarité, contamination intermédiaire, limite de quantification, ainsi que des profils d'exactitude ont été réalisés.

Les qualifications sont conformes et la méthode a donc pu être mise en place en routine. Des analyses de risques, formations et documents qualité ont en parallèle été mis en place pour aider au choix de l'appareil en connaissance des menaces, former et assurer le management de la qualité.

Membres du jury :

Président : Pr Decaudin, Bertrand, Doyen de la faculté de Pharmacie de Lille , PU-PH

Assesseur(s) : Dr Aurélien Mary - MCU-PH Amiens, Dr Dautel Dominique - PH Valenciennes, Dr Bulcourt Sandrine - PH Valenciennes