

**GUIDE D'EVALUATION DES INCERTITUDES
DE MESURES DES ANALYSES DE BIOLOGIE
MEDICALE**

Document LAB GTA 14

Révision 00 – Novembre 2006



SOMMAIRE

1. OBJET DU DOCUMENT	3
2. DEFINITIONS – REFERENCES	3
3. DOMAINE D'APPLICATION.....	4
4. MODALITE D'APPLICATION.....	5
5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS	5
6. MODALITE DE REEXAMEN	5
7. AVANT-PROPOS	6
8. ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF	6
9. QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE ?.....	8
9.1. Définir le mesurande	8
9.2. Analyse du processus de mesure	9
10. LES DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION DES INCERTITUDES DE MESURE POUR DES RESULTATS QUANTITATIFS D'ANALYSE	13
10.1. Présentation des approches intra-laboratoires et inter-laboratoires.....	13
10.2. Présentation de l'approche "méthode analytique" (chapitre 8 du GUM)	15
10.3. Présentation de l'approche "caractéristiques méthode" à partir de la validation de méthode.....	16
10.4. Présentation de l'approche "performance méthode"	18
10.5. Présentation de l'approche "essai d'aptitude" (comparaisons interlaboratoires).....	19
11. COUPLAGE DES METHODES "CARACTERISTIQUE METHODE" (CIQ) ET ESSAI D'APTITUDE (COMPARAISONS INTERLABORATOIRES) POUR LES ANALYSES QUANTITATIVES DE BIOLOGIE MEDICALE.....	20
11.1. Approche.....	20
11.2. Evaluation des incertitudes-types.....	21
11.3. Evaluation de la reproductibilité interne – Exploitation des CIQ.....	22
11.4. Evaluation de la justesse – Exploitation des EEQ.....	23
11.5. Evaluation de l'incertitude composée et de l'incertitude élargie	28
11.6. Expression du résultat de l'analyse.....	28
12. EXEMPLES DE CAS PRATIQUES	30
12.1. Cas de la glycémie	30
12.2. Autres exemples.....	39
13. ELEMENTS DE REFLEXION POUR LES METHODES D'ANALYSES QUALITATIVES.....	52
14. BIBLIOGRAPHIE.....	54
14.1. Références réglementaires	54
14.2. Références normatives générales.....	54
14.3. Documentation Cofrac – EA.....	55
14.4. Evaluation des incertitudes de mesure – Statistiques.....	55
14.5. Evaluation des incertitudes de mesure en Biologie Médicale	56
14.6. Sites Internet	57
15. ANNEXE 1 – OBJET DU JCTLM (EN ANGLAIS).....	58
16. ANNEXE 2 – TEST DE GRUBBS.....	59
17. ANNEXE 3 – EVALUATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE DE L'ANALYSE SELON L'APPROCHE "ANALYTIQUE" (GUM) : CAS DE LA GLYCEMIE	61
18. ANNEXE 4 – RÔLE ET UTILISATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE	64

1. OBJET DU DOCUMENT

La norme NF EN ISO/CEI 17025 définit les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais ; la norme NF EN ISO 15189 définit quant à elle les exigences particulières concernant la qualité et la compétence, pour les laboratoires d'analyses de biologie médicale.

Le présent guide technique définit les recommandations résultant de l'application de la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou de NF EN ISO 15189 pour les analyses de Biologie Médicale telles que définies au paragraphe 3.

Ces recommandations, que le laboratoire est libre d'appliquer, sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le Cofrac pour répondre aux prescriptions et exigences des deux normes citées précédemment. Dans tous les cas, le laboratoire devra démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire pleinement la norme.

Ce document constitue un guide pratique d'aide afin de préciser les recommandations en termes d'évaluation des incertitudes des résultats d'analyses de biologie médicale.

Ce guide s'adresse :

- aux Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) engagés dans une démarche d'accréditation Cofrac selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189 ; dans ce cas il représente des recommandations fortes, toute autre démarche argumentée et documentée étant cependant acceptable;
- aux auditeurs du Cofrac en Biologie Médicale, et constitue une base d'harmonisation à leur usage;
- de façon plus générale, aux clients et partenaires (ex. fournisseurs, autres laboratoires, établissements de soins, ...) des laboratoires d'analyses de Biologie Médicale, pour comprendre les attentes des biologistes et les soutenir dans leur démarche d'accréditation ;
- à tout laboratoire d'autres domaines engagé dans cette démarche et qui se trouve confronté aux mêmes problématiques.

2. DEFINITIONS – REFERENCES

Incertitude (VIM) : Paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande.

NOTES :

1. Le paramètre peut-être, par exemple, un écart-type (ou un multiple de celui-ci) ou la demi-largeur d'un intervalle de niveau de confiance déterminé.
2. L'incertitude de mesure comprend, en général, plusieurs composantes. Certaines peuvent être évaluées à partir de la distribution statistique des résultats de séries de mesurages et peuvent être caractérisées par des écart-types expérimentaux. Les autres composantes, qui peuvent aussi être caractérisées par des écart-types, sont évaluées en admettant des distributions de probabilité, d'après l'expérience acquise ou d'après d'autres informations.
3. Il est entendu que le résultat du mesurage est la meilleure estimation de la valeur du mesurande, et que toutes les composantes de l'incertitude, y compris celles qui proviennent d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux étalons de référence, contribuent à la dispersion.

Incertitude-type (GUM) : incertitude du résultat d'un mesurage exprimée sous la forme d'un écart-type.

Incertitude-type composée (GUM) : incertitude-type du résultat d'un mesurage, lorsque ce résultat est obtenu à partir des valeurs d'autres grandeurs, égal à la racine carrée d'une somme de termes, ces termes étant les variances ou covariance de ces autres grandeurs, pondérés selon la variation du résultat de mesure en fonction de celle de ces grandeurs

Incertitude élargie (GUM) : grandeur définissant un intervalle, autour du résultat d'un mesurage, dont on puisse s'attendre à ce qu'il comprenne une fraction élevée de la distribution des valeurs qui pourraient être attribuées normalement au mesurande.

NOTES :

- la fraction peut être considérée comme la probabilité ou le niveau de confiance de l'intervalle.
- l'association d'un niveau de confiance spécifique à l'intervalle défini par l'incertitude élargie nécessite des hypothèses explicites ou implicites sur la loi de probabilité caractérisée par le résultat de mesure et son incertitude-type composée. Le niveau de confiance qui peut être attribué à cet intervalle ne peut être connu qu'avec la même validité que celle qui se rattache à ces hypothèses.
- l'incertitude élargie est parfois appelée incertitude globale.

D'autres définitions sont mentionnées dans le présent guide, autant que de besoin, à l'endroit où sont introduits les termes employés.

Les références sur lesquelles s'appuie ce guide se trouvent listées au chapitre 14, "BIBLIOGRAPHIE".

3. DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique des incertitudes de mesure des analyses en biologie médicale, et plus particulièrement leur évaluation, tel que précisé au chapitre 1 – objet du document, et ci-après dans le chapitre 7 – Avant propos et le chapitre 8 – Etat des lieux – contexte réglementaire et normatif.

En particulier, le présent guide s'attache à l'évaluation de l'incertitude de mesure, c'est-à-dire des résultats, des analyses quantitatives, concernant la phase analytique et en incluant certains éléments de la phase pré-analytique. Cette phase pré-analytique, bien qu'essentielle, n'est pas totalement développée dans le présent document, ce qui ne signifie pas que les laboratoires ne doivent pas s'y attacher en prenant des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation. En revanche, il n'a pas été pris en compte la variabilité biologique, due au patient, puisqu'il est demandé au laboratoire d'établir les incertitudes sur ce dont il a la responsabilité, c'est à dire sur l'ensemble du "process" analytique dont il a la charge. Toutefois, la variabilité patient est à prendre en considération pour l'utilisation du résultat de l'analyse et de son incertitude associée, notamment en termes d'interprétations et décisions cliniques/thérapeutiques, vis-à-vis de seuils cliniques/thérapeutiques (ex. valeurs de référence).

Ce guide est applicable aux laboratoires d'analyse de biologie médicale accrédités ou candidats à l'accréditation dans le domaine de la biologie médicale selon les normes NF EN ISO/CEI 17025 et / ou NF EN ISO 15189.

Des laboratoires d'autres domaines analytiques peuvent l'utiliser (ex. œnologie, analyses physico-chimiques des eaux, des aliments, ...), dans la mesure où leurs problématiques en

termes d'évaluation des incertitudes des résultats d'analyses sont semblables à celles recensées ci-après et y correspondent, pour répondre à leurs besoins.

4. MODALITE D'APPLICATION

Ce guide est applicable à compter du 01/02/2007.

Dans le domaine considéré de la Biologie Médicale et au jour de son approbation, ce guide technique d'accréditation reflète l'état d'avancement des connaissances en termes d'évaluation des incertitudes de mesures des analyses de Biologie Médicale.

5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS

Il s'agit de la première version du document; aucune marque de modification n'est donc indiquée.

6. MODALITE DE REEXAMEN

Les dispositions du présent document seront amenées à être modifiées ou complétées, pour tenir compte de l'évolution des pratiques, notamment techniques et de "l'état de l'art". A ce titre, ce document est revu au moins tous les 3 ans et révisé si nécessaire par la Section Laboratoires.

Valide au jour de l'impression

7. AVANT-PROPOS

L'évaluation de l'incertitude des résultats d'analyse est une exigence de différents référentiels, le paragraphe suivant rappelle le contexte réglementaire et normatif relatif à cette exigence.

Mais au-delà des aspects réglementaires, il faut comprendre que l'incertitude est un indicateur de la qualité d'un résultat d'analyse et de la fiabilité qu'on peut lui accorder, et c'est une partie de l'expression du résultat de l'analyse. L'incertitude de mesure est de toute façon inhérente à tout processus de mesure qui se trouve entaché d'une erreur. Son évaluation prend notamment en compte les erreurs aléatoires et les erreurs systématiques et n'est pas une indication qui nuit au résultat. Bien au contraire, son évaluation permet d'accorder un niveau de confiance qu'on peut avoir dans le résultat rendu. Par l'évaluation de l'incertitude, c'est l'incertitude de la mesure qui est faite, qui est aussi mesurée, chiffrée, quantifiée. Pour le Biologiste, connaître ses incertitudes sur les résultats des analyses qu'il rend lui est d'une grande utilité pour l'interprétation qu'il pourra en faire, en terme de performance analytique mais notamment vis-à-vis de ses clients (prescripteurs, cliniciens, ...) au regard des valeurs de référence et des seuils cliniques/thérapeutiques (pertinence clinique; cf. annexe 4, ch. 18).

L'introduction du Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM, "Guide to the expression of uncertainty in measurement") justifie très clairement les raisons pour lesquelles il est important d'évaluer les incertitudes de mesure :

"Lorsque l'on rend compte du résultat du mesurage d'une grandeur physique, il faut obligatoirement donner une indication quantitative sur la qualité du résultat pour que ceux qui l'utiliseront puissent en estimer sa fiabilité. En l'absence d'une telle indication, les résultats de mesure ne peuvent pas être comparés, soit entre eux, soit par rapport à des valeurs de référence" (Extrait de l'introduction du GUM; NF ENV 13005).

Différentes méthodes sont utilisables pour évaluer l'incertitude des résultats d'analyse. Le chapitre 10 fait la présentation de 4 méthodes de quantification. Dans le cadre de ce guide, une approche pragmatique est proposée. Cette approche se fonde sur l'utilisation de données disponibles au sein des LABM et ne devrait pas nécessiter de travaux supplémentaires par rapport à ce qui se fait déjà lors des opérations d'Evaluation Externe de la Qualité (EEQ) et lors des Contrôles Internes de la Qualité (CIQ).

La méthode proposée utilise les données de ces deux types d'opération. Pour le moment, cette méthode est applicable aux résultats quantitatifs (méthodes quantitatives), des travaux scientifiques doivent être entrepris afin de proposer des méthodes pour les résultats qualitatifs. Cependant quelques orientations sont proposées pour ces méthodes qualitatives et les méthodes qualitatives assimilables au quantitatif (cf. chapitre 13).

8. ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF

Outre la compétence du biologiste, la validation des techniques (cf. guide Cofrac LAB GTA 04), l'utilisation et la correcte gestion des contrôles de Qualité (CIQ, EEQ) (cf. guide Cofrac LAB GTA 06) permettent d'assurer la qualité de la prestation d'analyse et la fiabilité du résultat. Après la validation des méthodes, la gestion des contrôles de qualité sera mise à profit pour estimer les incertitudes des résultats d'analyse, notion présente dans le GBEA, § 4. "Expression des résultats et comptes rendus d'analyses", § 4.1. "Expression des résultats" : "L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence

doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige. Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent."

Cette estimation de l'incertitude de mesure se retrouve dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 au § 5.4.6 "Estimation de l'incertitude de mesure", avec au § 5.4.6.2 "Les laboratoires d'essais doivent aussi posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure. Dans certains cas, la nature de la méthode d'essai exclut un calcul rigoureux, métrologiquement et statistiquement valable, de l'incertitude de mesure. Dans de tels cas, le laboratoire doit au moins tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et faire une estimation raisonnable, tout en assurant que la manière d'en rendre compte ne donne pas une impression erronée de l'incertitude. Une estimation raisonnable doit se baser sur une connaissance de la performance de la méthode et sur le domaine de la mesure et faire appel, par exemple, à l'expérience acquise et aux données de validation antérieures."

Cette approche des incertitudes de mesure sur les résultats est aussi une exigence de la norme NF EN ISO 15189. Dans le paragraphe traitant de la validation, § 5.5.3, son point q) indique "les sources potentielles de variation des résultats." En outre, dans le § 5.6.2, il est indiqué : "Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans le cas où cela est pertinent et possible. Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure l'échantillonnage, la préparation des échantillons, la sélection des aliquotes d'échantillon, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée, l'équipement utilisé, les conditions expérimentales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateurs."

Valide au jour de l'impression

9. QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE ?

Au chapitre 10, quatre méthodes de quantification de l'incertitude seront présentées, mais il est important, quelque soit la méthode de quantification retenue de :

- Définir le mesurande avec le maximum de précision,
- D'analyser le processus de mesure de façon à identifier les facteurs d'incertitude qui pourront introduire un écart sur le résultat.

9.1. Définir le mesurande

Il est parfois important de ne pas confondre l'analyte et le mesurande. Il est primordial pour le laboratoire de définir le mesurande avec le maximum de précision, et d'enregistrer :

- Le principe analytique (la méthode de dosage),
- La substance que la méthode est censée mesurer et qui est réellement mesurée (le mesurande),
- Les caractéristiques de la méthode (spécificité, linéarité, justesse, fidélité, ...),
- Les niveaux de valeur auxquels on souhaite estimer l'incertitude (par défaut niveaux bas, moyen, et haut, mais pour nombre de mesurandes, les seuils de décision clinique, thérapeutiques, "cut off", zones grises,... semblent plus pertinents),
- Les autres substances qui peuvent interagir suffisamment pour modifier l'interprétation clinique (réactions croisées, thérapeutiques interférentes, matériel biologique, etc...).

Il convient pour le laboratoire d'étudier les fiches techniques pour bien définir ces items, selon l'illustration présentée dans les tableaux ci-dessous :

ANALYTE	MESURANDE
Glucose	Glucose urinaire
	Glucose plasmatique
	Glucose sérique
	Glucose sur sang total
CK-MB	CK-MB massique sérique
	CK-MB activité enzymatique sérique
Protéine C / Protéine S	Protéine C / Protéine S activité enzymatique
	Protéine C / Protéine S Antigène (différents selon le fournisseur d'Ac monoclonaux)
Leucocytes	Leucocytes dans le sang total
	Leucocytes dans le LCR
Antigènes Carbohydrates (CA)	Dans ce cas, ça n'est pas une molécule qui est dosée, mais un mélange plus ou moins identifié d'épitopes antigéniques mis en évidence après reconnaissance par des Ac monoclonaux non standardisés, puis amplification (enzymatique ou autre). Il est clair que dans ce type de réaction, le mesurande ne correspond plus à une entité chimique donnée, et que chaque "trousse" dose "son mesurande" . Ce cas se retrouve dans la majorité des dosage "immunologiques" (hormonologie, marqueurs, sérologie, protéines spécifiques ...)
Prolactine	C'est un cas similaire au cas ci-dessus, avec une difficulté supplémentaire due à la polymérisation de la molécule => chaque trousse dose le monomère +/- certains polymères courts (mais pas tous les mêmes)

Note : Le VIM, dans sa deuxième édition, définit le mesurande comme une "grandeur particulière soumise à mesurage".

L'usage qu'il est fait d'utiliser uniquement le nom de la substance comme dénomination du mesurande apparaît comme impropre, car ces termes ne désignent pas une grandeur.

L'IUPAC recommande d'utiliser les trois éléments suivants pour définir un mesurande :

- le composé (appelé analyte dans notre domaine),
- la grandeur mesurée (souvent concentration ou quantité de matière) et,
- le système (ou milieu, matrice, ou encore origine du spécimen : sérum, urine, ...)

et de préciser l'unité (mmol/l, par exemple).

Ainsi, par exemple, la définition du mesurande "Glucose urinaire" devient *stricto sensu*, selon ces préconisations, "Concentration de [quantité de matière] glucose dans l'urine, exprimée en mmol/l" ou "concentration de [masse de matière] glucose dans l'urine, exprimée en g/l".

Dans d'autres cas, par exemple en hémostase de routine (TP, TCA et Fibrinogène), le mesurande étant une activité catalytique d'un complexe enzymatique évalué grâce à des réactifs extrêmement disparates, puisque extraits en règle générale de tissus animaux, plus que la définition du mesurande, c'est le couple réactif / automate qui va compter pour évaluer le biais grâce à l'EEQ.

Ces notions s'avèreront extrêmement importantes lorsque l'on devra choisir un groupe de pairs pour évaluer la justesse de la méthode grâce à l'EEQ (méthode, pairs, ...), afin de déterminer la "valeur assignée" (cible).

Attention : dans certaines comparaisons interlaboratoires, le mesurande peut être légèrement différent de celui analysé en routine. Il faut alors en tenir compte lors de l'évaluation de l'incertitude qui sera faite (par exemple utilisation de produits lyophilisés, origine humaine ou bovine, effet des conservateurs, surcharges, cholestérol HDL, ...) dont l'interprétation est à conduire de façon prudente en fonction des hypothèses de départ.

9.2. Analyse du processus de mesure

L'incertitude de mesure associée à un résultat étant la combinaison d'un certain nombre de composantes ayant une ou des influence(s) sur la valeur trouvée pour un analyte donné, il est impératif avant toute démarche d'évaluation d'incertitude d'analyser le processus de mesure de façon à identifier (le plus possible) de facteurs d'incertitude (cf. ch. 13). Cette analyse est nécessaire quelque soit la méthode de calcul envisagée pour évaluer l'incertitude. Lorsque l'on souhaite utiliser la procédure décrite au chapitre 8 du GUM, cette analyse est indispensable pour établir le modèle mathématique ou physico-chimique du processus de mesure. Lorsque l'on souhaite évaluer l'incertitude à partir soit d'essais interlaboratoires soit d'expérimentations réalisées en interne, il est important d'avoir identifié les facteurs d'incertitude de façon à vérifier qu'ils auront l'opportunité de se manifester au cours des différentes opérations (CIQ ou EEQ). Ces paramètres d'influence peuvent être listés, par exemple selon la règle des "5 M" (diagramme d'Ishikawa) :

- **Pré-analytique** :
 - Main d'œuvre : préleveurs, préleveurs externes,
 - Méthode de prélèvement : pli du coude, ordre des tubes, garrot, durée, ...
 - Milieu : types de tubes, condition et durée de transport des échantillons prélevés, conditionnement avant analyse (centrifugation, conservation, ...),
 - Matériel utilisé : vacutainer, "queue de rat", seringue, "butterfly",
 - Matière : qualité de l'échantillon (lipémique, ictérique, hémolysé, médicaments, ...).

- **Analytique :**

- Main d'œuvre : technicien, ...
- Méthode : mode opératoire de l'analyse, ...
- Milieu : conditions ambiantes (température, pression atmosphérique...), condition de stockage des prélèvements, conditions de stockage des réactifs, ...
- Matériel utilisé : pipette, automate, informatique, ...
- Matière : réactifs, échantillons, ...

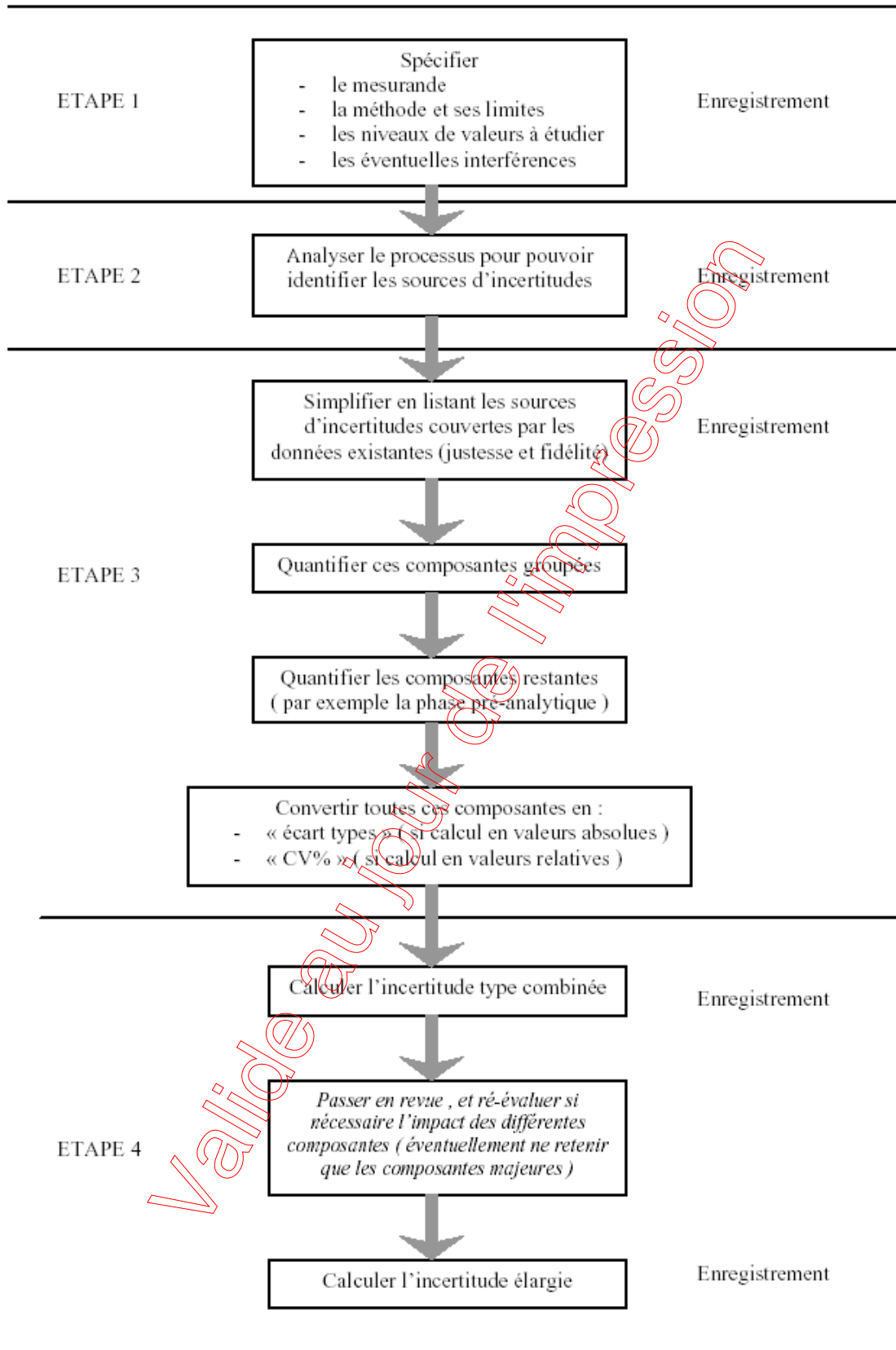
- **Post-analytique :**

- Main d'œuvre : opérateur réalisant les calculs,
- Méthode : calculs, algorithmes, arrondis, chiffres significatifs,
- Matériel utilisé : système informatique de laboratoire (SIL), paramétrage, ...

Note : il appartient d'enregistrer tous les facteurs susceptibles d'être influents, y compris ceux dont la quantification pourra se révéler difficile, voire impossible, par la suite.

Ce processus est schématisé de la façon suivante,

Valide au jour de l'impression



Logigramme adapté du Guide Eurachem/CITAC, "Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques".

Les interférences médicamenteuses devront être prises en charge dans certains calculs d'incertitude si besoin est. Ces interférences sont présentées de façon très exhaustive dans le livre de D. S. Young. Ces interférences ainsi que certaines variations biologiques sont aussi retrouvées sur "Examen de laboratoire et médicaments, Interférences analytiques et variations pharmacologiques" de G. Siest.

Le tableau ci-dessous mentionne quelques exemples d'interférences,

MESURANDE	EXEMPLE D'INTERFERENCE
Potassium (sérique)	▼ par : Diurétiques de l'anse, réglisse, perfusion, ... ▲ par : Diurétiques "corticosurrénaux", hémolyse, garrot, ...
Protides (sérique)	▼ par : grossesse, malnutrition, oestrogènes, perfusion, ... ▲ par : activité musculaire, ...
Créatinine (sérique)	▼ par : sérum hémolysé, lipémique ou ictérique, ... ▲ par : activité musculaire, ...
GGT (sérique)	▲ par : alcool, nombreux médicaments, ...
CPK (sérique)	▲ par : activité musculaire, biopsie musculaire, injections IM, ...
PSA (sérique)	▲ par : toucher rectal, massage prostatique, infections de la sphère génito-urinaire, ...
Hématies (sg total)	▼ par : grossesse, perfusion ou toute source d'hémodilution, ... ▲ par : EPO, tabac, altitude, ...
Leucocytes (sg total)	▲ par : grossesse, repas, stress, corticoïdes, adrénaline, ... ▼ par : sulfamides, hydantoïnes, phénothiazines, ATS, ...
Hémostase en général	Perturbé par les conditions pré-analytiques (garrot, ordre des tubes, remplissage, microcaillots, ...)

Certaines sources d'incertitudes ne relèvent pas de la responsabilité du laboratoire. Cependant il convient que le laboratoire en tienne compte éventuellement dans ses interprétations qu'il fait sur les résultats d'analyses. L'incertitude analytique est à rapprocher de la variabilité biologique, et dans ce cas le laboratoire doit tenir à disposition de ses clients des méthodes dont les incertitudes de mesure sont en adéquation avec la variabilité biologique (inter-/intra-individuelle).

Valide au jour de l'impression

10. LES DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION DES INCERTITUDES DE MESURE POUR DES RESULTATS QUANTITATIFS D'ANALYSE

10.1. Présentation des approches intra-laboratoires et inter-laboratoires

La présentation est faite en considérant les approches intra-laboratoires et inter-laboratoires. Dans les approches intra-laboratoires, le laboratoire évalue seul par ses propres moyens l'incertitude de ses résultats et dans cette configuration deux voies sont possibles, l'approche "analytique" qui est pratiquée dans de nombreux domaines et se fonde sur la procédure décrite au chapitre 8 du GUM. L'approche proposée dans le GUM repose sur l'hypothèse que l'on sait et que l'on veut établir le modèle physico-chimique décrivant le processus de mesure. Ce modèle se présente sous la forme d'une équation qui établit la relation fonctionnelle entre le résultat de l'analyse et toutes les informations utilisées pour calculer ce résultat (pente de la droite d'étalonnage, ordonnée à l'origine, corrections...).

Afin de présenter les différentes approches pour l'évaluation des incertitudes de mesure, le schéma suivant en présente une typologie,

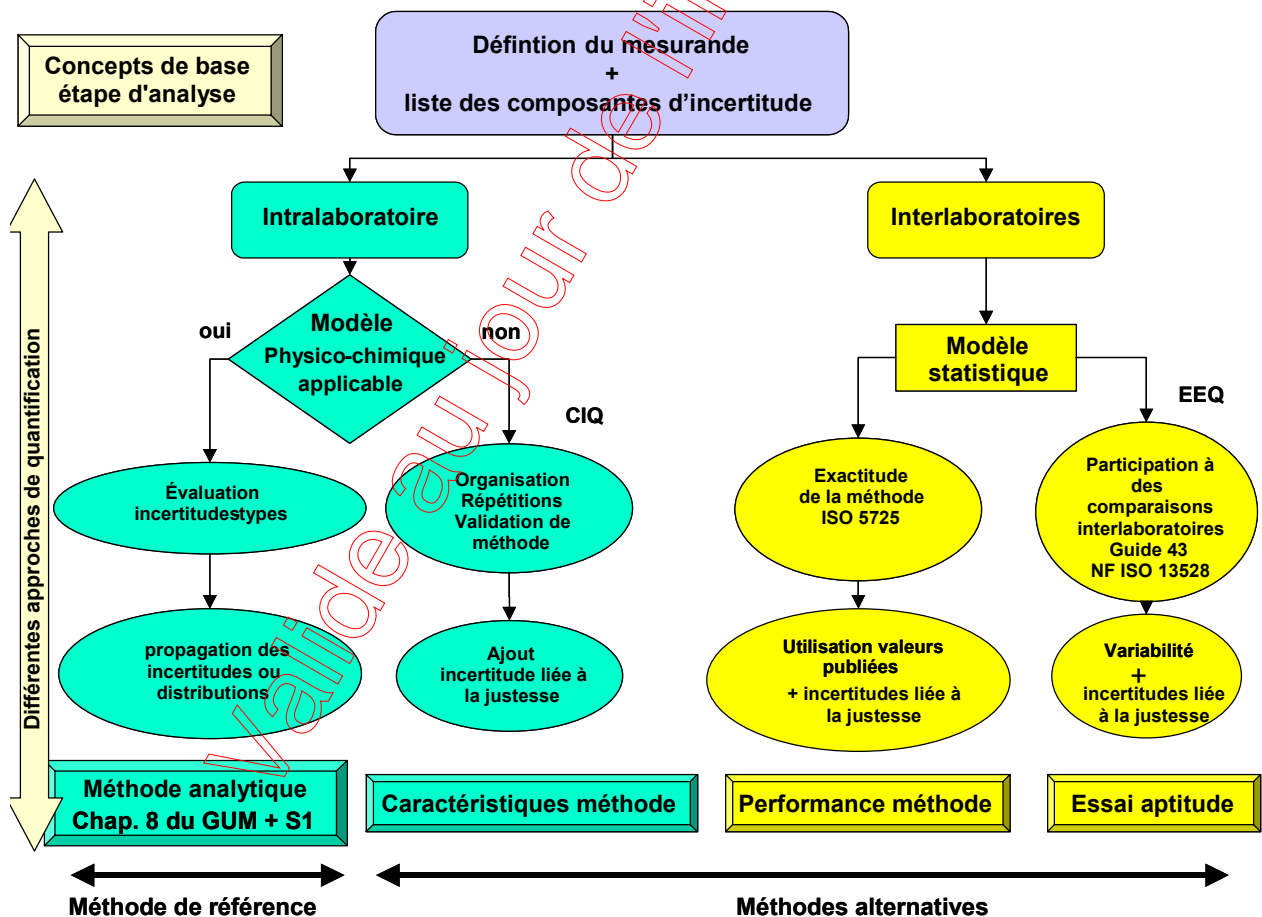


Schéma 1 : Typologie des différentes approches de quantification des incertitudes de mesures

Avec les définitions suivantes,

Justesse (VIM) : Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications exemptes d'erreur systématique.

Justesse (NF ISO 3534-1) : Etroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée.

La notion de justesse est généralement quantifiée à l'aide du biais.

Biais (NF ISO 3534-1) : Différence entre l'espérance mathématique des résultats d'analyse et la valeur de référence acceptée.

NOTE : Le biais est une erreur systématique totale par opposition à l'erreur aléatoire. Il peut y avoir une ou plusieurs composantes d'erreurs systématiques qui contribuent au biais. Une différence systématique importante par rapport à la valeur de référence acceptée est reflétée par une grande valeur du biais.

Dans ce guide, il est développé plus particulièrement l'approche "essais d'aptitude" (comparaisons interlaboratoires) car cette approche correspond davantage aux pratiques des LABM avec l'évaluation externe de la qualité et on couplera avec l'approche "caractéristiques méthode" qui permet d'évaluer la reproductibilité intermédiaire. Ce développement fait l'objet du chapitre 11 de ce document.

A. Approche intralaboratoire

1. Méthode analytique (GUM)

Pour cette approche, il est nécessaire de disposer du modèle physico-chimique. Exemple de modèle physico-chimique appliqué au glucose, selon la méthode glucose-oxydase après calibrage en deux points de l'analyseur :

$$C_g = \left(\left[C_0 + \frac{A_s}{A_{cal}} (C_{cal} - C_0) \right] \times \left(\frac{V1+V2}{V2} \right) \times f_{matrice} \times f_{dérive} + K_{pre} \right)$$

C_g : la concentration totale de glucose dans le spécimen patient [mmol/L],

C_0 : la concentration totale de glucose d'une solution établissant le point zéro de la courbe de calibrage [mmol/L],

A_s : l'absorbance corrigée du blanc du spécimen [AU : unité d'absorbance],

A_{cal} : l'absorbance corrigée des solutions de calibrage dans la cuve [AU : unité d'absorbance],

C_{cal} : concentration totale de glucose dans le calibrage [mmol/L].

$V1$: volume du spécimen (μ L),

$V2$: volume des réactifs + eau (μ L),

$f_{matrice}$: facteur dû à la contribution des effets possibles de matrice,

$f_{dérive}$: facteur dû à la contribution d'une dérive permise dans la sensibilité d'instrument,

K_{pre} : correction due à la contribution de la phase pré-analytique [mmol/L].

Cette approche est développée au paragraphe 10.2 ci-après et un exemple est détaillé pour illustration en annexe 3 (ch. 17), dans le cas de la glycémie. Rappelons que ce n'est pas la méthode préconisée dans ce document pour évaluer les incertitudes.

2. Approche "Caractéristique méthode" (ISO/TS 21748)

L'approche "caractéristiques méthode" part de l'hypothèse de la non-disponibilité d'un modèle physico-chimique décrivant le processus d'analyse (cf. FD X07-021). Cette approche utilise les résultats de la validation de la méthode.

B. Approches interlaboratoires

Dans les approches inter-laboratoires, on utilise des résultats de comparaisons entre laboratoires. Deux types de comparaisons peuvent être utilisés :

1. Approche "Performance méthode" (NF ISO 5725)

Cette comparaison interlaboratoire a pour objectif de définir les performances d'une méthode commune en estimant la répétabilité et la reproductibilité, selon la norme NF ISO 5725.

2. Approche "Essai d'aptitude" (NF ISO 13528)

Utilisation des résultats de participation à d'essais d'aptitude (comparaisons interlaboratoires) qui ont pour objectif d'évaluer les performances d'un laboratoire (Guide ISO 43).

10.2. Présentation de l'approche "méthode analytique" (chapitre 8 du GUM)

L'approche "analytique" est décrite dans le chapitre 8 du GUM. Elle repose sur l'hypothèse de la connaissance du modèle (physicochimique) décrivant le processus de mesure. Ensuite l'incertitude sur chacune des grandeurs d'entrée du modèle est évaluée en appliquant soit des méthodes de type A (méthodes statistiques) soit des méthodes de type B (autres méthodes). L'incertitude sur le résultat est ensuite évaluée en "propageant" l'incertitude sur chacune des grandeurs d'entrée en appliquant la loi de propagation de l'incertitude. D'autres méthodes pour propager non plus les incertitudes mais les distributions de grandeurs d'entrée sont maintenant disponibles (simulations numériques de Monte Carlo). L'incertitude élargie est ensuite calculée en multipliant l'incertitude-type obtenue par un facteur d'élargissement k égal généralement à 2, ce qui correspond à un intervalle de confiance d'environ 95 % si la loi de distribution est normale.

La méthode présentée dans le GUM consiste à déterminer les meilleurs estimateurs des grandeurs d'entrée et leurs incertitudes-types, pour en déduire un estimateur de la grandeur de sortie ainsi que l'incertitude-type associée et un intervalle de confiance. La méthode présentée dans le supplément 1 au GUM est plus générale en ce sens qu'elle attribue des densités de probabilité aux variables d'entrée du modèle, de façon à en déduire une densité de probabilité pour la variable de sortie. L'estimateur de la grandeur de sortie est alors l'espérance de cette loi, l'incertitude-type est prise comme l'écart-type de la loi, et on peut définir un intervalle de confiance de niveau spécifié, qu'on choisit le plus court possible.

Soit Y le mesurande et X_i les différentes grandeurs d'entrée

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$$

La "loi de propagation de l'incertitude" permet de calculer la variance sur le résultat à l'aide de l'équation suivante :

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i) + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \frac{\partial f}{\partial x_j} u(x_i, x_j)$$

avec,

$u_c^2(y)$: variance composée de y ,

$\frac{\partial f}{\partial x_i}$: coefficient de sensibilité de y par rapport à x_i ,

$u^2(x_i)$: variance de x_i ,

$u(x_i, x_j)$: covariance entre x_i et x_j

Un supplément au GUM, noté S1 dans le schéma 1, est sur le point d'être publié et traite de méthodes numériques pour l'évaluation de l'incertitude et plus particulièrement de la propagation des distributions par la simulation de Monte Carlo. Il ne s'agit pas d'une remise en cause du GUM, mais d'un additif permettant de traiter les cas plus complexes où certaines hypothèses du GUM ne sont pas respectées.

10.3. Présentation de l'approche "caractéristiques méthode" à partir de la validation de méthode

L'approche "caractéristique méthode" se fonde sur l'utilisation des données de validation d'une méthode d'analyse, selon ISO/TS 21748. La norme ISO/CEI 17025 § 5.4.5 cite les principales caractéristiques d'une méthode, également mentionnés dans le guide Cofrac sur la validation des méthodes en Biologie Médicale (LAB GTA 04) :

- Sélectivité / spécificité,
- Répétabilité,
- Reproductibilité,
- Linéarité,
- Sensibilité,
- Limite de détection / quantification,
- Robustesse,
- Justesse

La plupart de ces caractéristiques abordées ci-dessous interviennent dans l'évaluation de l'incertitude d'analyse.

La **sélectivité / spécificité** est généralement évaluée en même temps que la justesse.

La **répétabilité** (adaptée à partir du VIM; cf. définition dans le LAB GTA 04) est la valeur minimale de la fidélité, elle s'évalue par la dispersion de mesures indépendantes obtenues sur des échantillons identiques par un même opérateur utilisant le même équipement et dans un court intervalle de temps (une même série).

Note : C'est la première caractéristique à évaluer, car l'influence des autres facteurs est testée par rapport à la répétabilité (test de comparaison de variance).

La **reproductibilité (interne ou intralaboratoire)**, appelé aussi fidélité intermédiaire (série de normes ISO 5725), s'évalue en faisant varier un ou plusieurs facteurs, c'est très souvent le temps et/ou le facteur opérateur et/ou le facteur lié aux lots de réactifs, ...).

Note : On estime l'effet du facteur étudié par analyse de variance.

La **linéarité** est évaluée en calculant les écarts entre les observations expérimentales et la droite qui modélise l'étalonnage ou le calibrage de l'analyseur.

Note : On peut aussi utiliser un test statistique, par exemple le test "lack-of-fit", afin de vérifier la significativité de ces écarts par rapport à la répétabilité. Si le test est significatif, on peut soit réduire le domaine de validité de la méthode, soit introduire une incertitude due à la non-linéarité, en utilisant l'écart maximum au modèle ou la formule d'incertitude associée à l'estimation d'une droite des moindres carrées.

La **robustesse** peut se définir comme l'aptitude d'une méthode d'analyse à fournir de faibles variations du résultat lorsqu'elle est soumise à des modifications contrôlées des conditions d'application. Des essais organisés selon la technique des plans d'expérience et interprétés par analyse de variance permettent de quantifier un écart-type de robustesse lié aux facteurs influents.

La **justesse** est une des caractéristiques de la méthode les plus délicates à évaluer. Pour évaluer la justesse, il faut disposer de références. Les valeurs de référence acceptées en méthodes d'analyse peuvent provenir de matériau de référence, de valeur fournie par une méthode de référence (si la valeur de référence fait l'objet d'un consensus ou ce qui est mieux, si elle est traçable aux unités du système international d'unité (SI)).

En Biologie Médicale, l'utilisation de cette branche ("caractéristique méthode") est limitée à la disposition de matériaux de référence, ou mieux de matériaux de référence certifiés (MRC) traçables métrologiquement au S.I.

Il faut indiquer que ces matériaux existent et sont utilisés par certains fournisseurs pour le raccordement de leur technique/automates. Ainsi, à titre d'exemple, le SRM 909 b comprend le calcium, les chlorures, le cholestérol, la créatinine, le lithium, le magnésium, le potassium, le sodium, les triglycérides, l'urée, l'acide urique. Le SRM 2921 contient les différentes formes de la troponine. Le BCR-393 quant à lui est dosé pour l'apoptotéine A1, tandis que le BCR-405 l'est pour l'hémoglobine glyquée. L'ERM 470 est dosé pour 15 protéines différentes. Il existe des matériaux pour les activités catalytiques. Qui plus est les BCR-628, -630 et -631 sont déterminés pour le temps de prothrombine (INR). Ces matériaux sont notamment commercialisés par l'"Institute for reference materials and measurement" (www.irmm.jrc.be) et par le "National Institute of Standards and Technology" (www.nist.gov).

La directive 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DM DIV) précise à l'Annexe I – A.3 : *"La traçabilité des valeurs attribuées aux matériaux d'étalonnage et/ou matériaux de contrôle doit être garantie par des procédures de mesure de référence existantes et/ou des matériaux de référence disponibles de niveau supérieur."*

Pour répondre à cette exigence la norme NF EN ISO 17511 a été développée et précise les exigences de raccordement métrologique à des systèmes (matériaux et/ou méthodes de référence d'ordre supérieur) des matériaux d'étalonnage ("calibrant") et des contrôles de justesse. Pour ces fournisseurs, cette norme NF EN ISO 17511 précise désormais les exigences pour le raccordement métrologique au système international d'unité (SI) des matériaux d'étalonnage ("calibrant") et de contrôles de justesse qu'ils commercialisent.

C'est cet aspect de traçabilité au S.I des mesures analytiques en Biologie Médicale qui a motivé la création du JCTLM (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine) par les 3 organisations internationales suivantes : Le Comité International des Poids et Mesures (CIPM), l'International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) et l'International Laboratory Accreditation Co-operation (ILAC). Ce comité, pour répondre à l'exigence de la Directive Européenne [98/79/CE](http://www.nist.gov) relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* a entrepris de publier deux listes de matériaux de référence de haut niveau

et de méthode de référence. Ces listes sont consultables sur le site Internet du [JCTLM](#) (pour plus d'information voir également l'annexe 1, ch. 15). Certains des matériaux cités ci-dessus se retrouvent dans la liste II du JCTLM, sur les matériaux de référence certifiés.

Matériau de référence (VIM) : Matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) suffisamment homogène(s) et bien définie(s) pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux.

Matériau de référence certifié (VIM) : Matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) certifiée(s) par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de propriété sont exprimées et pour laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué.

En résumé, l'approche "caractéristique méthode" repose sur le modèle statistique suivant (d'après ISO/TS 21748) :

$$y = m + C_{Jus} + C_{Lin} + \sum_i c_i x_i + e$$

où,

y , le résultat de mesure,

m , est la valeur vraie,

C_{Jus} , est la correction de justesse,

C_{Lin} , est la correction de linéarité,

$c_i x_i$, sont les termes correctifs due à des facteurs influant (robustesse),

e , est l'erreur aléatoire, sous des conditions de répétabilité.

Note : les caractéristiques de la méthode sont en général fournies par les fournisseurs : répétabilité, reproductibilité, incertitude sur la valeur de l'étalon, traçabilité métrologique.

L'application de la loi de propagation des variances conduit à l'équation suivante qui permet de calculer la variance du résultat de l'analyse ($u^2(y)$). Chacune des variances élémentaires est évaluée au cours de la caractérisation de la méthode.

$$u^2(y) = u^2(C_{Jus}) + u^2(C_{Lin}) + \sum_i c_i^2 u^2(x_i) + s_r^2$$

où s_r^2 est la variance de répétabilité.

10.4. Présentation de l'approche "performance méthode"

L'approche "performance méthode" contrairement aux deux approches précédentes est une approche collective. Elle implique la participation de plusieurs laboratoires mettant en œuvre la même méthode. L'incertitude ainsi évaluée est commune à tous les laboratoires ayant participés à son évaluation.

Le traitement des données s'effectue en appliquant la norme NF ISO 5725 "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."

La technique d'utilisation des données relatives à la performance d'une méthode est largement décrite dans le document ISO/TS 21748 "Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de la justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure".

10.5. Présentation de l'approche "essai d'aptitude" (comparaisons interlaboratoires)

Par rapport aux trois approches présentées précédemment (normalisées), cette méthode fait l'objet de travaux visant à la préciser et à la valider par comparaison à d'autres techniques pleinement établies comme l'application de la procédure décrite dans le GUM. Elle se fonde sur l'observation de la dispersion des écarts entre les valeurs individuelles de chacun des laboratoires participants à une comparaison interlaboratoire (EEQ, CQE) et une valeur assignée ("valeur cible") obtenue suivant différents procédés. Un guide ISO, le guide 43-1 "Essais d'aptitude des laboratoires – Partie 1 Développement et mise en œuvre de systèmes d'essais d'aptitude" en précise les modalités d'organisation. La norme française NF ISO 13528 "Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires" présente les calculs à effectuer.

Note : *il est rappelé que le Cofrac est en mesure d'accréditer les organisateurs de ces essais d'aptitude selon un référentiel fondé sur ce guide 43-1 et l'ISO/CEI 17025 (LAB CIL Ref 02).*

Valide au jour de l'impression

11. COUPLAGE DES METHODES "CARACTERISTIQUE METHODE" (CIQ) ET ESSAI D'APTITUDE (COMPARAISONS INTERLABORATOIRES) POUR LES ANALYSES QUANTITATIVES DE BIOLOGIE MEDICALE

11.1. Approche

Afin d'offrir une solution simple, réaliste et se fondant sur l'exploitation de données existantes, il est proposé dans cette approche de coupler les méthodes "caractéristiques méthode" et "essai d'aptitude", notamment pour les analyses de Biologie Médicale dans le cas des analyses quantitatives. Le schéma suivant, illustre cette approche,

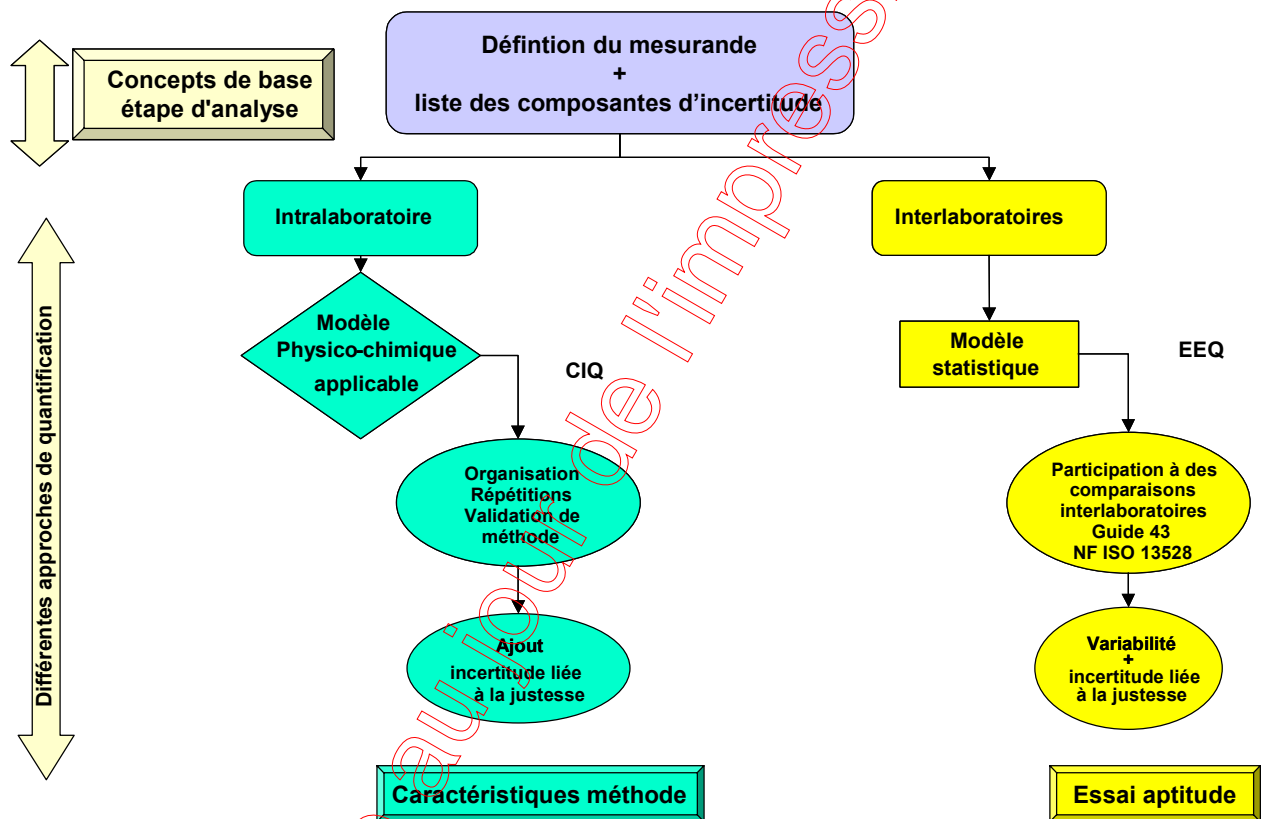


Schéma 2 : Evaluation des incertitudes à partir des CIQ et EEQ

Rappel :

CIQ : Contrôle interne de la qualité (évaluation interne de la qualité) "CIQ" (appelé de manière inappropriée "CQI"): Procédure réalisée au sein du laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si un système analytique opère correctement en fonction de limites de tolérances pré-établies. Les matériaux de contrôle interne de la qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

EEQ : Contrôle externe de qualité (évaluation externe de la qualité), "CEQ" (appelé souvent à tort "CQE") ou "EEQ" : Procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais

d'une comparaison interlaboratoires réalisée par une tierce organisation. Les matériaux de contrôle externe de la qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

Le modèle s'écrit sous la forme suivante :

$$C = C_{lue} + K_{EEQ} \quad (1)$$

avec,

C : Concentration de l'analyte (résultat rendu),

C_{lue} : Concentration de l'analyte lue (résultat de l'analyseur),

K_{EEQ} : Terme de correction dû à la justesse (EEQ).

Note : A l'usage, à tort, cette correction n'est souvent pas prise en compte, tout comme son incertitude associée.

Dans l'approche présentée et le modèle utilisé, il est tenu compte de l'erreur de justesse (biais) et de son incertitude associée.

11.2. Evaluation des incertitudes-types

Nous considérons que dans le modèle exposé ci-dessus, il existe deux composantes d'incertitude, évaluées à partir du contrôle interne de qualité (CIQ) et du contrôle externe de qualité (EEQ). Par l'application de la loi de propagation des variances, on obtient alors un calcul d'incertitude composée sous la forme :

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})} \quad (2)$$

avec, $u^2(CIQ) = u^2(C_{lue})$, qui représente la variance (carré de l'écart-type) de l'ensemble des résultats (C_{lue}) du contrôle interne de qualité (CIQ),

et avec, $u^2(K_{EEQ})$, la variance liée à la justesse (biais).

L'incertitude associée à la concentration lue, est estimée à partir du contrôle interne de qualité (CIQ). L'incertitude associée à la correction de justesse (éventuellement égale à zéro) est estimée à partir du contrôle externe de la qualité (EEQ).

Cette approche simple et réaliste fondée sur des données de contrôle interne et externe doit toutefois pouvoir reposer sur des valeurs utilisées pour l'évaluation de la fidélité et de la justesse prennent en compte l'ensemble des facteurs d'influence susceptibles d'intervenir comme une composante de l'incertitude de mesure, notamment :

- les changements de lots de réactifs,
- les changements de lots d'étalon,
- les variations liées aux différents utilisateurs,
- les possibles variations liées aux conditions climatiques (hygrométrie, température),
- les maintenances préventives et curatives,
- etc...

Note : pour information, si l'on souhaite prendre en compte d'autres composantes d'incertitude, telle que les composantes de la phase préanalytique qui ne sont pas évaluées par ailleurs, la composante dû au raccordement métrologique par l'utilisation d'un MRC (correction de justesse) ou encore la variabilité intra-individu (indépendante de l'incertitude lié au process analytique au sein du laboratoire dont il a la responsabilité), il convient d'ajouter des composantes supplémentaires au modèle (1) proposé qui devient :

$$C = C_{\text{lue}} + K_{\text{EEQ}} + K_{\text{Préanalytiques}} + K_{\text{Justesse}} + K_{\text{Intra_individu}} \text{ en mmol/L}$$

Ce qui nous donne pour le calcul d'incertitude, l'incertitude composée :

$$u(C) = \sqrt{u^2(CQI) + u^2(K_{\text{EEQ}}) + u^2(K_{\text{Préanalytiques}}) + u^2(K_{\text{Justesse}}) + u^2(K_{\text{Intra_individu}})}$$

Dans ce modèle, le raccordement métrologique à l'aide de MRC peut remplacer la correction de justesse estimée à partir du contrôle externe de qualité (EEQ). Note : ce n'est pas le modèle préconisé par la suite dans ce guide, mais bien celui défini par l'équation (1).

11.3. Evaluation de la reproductibilité interne – Exploitation des CIQ

Ce contrôle permet une évaluation interne de la qualité. Le laboratoire applique en interne des procédures spécifiques pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction de limites de tolérance préétablies.

Le principal objectif : Contrôle continu de la fidélité.

A partir du coefficient de variation (CV), on vise à :

- valider les résultats en temps réels,
- détecter les erreurs et les corriger immédiatement,
- détecter d'éventuelles dérives, ...

La fidélité est le terme qualitatif. Elle se quantifie dans ce contexte par un coefficient de variation de reproductibilité de chaque CIQ. Le coefficient de variation (CV%) se calcule à partir de l'écart-type s de reproductibilité et de la moyenne m des résultats d'un CIQ :

$$CV\% = \frac{s}{m} \times 100$$

L'indicateur de variabilité (CV ou écart-type du CIQ) va nous servir à estimer la variabilité du processus de mesure. Cette variabilité pour être représentatif devra prendre en compte des résultats de CIQ sur une période suffisante (environ une trentaine de valeurs).

L'exploitation des résultats va permettre en fonction du contexte de quantifier les autres composantes, le temps, l'effet opérateur, dérive..., *i.e.* de quantifier une reproductibilité. Il est intégré l'écart-type de reproductibilité interne dans le calcul d'incertitude.

On peut calculer $u^2(\text{CIQ})$, à partir du CV, ainsi,

$$u^2(\text{CIQ}) = (CV_{\text{CIQ}})^2 \times C_{\text{lue}}^2$$

dans cette formule, pour un résultat individuel.

A cette fin, il pourra être intéressant toutefois pour le laboratoire d'adapter la gestion et l'exploitation de ses données du CIQ dans le but d'utiliser ces données obtenues au mieux pour l'évaluation des incertitudes, comme notamment,

- l'utilisation d'un matériau de contrôle ayant une longue période avant péremption de manière à conserver le même lot,

- le passage quotidien (ou à fréquence élevée) de plusieurs niveaux de ces matériaux de contrôle CIQ,
- Pour une méthode récemment installée dans le laboratoire, une fidélité évaluée sur un nombre significatif de résultats (idéalement $n = 30$), sur différents niveaux de concentration (ex. bas, moyen, haut) en fonction des besoins (type de clientèle) et des possibilités techniques,
- l'exploitation statistique sur de longues périodes (> 6 mois) sur le même lot d'échantillon de contrôle, en données cumulatives (et non par tranches mensuelles, ou entre deux calibrations, etc...) de manière à intégrer la contribution des sources et facteurs majeures et influents d'incertitude que sont notamment les maintenances, les calibrations et les changements de lots de réactifs; En effet, à chacune de ces occurrences, il y a variation de la moyenne, et donc une augmentation de la dispersion qui passe totalement inaperçue si on suit le CV en intra-lot de réactif ou en intra-calibration, ce qui minimise de façon importante les CV obtenus; D'où l'intérêt de suivre en données cumulées pour prendre un maximum de facteur en compte.

11.4. Evaluation de la justesse – Exploitation des EEQ

11.4.1. Introduction

La justesse, c'est à dire le biais, se quantifie lorsque c'est possible par la différence entre la moyenne des résultats du laboratoire et une valeur assignée ("valeur cible"). La difficulté d'avoir une valeur de référence pertinente, nous amène à recourir à l'utilisation des essais d'aptitude. La participation aux essais d'aptitude fait partie de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) ou appelé plus communément, contrôle externe de la qualité (CEQ).

Dans le cadre de l'évaluation externe de la qualité, la participation au contrôle national de qualité est obligatoire (CNQ). Ces contrôles passent par des comparaisons interlaboratoires type "essais d'aptitude" qui sont menés par l'AFSSAPS. D'autres comparaisons interlaboratoires sont organisées par différentes associations (ASCOSUD, ASQUALAB, CTCB, PROBIOQUAL, BIOLOGIE PROSPECTIVE, ...) ou des sociétés commerciales (Bio-Rad, Beckman-Coulter, Randox, ...) viennent les compléter sur la base d'une participation volontaire, recommandées pour l'accréditation (cf. LAB GTA 06).

Une stratégie alternative est également possible, avec la "confrontation externe du CIQ" (CIQ / EEQ couplés), type Bio-Rad ou Beckman-Coulter en hématologie. Il est rappelé que cette stratégie ne dispense pas d'EEQ ponctuelles, en aveugle, qui permet de faire varier la nature de la matrice (cf. LAB GTA 06). Cette stratégie permet toutefois de disposer d'un nombre de valeurs exploitables pour l'évaluation des incertitudes, en un temps généralement plus court qu'en EEQ ponctuelle, et permet de prendre en compte l'ensemble des facteurs influents sur une longue période (plusieurs mois).

De même que pour l'exploitation des données du CIQ, l'estimation des incertitudes repose sur un certain nombre de résultats et de participations à ces comparaisons. Le laboratoire doit donc pouvoir disposer d'un certain nombre de valeurs de contrôles externes (EEQ ponctuelles ou via la confrontation externe de son CIQ), statistiquement significatifs, et qui couvrent également les variations potentielles des facteurs d'influence cités.

Pour l'utilisation des résultats, il convient de prendre en compte les notions suivantes :

Groupe de technique/méthode : ensemble de laboratoires utilisant un même principe analytique (principe général de codage), décliné par différents fournisseurs sur différents analyseurs.

Groupe de pairs : ensemble de laboratoires utilisant strictement la même technique (méthode) sur le même analyseur.

Essais d'aptitude : évaluation des performances d'un laboratoire en matière d'essais, au moyen de comparaisons interlaboratoires (ISO/CEI 43-1).

Valeur assignée (valeur cible) : valeur attribuée à une grandeur particulière et reconnue, parfois par convention, comme la représentant avec une incertitude appropriée pour un usage donné (ISO/CEI 43-1).

La détermination de la valeur assignée relève de la responsabilité de l'organisateur (fournisseur ou association) de la comparaison interlaboratoire, et plus précisément de son coordonnateur (expert), elle peut être obtenue :

- indépendamment des résultats de comparaisons interlaboratoires (matériau de référence, méthode de référence, ...),
- à partir des résultats de la comparaison interlaboratoire (valeur consensuelle de tous les laboratoires ou des laboratoires utilisant des techniques traçables au SI, ...).

Note : le laboratoire sera attentif au nombre de participants par groupes, à la manière dont est établie la valeur assignée et à l'équilibre entre les groupes.

On appelle erreur de justesse, $E = X_{\text{lab}} - X_{\text{ref}}$

Les différents rapports de comparaisons interlaboratoires montrent une disparité de présentation de codages, des aides à l'interprétation. Ces différences ne doivent surtout pas occulter la place majeure de la qualité des échantillons de contrôles soumis aux essais. Cette qualité est à la base de la qualité des calculs qui en dépendent. Seule une stricte indépendance des fournisseurs de comparaisons interlaboratoires permet de varier la nature des échantillons de contrôle et d'assurer la qualité des interprétations.

11.4.2. Les différents cas – Méthodologie

Le tableau suivant présente l'incertitude-type à retenir pour la composante de justesse pour le laboratoire (une méthode/technique), ce qui intéresse surtout le laboratoire et développé par la suite. Il présente également l'incertitude-type pour la composante de justesse pour une méthode (groupe de pairs, sélection d'un fournisseur, ...) et pour l'ensemble des méthodes (prescripteur, enquête épidémiologique, ...).

Note : les calculs proposés ci-après et dans ce guide sont exposés en absolu (dans l'unité de mesure) et non en relatif, sauf quand précisé. Le laboratoire portera son attention sur le type de données dont il dispose et fera les conversions qui s'imposeront pour ses calculs de manière à ce qu'ils soient homogènes. Il pourra les exprimer en absolu ou en relatif.

Un laboratoire	Groupe de pairs	Ensemble des laboratoires participants (toutes techniques)
Dans le cas d'un seul laboratoire, on peut choisir de corriger (ce qui est recommandé) ou non les résultats	<i>Calcul d'un écart-type en prenant les résultats des laboratoires ayant utilisé la méthode étudiée</i>	<i>Calcul d'un écart-type en prenant les résultats de tous les laboratoires non écartés lors de l'exploitation des résultats</i>
<u>Application correction</u> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> $K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$ </div>	$u(K_{EEQ}) = S_{\text{aptitude-méthode}}$ <p style="text-align: center;"><i>valeur donnée par l'organisateur de la comparaison interlaboratoire.</i></p>	$u(K_{EEQ}) = S_{\text{aptitude-toutes-méthodes}}$ <p style="text-align: center;"><i>valeur donnée par l'organisateur de la comparaison interlaboratoire.</i></p>
<u>Pas de correction</u> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> $K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX} E_i ^{**}}{\sqrt{3}^*}$ </div> <p>** après élimination des valeurs statistiquement aberrantes.</p>		

Notations :

- $S_{\text{aptitude-méthode}}$: écart-type estimé par l'organisateur de comparaisons interlaboratoires et associé à une technique;
- $S_{\text{aptitude-toutes-méthodes}}$: écart-type estimé par l'organisateur de comparaisons interlaboratoires toutes techniques confondues.

x_{lab} : résultat d'un laboratoire,

x_{ref} : la valeur assignée ("cible"),

E : écart entre le résultat d'un laboratoire et la valeur assignée

Pour chaque comparaison interlaboratoire i , on obtient l'écart $E_i = (x_{lab} - x_{ref})_i$

Soit n le nombre de comparaisons étudiées, la moyenne de l'écart est,

$$\bar{E} = \frac{\sum_i (x_{lab} - x_{ref})_i}{n},$$

$$S_E = \sqrt{\frac{\sum (E_i - \bar{E})^2}{n-1}}$$

S_E est l'écart-type des écarts entre le résultat d'un laboratoire et la valeur assignée

(*) Dans les cas où l'estimation de l'incertitude-type est faite à partir d'un intervalle maximal ($\pm a$) sans connaître la forme de la distribution, on utilise la loi uniforme (ou rectangulaire).

L'estimation de l'incertitude vaut alors $a/\sqrt{3}$;

(**) A la place du biais maximum ($\text{MAX } |E_i|$) et d'éventuels tests pour éliminer les valeurs aberrantes, il peut être utilisé 2 écarts-types des différences ($2 S_E$). Mais alors dans ce cas, il devra être ajouté à l'incertitude composée $u(C)$ de l'équation (2), l'erreur de justesse en valeur absolue, $|\bar{E}|$.

Note : dans le cas où il n'est pas appliqué de correction, l'erreur de justesse est intégrée dans l'évaluation de l'incertitude, ce qui a pour conséquence d'augmenter l'incertitude au final.

11.4.3. Exemples d'évaluation de l'incertitude de justesse

Le laboratoire utilisera plusieurs valeurs de résultats de comparaisons interlaboratoires :

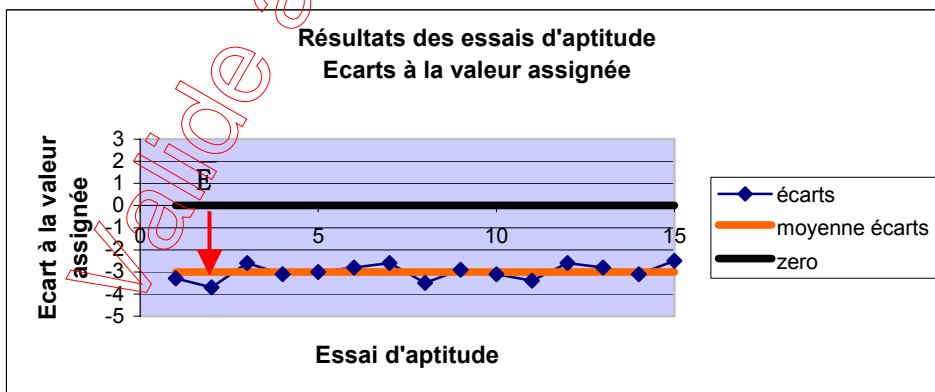
- Ces calculs s'appuient sur un historique de participations à des essais d'aptitude (EEQ ponctuelle ou confrontation externe du CIQ), *a minima* 5 valeurs de résultats, et en tout état de cause un nombre suffisant (en Biochimie par exemple). Ces résultats doivent être collectés sur la période la plus courte possible, par exemple 6 mois, en fonction des possibilités techniques et économiques. En effet, pour détecter un éventuel écart systématique, il faut disposer de plusieurs résultats de comparaisons interlaboratoires,
- Les études doivent se faire à différentes concentrations du domaine de mesure utilisé par le laboratoire, pour une question de représentativité, en relation avec les besoins des clients (cliniciens, prescripteurs, ...). On peut donner en exemple le cas de la bilirubine.

Note : dans le cas d'un seul résultat de comparaison, une première évaluation est possible (cf. exemple au Ch. 12), mais devra être affinée à l'aide des résultats suivants.

Exemple 1 - Scénario N°1 : mise en œuvre d'une correction C

Remarque : ce cas prend toute son importance quand l'écart moyen \bar{E} est systématique ou significativement différent de zéro à $(1-\alpha)\%$. Si α vaut 5 %, le niveau de confiance est de 95 %.

$$\begin{cases} K_{EEQ} = -\bar{E} \\ u(K_{EEQ}) = S_E \end{cases}$$



Nombre de participation à des essais d'aptitude sur le même mesurande, $n = 15$.

Dans l'exemple graphique ci-dessus, $\begin{cases} K_{EEQ} = +3 \\ u(K_{EEQ}) = 0,36 \end{cases}$

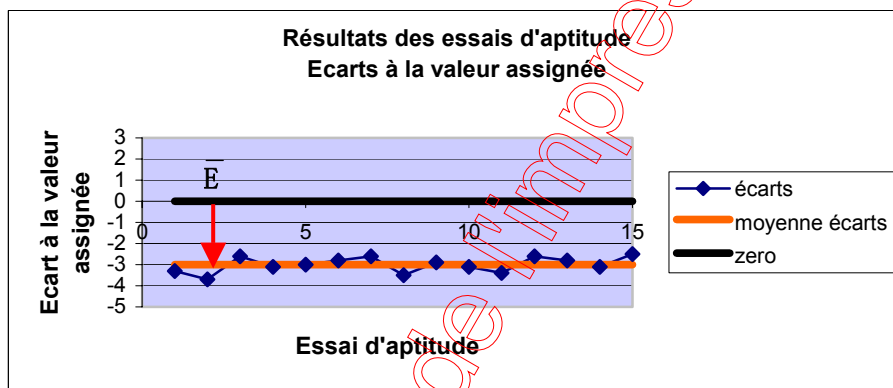
Exemple 1 - Scénario N°2: Pas de correction appliquée

Remarque : ce cas ne devrait pas être appliqué quand l'écart moyen \bar{E} est systématiquement et significativement différent de zéro à $(1-\alpha)\%$, mais selon les objectifs et les besoins, il peut être utilisé.

$$K_{EEQ} = 0$$

$$u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX}|E_i|}{\sqrt{3}}$$

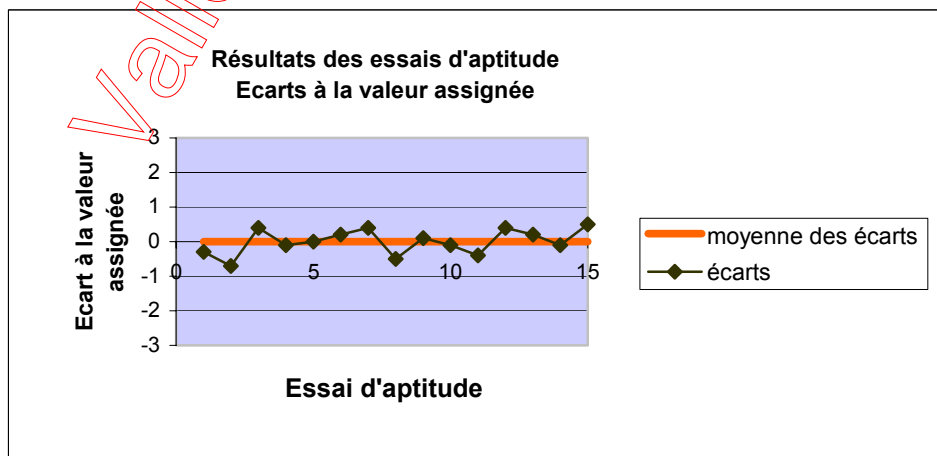
* Après mise en oeuvre du test pour enlever les éventuelles valeurs statistiquement aberrantes.



Dans l'exemple graphique ci-dessus, $\bar{E} = -3$, $S_E = 0.36$, $\text{MAX}E_i = -3.7$

$$\begin{cases} K_{EEQ} = 0 \\ u(K_{EEQ}) = \frac{3,7}{\sqrt{3}} = 2,13 \end{cases}$$

Exemple 2 : Pas de correction appliquée, car les écarts à la valeur assignée sont nuls (ou quasi-nuls)



Dans l'exemple graphique ci-dessus, $\bar{E} \approx 0$, $S_E = 0.36$, $MAXE_i = -0.7$

$$\begin{cases} K_{EEQ} = 0 \\ u(K_{EEQ}) = \frac{0,7}{\sqrt{3}} = 0,4 \end{cases}$$

11.5. Evaluation de l'incertitude composée et de l'incertitude élargie

L'incertitude-type sur la concentration est évaluée en composant les deux incertitudes évaluées aux paragraphes précédents, le § 11.3 ayant permis d'évaluer $u^2(CIQ)$ et le § 11.4 ayant permis d'évaluer $u^2(K_{EEQ})$:

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})} \quad (2)$$

Cette incertitude-type sera multipliée par un facteur d'élargissement k , généralement pris égal à 2 (correspondant à un intervalle de confiance d'au moins 95 %, si la loi de distribution est normale), pour évaluer l'incertitude élargie notée U ,

$$U = 2 u(C)$$

11.6. Expression du résultat de l'analyse

Les valeurs numériques de l'estimation y du mesurande et de son incertitude-type $u(y)$ (ou de son incertitude élargie U) ne doivent pas être données avec un nombre excessif de chiffres significatifs. On retiendra qu'il suffit habituellement de fournir l'incertitude-type ou l'incertitude élargie avec 2 chiffres significatifs et que pour le résultat le dernier chiffre à retenir est celui qui à la même position que le deuxième chiffre significatif dans l'expression de l'incertitude (selon GUM).

$$Y = y \pm U \quad (k=2)$$

Exemple d'arrondis à 2 chiffres significatifs, l'analyse de glycémie d'un patient pourrait s'exprimer de la façon suivante :

$$Y = 6,44 \text{ mmol/L} \pm 0,64 \text{ mmol/L} \quad (\text{avec } k=2)$$

ou de cette façon,

$$Y = 11,2 \text{ mmol/L} \pm 1,3 \text{ mmol/L} \quad (\text{avec } k=2)$$

On remarque que dans le premier résultat énoncé, l'incertitude indiquée ne comporte que deux chiffres significatifs et que la valeur du résultat a été arrondie au centième de mmol/L, comme l'incertitude. Pour arrondir les valeurs numériques du résultat, il existe des règles, le lecteur pourra se reporter à la norme NF X02-001.

Pour une valeur qui s'exprime en pourcentage, par exemple l'hémoglobine glyquée, et pour une incertitude élargie (en valeur relative) de 6%, on pourrait exprimer les résultats de la façon suivante :

HbA _{1c} mesurée	Expression du résultat
5%	5,0 ± 0,3 % (k=2)
7%	7,0 ± 0,4 % (k=2)

Note : Les résultats d'incertitudes obtenus sont à rapprocher des spécifications édictées par la SFBC (pour la Biochimie) et/ou des spécifications de Ricos *et al.* (pour la Biochimie, mais aussi en Hémostase , Hématologie cellulaire et en Immunologie) où l'"Erreur Totale" (en relatif), correspond à l'incertitude.

Enfin, pour donner une incertitude sur la totalité du domaine de mesure, le laboratoire pourra soit interpoler entre les niveaux de concentration auxquels ont été estimées les incertitudes, soit les annoncer par plage de mesure.

Concernant la réévaluation des incertitudes des résultats d'analyses, il est préconisé une revue tous les ans. Dans tous les cas, les incertitudes sont à réévaluer à chaque changement significatif technique dans le processus de mesure (automates, réactifs, ... cf. ch. 9.2).

Valide au jour de l'impression

12. EXEMPLES DE CAS PRATIQUES

La méthodologie développée au ch. 11 est présentée et appliquée dans quelques exemples pratiques, pour illustration. Le laboratoire utilisera les données issues de son contrôle interne de qualité (CIQ) et des données de comparaisons interlaboratoires (ou de contrôle externe, CEQ), quelque soit leur source, EEQ ponctuelle ou confrontation externe de son CIQ. Il lui appartient de développer les outils pour recenser l'historique de ses valeurs, notamment pour ses données de contrôle externe, de manière à procéder à l'évaluation de ses incertitudes.

12.1. Cas de la glycémie

L'exemple présenté ci-après se fonde sur l'exploitation de résultats d'évaluation externe de la qualité (EEQ) d'un laboratoire de biologie et collectés auprès d'un organisateur d'essais interlaboratoires. Les données sont relatives au dosage de glycémie. Les échantillons analysés de façon hebdomadaire ont été fournis par cet organisateur. Ils comportaient 6 lots différents et un lot intitulé "PLASMA". Le laboratoire ignorait l'identité des lots, ce qui fait que le même lot a été analysé plusieurs fois au cours de l'année.

12.1.1. Les données

Toutes les données ont été regroupées dans un premier tableau qui comporte les informations suivantes (en colonne),

- Identification du **lot**,
- N° de la **semaine**,
- **Valeur** obtenue par le laboratoire en mmol/L,
- **Valeur codée**, ce code a été introduit pour ranger les résultats en 3 classes suivant le niveau de concentration : classe 1 : $0 < C < 4$ mmol/L, classe 2 : $4 < C < 9$ mmol/L et classe 3 : $9 < C < 20$ mmol/L. Cette classification a été introduite de façon à pouvoir évaluer les variations éventuelles de la variabilité avec la concentration,
- **Vgénérale**, est la moyenne générale de l'intercomparaison (en mmol/L),
- **ngénéral**, le nombre de valeurs retenues pour participer à la moyenne,
- **ETgénéral**, est l'écart-type des valeurs,
- **Diffgénérale** : écart valeur du laboratoire – valeur générale ($X_{lab} - X_{ref}$),

Tableau 1 : résultats d'une comparaison interlaboratoire pour un laboratoire (toutes techniques confondues).

LOT	semaine	Valeur (mmol/L)	valeur_codée	Vgénérale (mmol/L)	ngénéral	ETgénéral	Diffgénérale (mmol/L)
Lot 1	1	2.9	1	2.69	186	0.19	0.21
"PLASMA"	2	8.7	2	8.29	180	0.24	0.41
Lot 2	3	3.3	1	3.14	189	0.15	0.16
Lot 4	4	6.1	2	5.88	179	0.22	0.22
Lot 2	5	3.1	1	3.15	202	0.15	-0.05
Lot 3	6	5.8	2	5.48	183	0.27	0.32
Lot 5	7	17.3	3	16.46	192	0.62	0.84
"PLASMA"	8	8.8	2	8.51	195	0.28	0.29
Lot 4	9	5.9	2	5.87	191	0.36	0.03
Lot 6	10	17.7	3	17.38	189	0.68	0.32
"PLASMA"	11	8.6	2	8.26	195	0.3	0.34
Lot 5	12	16.7	3	16.53	170	0.47	0.17

✪ GUIDE D'EVALUATION DES INCERTITUDES DE MESURES DES ANALYSES
DE BIOLOGIE MEDICALE

LOT	semaine	Valeur (mmol/L)	valeur_codée	Vgénérale (mmol/L)	ngénéral	ETgénéral	Diffgénérale (mmol/L)
Lot 6	13	17.9	3	17.37	187	0.62	0.53
"PLASMA"	14	7	2	6.59	200	0.22	0.41
Lot 4	15	6.1	2	5.87	186	0.24	0.23
Lot 3	16	5.6	2	5.49	184	0.2	0.11
Lot 2	17	3.3	1	3.16	153	0.12	0.14
Lot 1	18	2.8	1	2.67	191	0.11	0.13
Lot 5	19	16.32	3	16.39	183	0.62	-0.07
"PLASMA"	20	9.04	3	8.78	199	0.3	0.26
Lot 6	21	17.05	3	17.2	187	0.69	-0.15
Lot 4	22	5.87	2	5.84	185	0.22	0.03
Lot 6	23	17.72	3	17.15	189	0.61	0.57
"PLASMA"	24	7.19	2	7.08	195	0.26	0.11
Lot 2	25	3.25	1	3.12	191	0.13	0.13
Lot 6	26	16.52	3	17.15	176	0.55	-0.63
Lot 1	27	2.7	1	2.64	168	0.12	0.06
Lot 5	28	16.41	3	16.29	188	0.59	0.12
Lot 1	29	2.69	1	2.66	193	0.17	0.03
Lot 3	30	5.5	2	5.43	175	0.2	0.07
Lot 2	31	3.1	1	3.12	190	0.15	-0.02
Lot 6	32	17.11	3	17.14	186	0.68	-0.03
Lot 2	33	3.25	1	3.13	192	0.17	0.12
Lot 3	34	5.45	2	5.42	192	0.21	0.03
Lot 2	35	3.04	1	3.1	191	0.14	-0.06
"PLASMA"	36	7.09	2	6.76	186	0.21	0.33
Lot 5	37	16.04	3	16.13	187	0.6	-0.09
Lot 4	38	5.61	2	5.79	189	0.21	-0.18
Lot 1	39	2.61	1	2.64	192	0.12	-0.03
"PLASMA"	40	7.61	2	7.55	189	0.24	0.06
Lot 3	41	5.56	2	5.39	186	0.22	0.17
Lot 5	42	16.36	3	16.22	187	0.58	0.14
Lot 4	43	5.71	2	5.75	177	0.25	-0.04
Lot 6	44	17.16	3	17.03	187	0.67	0.13
"PLASMA"	45	4.8	2	4.62	187	0.15	0.18
Lot 3	46	5.43	2	5.37	194	0.25	0.06
Lot 5	47	16.06	3	16.11	182	0.58	-0.05
Lot 1	48	2.65	1	2.64	188	0.12	0.01
"PLASMA"	49	11.66	3	11.41	202	0.48	0.25
Lot 3	50	5.33	2	5.37	191	0.23	-0.04
Lot 4	51	5.78	2	5.74	178	0.25	0.04
Lot 1	52	2.75	1	2.65	181	0.14	0.1

Les données correspondantes au groupe de pairs auquel appartient le laboratoire (même technique) ont été regroupées dans un second tableau qui comporte les informations suivantes (en colonne),

- Identification du **lot**,
- N° de la **semaine**,
- **Valeur** obtenue par le laboratoire en mmol/L,
- **Valeurpairs**, est la moyenne du groupe de pairs de l'intercomparaison (en mmol/L),
- **npairs**, le nombre de valeurs du groupe de pairs retenues pour le calcul de la moyenne du groupe de pairs,
- **Etpairs**, est l'écart-type des valeurs du groupe de pairs,
- **Diffpairs** : écart valeur du laboratoire – valeur pairs (Xlab-Xref),

Tableau 2 : résultats d'une comparaison interlaboratoire pour un laboratoire (groupe de pairs).

LOT	semaine	Valeur (mmol/L)	Valeurpairs (mmol/L)	npairs	ETpairs	Diffpair (mmol/L)
Lot 1	1	2.9	2.65	52	0.17	0.25
"PLASMA"	2	8.7	8.26	51	0.28	0.44
Lot 2	3	3.3	3.08	47	0.13	0.22
Lot 4	4	6.1	5.77	53	0.25	0.33
Lot 2	5	3.1	3.1	57	0.16	0
Lot 3	6	5.8	5.38	51	0.13	0.42
Lot 5	7	17.3	16.35	51	0.52	0.95
"PLASMA"	8	8.8	8.44	57	0.35	0.36
Lot 4	9	5.9	5.75	55	0.26	0.15
Lot 6	10	17.7	17.31	51	0.69	0.39
"PLASMA"	11	8.6	8.22	52	0.26	0.38
Lot 5	12	16.7	16.47	47	0.37	0.23
Lot 6	13	17.9	17.26	50	0.49	0.64
"PLASMA"	14	7	6.59	59	0.25	0.41
Lot 4	15	6.1	5.77	56	0.25	0.33
Lot 3	16	5.6	5.37	54	0.23	0.23
Lot 2	17	3.3	3.12	46	0.14	0.18
Lot 1	18	2.8	2.62	59	0.11	0.18
Lot 5	19	16.32	16.16	55	0.55	0.16
"PLASMA"	20	9.04	8.72	57	0.29	0.32
Lot 6	21	17.05	16.95	55	0.66	0.1
Lot 4	22	5.87	5.73	54	0.19	0.14
Lot 6	23	17.72	17.06	59	0.6	0.66
"PLASMA"	24	7.19	7.06	56	0.23	0.13
Lot 2	25	3.25	3.06	61	0.12	0.19
Lot 6	26	16.52	16.99	52	0.41	-0.47
Lot 1	27	2.7	2.58	52	0.1	0.12
Lot 5	28	16.41	16.03	58	0.46	0.38
Lot 1	29	2.69	2.6	57	0.12	0.09
Lot 3	30	5.5	5.29	59	0.2	0.21
Lot 2	31	3.1	3.03	59	0.13	0.07
Lot 6	32	17.11	16.89	57	0.71	0.22
Lot 2	33	3.25	3.03	54	0.14	0.22
Lot 3	34	5.45	5.26	59	0.21	0.19
Lot 2	35	3.04	3.03	62	0.13	0.01

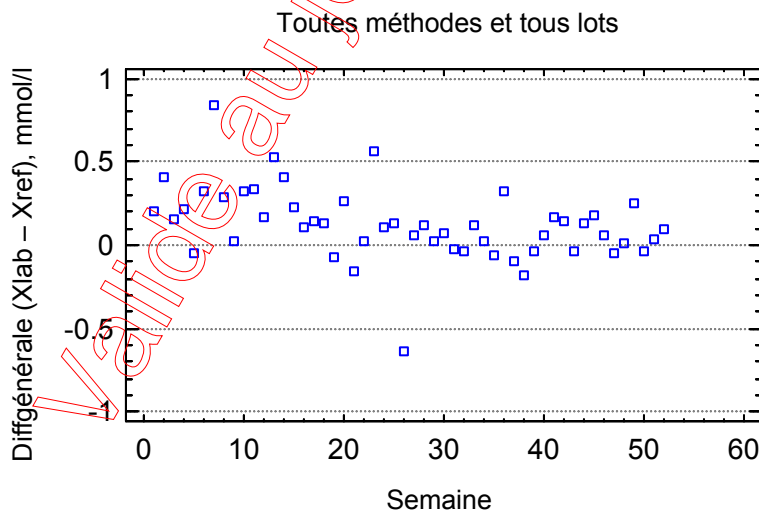
LOT	semaine	Valeur (mmol/L)	Valeurpairs (mmol/L)	npairs	ETpairs	Diffpair (mmol/L)
"PLASMA"	36	7.09	6.72	58	0.2	0.37
Lot 5	37	16.04	15.89	60	0.4	0.15
Lot 4	38	5.61	5.63	56	0.2	-0.02
Lot 1	39	2.61	2.59	60	0.12	0.02
"PLASMA"	40	7.61	7.5	62	0.28	0.11
Lot 3	41	5.56	5.27	54	0.22	0.29
Lot 5	42	16.36	15.97	57	0.39	0.39
Lot 4	43	5.71	5.59	55	0.2	0.12
Lot 6	44	17.16	16.81	59	0.53	0.35
"PLASMA"	45	4.8	4.56	62	0.16	0.24
Lot 3	46	5.43	5.24	59	0.2	0.19
Lot 5	47	16.06	15.87	57	0.42	0.19
Lot 1	48	2.65	2.58	56	0.11	0.07
"PLASMA"	49	11.66	11.32	61	0.33	0.34
Lot 3	50	5.33	5.22	60	0.18	0.11
Lot 4	51	5.78	5.58	55	0.2	0.2
Lot 1	52	2.75	2.58	54	0.12	0.17

12.1.2. Analyses des données

Note : il est proposé ci-après des analyses statistiques des données obtenues, pour information, l'évaluation des incertitudes étant abordée au paragraphe suivant (§ 12.1.3).

A : Ecart entre la valeur du laboratoire et la moyenne générale de l'intercomparaison – Etude de la variable "Diffgénérale" (toutes techniques confondues)

A.1 : Résultats bruts, en fonction du temps



Cette procédure affiche un nuage de points chronologique de "Diffgénérale" ($X_{lab} - X_{ref}$), par rapport à la semaine.

Le traitement statistique sur les écarts donne,

<i>Effectif = 52</i>	mmol/L
Moyenne	0.123462
Ecart-type	0.217489
Minimum	-0.63
Maximum	0.84
Etendue	1.47

Deux valeurs aberrantes seront supprimées, il s'agit des semaines 7 (max) et 26 (min). Le test de Grubbs (cf. annexe 2) a été employé pour l'élimination de ces valeurs. Il a été pratiqué sur la moyenne générale (toutes techniques confondues), mais les mêmes valeurs aberrantes se retrouvent lorsque l'on examine les résultats du groupe de pairs.

Note : l'élimination de valeurs jugées aberrantes ne doit pas s'appuyer que sur des tests statistiques, aussi utiles soient-ils, mais peut également s'appuyer sur une investigation aboutie des causes de ces aberrations – spécialement dans le cadre d'une évaluation d'incertitude : ces points aberrants pouvant correspondre à l'influence d'un facteur particulier. C'est cette recherche des causes sur les valeurs aberrantes qui peut être conduite lors de l'exploitation des résultats de comparaisons interlaboratoires (CEQ).

A.2 : Résultats par niveaux de concentration

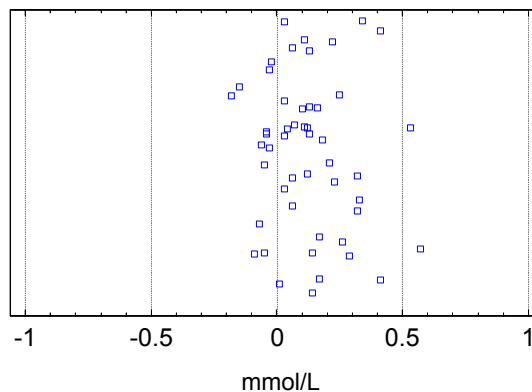
Le traitement statistiques des écarts donne,

Niveaux concentration	Effectif	Moyenne (mmol/L)	Ecart-type (mmol/L)	Minimum (mmol/L)	Maximum (mmol/L)
0<C<4 mmol/L	14	0.0664286	0.0867008	-0.06	0.21
4<C<9 mmol/L	22	0.144545	0.158316	-0.18	0.41
9<C<20 mmol/L	16	0.144375	0.339214	-0.63	0.84
Total	52	0.123462	0.217489	-0.63	0.84

A.3 : Représentation des résultats sans les 2 valeurs extrêmes

Il est représenté sur le schéma suivant la répartition des résultats, en absence des 2 valeurs extrêmes,

écart (Xlab - Xréf) Tous les lots et toutes les méthodes

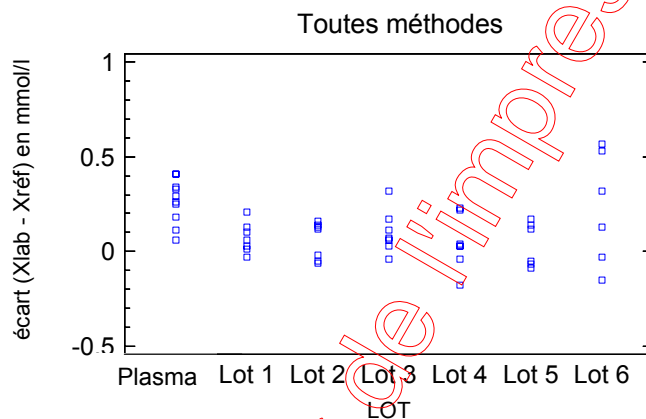


Les statistiques sur cette population donnent désormais,

<i>Effectif = 50</i>	mmol/L
Moyenne (\bar{E})	0.1242
Ecart-type (S_E)	0.164826
Minimum	-0.18
Maximum	0.57
Etendue	0.75

A.4 : Résultats étudiés par lot

Cette fois-ci, il est représenté les valeurs de "Diffgénérale" correspondant à chacun des 7 lots utilisés.



Le traitement statistique indique,

Code	Effectif	Moyenne (mmol/L)	Ecart-type (mmol/L)	Minimum (mmol/L)	Maximum (mmol/L)
"PLASMA"	10	0.264	0.11834	0.06	0.41
Lot 1	7	0.0728571	0.0809762	-0.03	0.21
Lot 2	7	0.06	0.0981495	-0.06	0.16
Lot 3	7	0.102857	0.115717	-0.04	0.32
Lot 4	7	0.0471429	0.143261	-0.18	0.23
Lot 5	6	0.0366667	0.118603	-0.09	0.17
Lot 6	6	0.228333	0.295189	-0.15	0.57
Total	50	0.1242	0.164826	-0.18	0.57

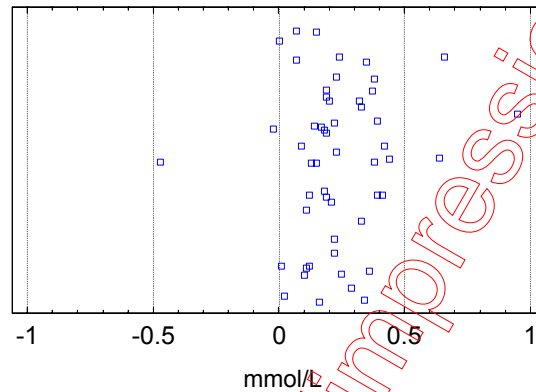
Le lot 6 est significativement plus dispersé, mais seuls les lots 1 à 4 et le lot "PLASMA" intéressent le prescripteur de par leurs niveaux de concentration, car correspondent à des valeurs physiologiques et/ou proches des valeurs de dépistage du diabète sucré (voir le tableau des valeurs).

B : Ecart entre la valeur du laboratoire et la moyenne du groupe de pairs – Etude de la variable "Diffpair" (groupe de pairs)

B.1 : Résultats bruts

Cette fois, c'est la différence entre la valeur du laboratoire et la moyenne du groupe de pairs qui est étudié,

écart (Xlab - Xréf) Tous les lots , même groupe de pairs



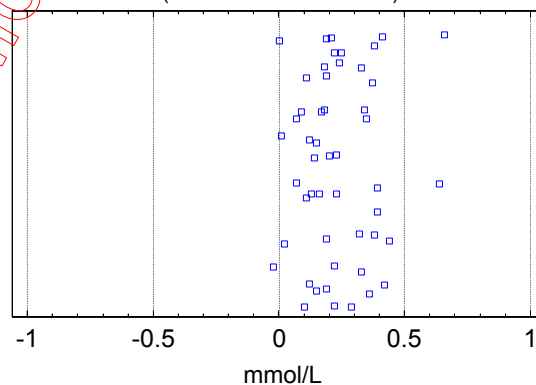
Les résultats obtenus de "Diffpair" (Xlab – Xpair) sont représentés en un nuage de points.

Le traitement statistique des écarts donne alors,

<i>Effectif = 52</i>	mmol/L
Moyenne	0.233077
Ecart-type	0.201266
Minimum	-0.47
Maximum	0.95
Etendue	1.42

B.2 : Représentation des résultats sans les 2 valeurs extrêmes

écart (Xlab - Xréf) Tous les lots , même groupe de pairs
(sans 2 valeurs extrêmes)



Les statistiques sur cette population donnent désormais,

<i>Effectif = 50</i>	mmol/L
Moyenne (\bar{E})	0.2328
Ecart-type (S_E)	0.146914
Minimum	-0.02
Maximum	0.66
Etendue	0.68

12.1.3. Evaluation de l'incertitude

L'évaluation de l'incertitude sur l'analyse de glucose a été effectuée à partir des données précédentes (comparaisons interlaboratoires) et des données de CIQ du laboratoire. Pour effectuer cette évaluation, on s'est placé au niveau de concentration de 6 mmol/L, quatre situations ont été traitées :

- Utilisation des résultats du groupe de pairs,
- Utilisation des résultats de l'ensemble des laboratoires (toutes méthodes),

et à chaque fois avec et sans application d'une correction systématique compensant l'erreur de justesse.

Les tableaux suivant présentent les résultats et les incertitudes obtenues,

Cas 1 : Toutes méthodes

Les données sont issues du chapitre A3, rappelées ci-dessous,

<i>Effectif = 50</i>	mmol/L	Symboles
Moyenne	0.1242	\bar{E}
Ecart-type	0.164826	S_E
Minimum	-0.18	
Maximum	0.57	$MAX E_i $
Etendue	0.75	

Les résultats donnent,

Données en mmol/L :

Concentration :	6,00
-----------------	-------------

Contrôle interne de qualité (CIQ)	
s =	0,12

Contrôle externe de qualité (EEQ)	
\bar{E} =	0,1242
S_E =	0,1648
max E _i =	0,57

Calculs en mmol/L :

	<u>Correction</u>	<u>Pas de correction</u>
$u(CIQ) =$	0,12	0,12

	$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
--	--	--

$u(K_{EEQ}) =$	0,1648	0,329089653
----------------	--------	-------------

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$$

$u(c) =$	0,203860344	0,350285597
$U (k=2) =$	0,41	0,70

Résultats mmol/L (k=2):

Absolu	5,88 ± 0,41	6 ± 0,70
Relatif	5,88 ± 7 %	6 ± 12%

Cas 2 : Groupe de Pairs

Les données sont issues du chapitre B2, rappelées ci-dessous,

Effectif = 50	mmol/L	Symboles
Moyenne	0.2328	\bar{E}
Ecart-type	0.146914	S_E
Minimum	-0.02	
Maximum	0.66	MAX E _i
Etendue	0.68	

Les résultats donnent,

Données en mmol/L :

Concentration : 6,00

Contrôle interne de qualité (CIQ)
s = 0,12

Contrôle externe de qualité (EEQ)

\bar{E} = 0,233
S_E = 0,147
max E _i = 0,66

Calculs en mmol/L :

	Correction	Pas de correction
--	------------	-------------------

$u(CIQ) =$	0,12	0,12
------------	------	------

$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$		$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
--	--	--

$u(K_{EEQ}) =$	0,147	0,381051178
----------------	-------	-------------

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$$

$u(c) =$	0,189760375	0,399499687
----------	-------------	-------------

$U(k=2) =$	0,38	0,80
------------	------	------

Résultats mmol/L (k=2):

Absolu	5,77 ± 0,38	6 ± 0,80
--------	--------------------	-----------------

Relatif	5,77 ± 7 %	6 ± 13%
---------	-------------------	----------------

En incertitude élargie, les résultats sont de 7% lorsque l'on décide d'appliquer une correction et de 12 et 13 % sans application de correction. Afin de valider cette approche une évaluation de l'incertitude par la méthode de référence sur le même mesurande a été réalisée en annexe 3.

Note : Dans ce cas, on peut remarquer que l'écart à la valeur du groupe de pairs est légèrement supérieur à l'écart à la valeur générale, ce qui peut arriver, bien que "surprenant".

12.2. Autres exemples

12.2.1. Un exemple en hémostase : TCA (en secondes)

Dans cet exemple, le laboratoire participe à une EEQ ponctuelle bimestrielle (3 échantillons en 6 mois pour un niveau donné), et à une confrontation externe du CIQ (ce qui permettra de comparer les deux stratégies). La confrontation externe du CIQ mise en place par certains organismes consiste pour le laboratoire à lui transmettre ses données du CIQ afin de comparer ces données à celles trouvées par les autres laboratoires également inscrits et participants, qui utilisent les mêmes échantillons de contrôle. Voici les résultats communiqués par l'organisateur de la comparaison interlaboratoire,

Récapitulatif général des résultats du laboratoire comparé au groupe de pairs (même automate et même réactif)

		Votre résultat	Moyenne groupe de pairs	n	Biais (1)	Alarme (2)
TP - STA®- Néoplastine® CI - STA Satellite®	%	43	43.1	23	-0.1%	V
	INR	2.09	2.09	23	-0.1%	V
	sec	18.5	18.7	23	-0.9%	V
TCA - STA® Cephascreen - STA Satellite®	ratio	1.83	1.79	25	2.1%	V
	sec	53.2	51.6	26	3.1%	V
FIB - STA®- Fib - STA®- Fibrinogen - STA Satellite®	g/l	1.15	1.12	26	3.0%	V

(1) : le biais se calcule par la différence du résultat du laboratoire moins le résultat du groupe de pairs, exprimé en % (en divisant par le résultat du groupe de pairs).

Récapitulatif par test des résultats du laboratoire avec différents niveaux de comparaison

TCA - Polyphénols (sec)

Ensemble des participants		n	moyenne	écart type	CV	Min	Max
Global		354	51.5	3.99	7.7	0	66.0
Méthodologie	Polyphénols	119	49.5	2.27	4.6	0	56.2
Technique	STA® Cephascreen	119	49.5	2.27	4.6	0	56.2
Groupe de pairs	STA® Cephascreen STA Satellite®	26	51.6	2.07	4.0	47.1	56.2

Les données de ce tableau représentent les performances de chaque groupe de comparaison

Votre résultat		Biais %	Score z	Alarme
Global	53.2	3.2%	0.42	V
Méthodologie	Polyphénols	7.5%	1.64	V
Technique	STA® Cephascreen	7.5%	1.64	V
Groupe de pairs	STA® Cephascreen STA Satellite®	3.1%	0.77	V

Les données de ce tableau représentent les performances du laboratoire par rapport à chaque groupe de comparaison sachant que le Zscore (ou IET) est calculé par rapport aux données du groupe de pairs

Récapitulatif des données exploitées et disponibles pour le calcul d'incertitude :

DONNEES DE L'EEQ (3 échantillons en 6 mois) (l'exemple ci dessus concerne le plus mauvais des résultats concernant le TCA)		DONNEES DU CIQ (confrontation externe) (niveaux "N" et "P" passés quotidiennement depuis 11/2005)	
Effectif du groupe de pairs	26 laboratoires	Effectif du groupe de pairs	10 laboratoires (confrontation externe du CIQ)
Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	3 valeurs	Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	> 200 valeurs
Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	78 valeurs	Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	> 2000 valeurs
"Valeur assignée" (moyenne du groupe de pairs)	51,6 sec	"Valeur assignée" du CIQ du laboratoire	63,0 sec
Valeur trouvée par le laboratoire (sur le moins bon résultat des 3 échantillons pour avoir le biais max)	53,2 sec	Moyenne du CIQ du laboratoire	60,6 sec
Biais max "absolu" (max Ei), sur 3 EEQ ponctuelles. (Si pas de correction)	53,2 - 51,6 = + 1,6 sec	Biais max "absolu" sur le CIQ ("non écrêté")	64,0 - 60,6 = + 3,4
Biais moyen "absolu" (\bar{E}) (Si correction)	1,3 sec	Biais moyen "absolu" (\bar{E})	+ 2,42 sec
Biais max relatif	+ 3,1%	Biais max relatif sur le CIQ	6,00%
Ecart Type du groupe de pairs	2,07 sec	Ecart Type du CIQ (s)	1,65 sec
CV du groupe de pairs	4,0%	CV du CIQ	2,73%
Ecart type des différences (SE)	ND (Non Disponible)	Ecart type des différences (SE)	Non calculé
Etendue de la distribution	56,2 - 47,1 = 9,1 sec	Etendue de la distribution du CIQ	64 - 59 = 5 sec

Le biais moyen "absolu" a été calculé par le laboratoire, à partir de ses 3 valeurs (3 participations). Il faut noter que certaines données ne sont pas fournies par l'organisme de comparaison dans cet exemple, comme l'écart type des différences (SE).

Calcul d'incertitude avec l'EEQ ponctuelle couplée au CIQ

Données en seconde :		Calculs en seconde :	
		Correction	Pas de correction
Valeur du laboratoire	53,2	1,65	1,65
Contrôle interne de qualité (CIQ)		$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
s =	1,65	ND	0,923760
Contrôle externe de qualité (EEQ)		$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$	
$\bar{E} =$	1,3	ND	1,8909874
$S_E =$	ND	ND	3,8
max E _i =	1,6		
Résultats en seconde (k=2):			
Absolu	ND	53,2 ± 3,8	
Relatif	ND	53,2 ± 7%	

Note : selon Ricos *et al.*, l' "Erreur Totale", correspond à l'incertitude (en relatif ici), doit être inférieure à 5,4 % (approche "variation biologique"). Cette exemple montre que les objectifs donnés par les auteurs et/ou sociétés savantes ne sont pas toujours accessibles par certaines techniques et/ou par l'ensemble de techniques. Dans ce dernier cas, le laboratoire doit bien interpréter ses valeurs en fonction de l'usage clinique.

Calcul d'incertitude avec la confrontation externe du CIQ

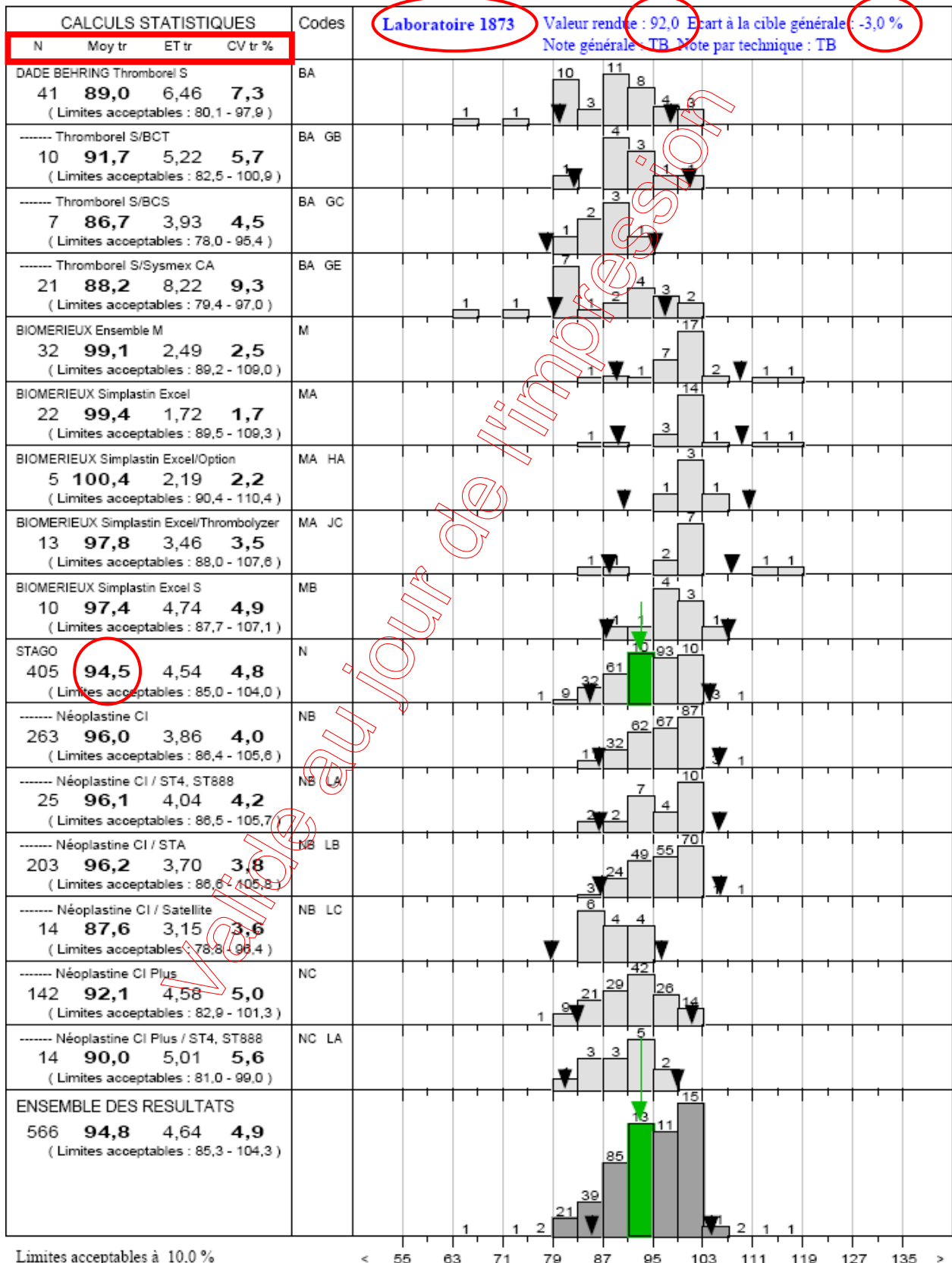
Données en seconde :		Calculs en seconde :	
		Correction	Pas de correction
Valeur du laboratoire	63,0	1,65	1,65
Contrôle interne de qualité (CIQ)		$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
s =	1,65	ND	1,9629992
Contrôle externe de qualité (confrontation externe du CIQ)		$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$	
$\bar{E} =$	2,42	ND	2,56433877
$S_E =$	ND	ND	5,13
max E _i =	3,4		
Résultats en seconde (k = 2):			
Absolu	ND	63,0 ± 5,2	
Relatif	ND	63,0 ± 8%	

Comme on peut le constater les résultats sont tout à fait comparables à ceux du tableau précédent.

12.2.2. Un autre exemple en hémostasie : TP (en %)

Dans cet exemple, le laboratoire participe à une EEQ ponctuelle avec 10 flacons par an. Il a obtenu une première valeur sur son compte-rendu que voici,

TAUX DE PROTHROMBINE (%) Plasma : **5E11** Contrôle du : **17/10/05**



Récapitulatif des données exploitées et disponibles pour le calcul d'incertitude :

DONNEES DE L'EEQ		DONNEES DU CIQ	
Effectif du groupe de pairs	405 laboratoires	Effectif du groupe de pairs	NA
Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	1 valeur	Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	> 100 valeurs
Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	405 valeurs	Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	NA
"Valeur assignée" (moyenne des pairs)	94,5 %	"Valeur assignée" du CIQ du laboratoire	89,0 %
Valeur trouvée par le laboratoire (sur le moins bon résultat des 10 échantillons pour avoir le biais max)	92,0 %	Moyenne du CIQ du laboratoire	89,0 %
Biais max "absolu" (max E_i) (Si pas de correction)	92,0 – 94,5 = - 2,5 %	Biais max "absolu" sur le CIQ ("non écrêté")	NA
Biais max relatif	- 3 %	Biais max relatif sur le CIQ	NA
Biais moyen "absolu" (\bar{E}) (Si correction)	ND (Non Disponible)	Biais moyen "absolu" (\bar{E})	NA
Ecart Type du groupe de pairs	4,54 %	Ecart Type du CIQ (s)	1,62 %
CV du groupe de pairs	4,8 %	CV du CIQ	1,8 %
Ecart type des différences (S_E)	ND	Ecart type des différences (S_E)	Non calculé
Etendue de la distribution	ND	Etendue de la distribution du CIQ	10

Calcul d'incertitude avec l'EEQ ponctuelle couplée au CIQ

Données en % :

Valeur du laboratoire	92
-----------------------	-----------

Contrôle interne de qualité (CIQ)	
s =	1,62

Contrôle externe de qualité (EEQ)	
\bar{E} =	ND
S _E =	ND
max E _i =	2,5

Calculs en % :

	Avec Correction	Pas de Correction
$u(CIQ) =$	1,62	1,62
	$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
$u(K_{EEQ}) =$	ND	1,4434

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$$

$u(c) =$	ND	2,1697
$U(k=2) =$	ND	4,3394

Résultats en % (k = 2):

Absolu	ND	92 ± 4,4
Relatif	ND	92 ± 4,8 %

Note : attention, ici l'évaluation de l'incertitude a été réalisée qu'avec une seule valeur d'EEQ disponible (cas de la mise en place d'une technique au laboratoire)! Cette évaluation sera à réaliser de nouveau à chaque nouvelle valeur obtenue, en tenant compte de l'ensemble des valeurs, jusqu'à un nombre suffisant.

Remarque : dans l'expression des résultats en valeur absolue, le TP +/- son incertitude s'expriment en %, c'est à dire dans l'unité du paramètre (92 +/- 4,4 %), mais attention lorsque l'on veut exprimer l'incertitude relative, car le résultat 92 % +/- 4,8% veut dire en réalité 92 % +/- [(4,4/92)x100]%, et il s'agit bien de % de %.

Note : selon Ricos *et al.*, l'"Erreur Totale", correspond à l'incertitude (en relatif ici), doit être inférieure à 6,6 % (approche "variation biologique").

Valide au jour de l'impression

12.2.3. Un autre exemple en biochimie : HbA1c (en %)

Dans cet exemple, le laboratoire participe à une EEQ ponctuelle avec 4 flacons par an. Les résultats publiés sont,

Technique - Appareil		Sang HG34				Sang HG35			
		Nombre de laboratoires	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	C.V. (%)	Nombre de laboratoires	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	C.V. (%)
toutes techniques confondues	-	282	5,7	0,13	2,3	282	9,6	0,20	2,1
CLBP - tous systèmes	3x	3	5,5	0,15	2,8	3	9,0	0,05	0,6
HPLC - tous systèmes	2x	242	5,8	0,13	2,2	242	9,6	0,17	1,8
HPLC - Bio-Rad - système D10	2P 9GB	6	5,7	0,19	3,4	6	9,5	0,21	2,2
HPLC - Bio-Rad - Variant / Variant II	2O 9GR	12	5,8	0,16	2,8	12	9,6	0,31	3,2
HPLC - Menarini - HA 8121/8140	2F	142	5,8	0,12	2,1	142	9,5	0,20	2,1
HPLC - Menarini - HA 8160	2C	69	5,7	0,09	1,5	69	9,6	0,14	1,5
HPLC - Menarini - HA 8121/-40/-60	9GN	211	5,8	0,13	2,2	211	9,6	0,16	1,7
HPLC - Tosoh - A1c 2.2 analyser G5	2E	10	5,6	0,13	2,3	10	9,4	0,34	3,6
HPLC - Tosoh - HLC 723 G7	2T	3	5,6	0,00	0,0	3	9,5	0,17	1,8
HPLC - Tosoh - A1c 2.2	9GT	13	5,6	0,11	1,9	13	9,4	0,30	3,2
Turbidimétrie - tous systèmes	Hx	34	5,8	0,28	4,9	34	9,7	0,42	4,3
Turbidimétrie - Bayer - DCA 2000	HB UBB	19	5,8	0,26	4,5	19	9,7	0,22	2,3
Turbidimétrie - Olympus - AU 400	H6 DER	3	6,3	0,37	5,8	3	11,0	0,92	8,4
Turbidimétrie - Roche - Integra	HZ	3	6,1	0,56	9,1	3	10,5	0,42	4,0
Turbidimétrie - Roche - Tinaquant	HO	4	5,7	0,32	5,7	4	9,3	0,44	4,7
Turbidimétrie - Roche - Hitachi 917	DWH	3	5,6	0,22	3,9	3	9,1	0,13	1,4

Le laboratoire :

Analyse	Tech.	App.	Unité	Votre Résultat (R)				Votre Résultat (R)				Appré- ciation				
				U SI [U Conv]	NPTT NPPT	Valeurs extrêmes Observées	Moyenne Gen. U SI	CV %	R/m %	U SI [U Conv]	NPTT NPPT		Valeurs extrêmes Observées	Moyenne Gen. U SI	CV %	R/m %
				Sang HG34				Sang HG35								
H2	2F	9GN	G %	5,7	282	5,1 - 6,7	5,7	2,3	100,0	9,8	282	8,2 - 12,0	9,6	2,1	102,1	BON
HA 8121/8140/8160/MENARINI Diagnostics					211	9GN	5,8	2,2	98,3		211	9GN	9,6	1,7	102,1	BON
HEMOGLOBINE GLYQUEE A1c																

Note : Dans cet exemple, étant donné la standardisation du dosage de l'HbA1c par HPLC, on pourrait se comparer à l'ensemble du groupe HPLC, mais l'organisateur compare le laboratoire à un "super groupe de pairs" (HPLC Menarini = 9GN + 2F + 2C). Dans cet exemple la sur-représentation d'un groupe d'utilisateur par rapport aux autres, pourrait "peser" de façon exagérée sur la "valeur assignée".

Récapitulatif des données exploitées et disponibles pour le calcul d'incertitude :

DONNEES DE L'EEQ		DONNEES DU CIQ	
Effectif du groupe de pairs	211 laboratoires	Effectif du groupe de pairs	NA
Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	1 valeur	Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	NA
Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	211 valeurs	Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	NA
"Valeur assignée" (moyenne des pairs)	5,8 %	"Valeur assignée" du CIQ du laboratoire	5,7 %
Valeur trouvée par le laboratoire	5,7 %	Moyenne du CIQ du laboratoire	5,7 %
Biais max "absolu" (max Ei) (Si pas de correction)	5,7 - 5,8 = - 0,1 %	Biais max "absolu" sur le CIQ ("non écrêté")	-0,1 %
Biais max relatif	- 2 %	Biais max relatif sur le CIQ	- 2 %
Biais moyen "absolu" (\bar{E}) (Si correction)	ND (Non Disponible)	Biais moyen "absolu" (\bar{E})	0,06 %
Ecart Type du groupe de pairs	0,13 %	Ecart Type du CIQ (s)	0,12
CV du groupe de pairs	2,2 %	CV du CIQ	2 %
Ecart type des différences (SE)	ND	Ecart type des différences (SE)	Non calculé
Etendue de la distribution	ND	Etendue de la distribution du CIQ	NC

Calcul d'incertitude avec l'EEQ ponctuelle couplée au CIQ

Données en % :	
Valeur du laboratoire	5,7
Contrôle interne de qualité (CIQ)	
s =	0,12
Contrôle externe de qualité (EEQ)	
\bar{E} =	ND
S_E =	ND
max E _i =	0,1

	Calculs en % :	
	Avec Correction	Pas de correction
$u(CIQ) =$	0,12	0,12
	$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
$u(K_{EEQ}) =$	ND	0,5773503
$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$		
$u(c) =$	ND	0,133166
$U(k=2) =$	ND	0,27
Résultats en % (k = 2):		
Absolu	ND	5,7 ± 0,3
Relatif	ND	5,7 ± 4,7 %

Note : Même commentaire que précédemment sur l'expression des résultats en valeur relative.

Note : Selon la SFBC, la dispersion visée ("Erreur totale") correspondant à l'incertitude (en relatif ici), doit être < 16 %.

12.2.4. Un exemple en hormonologie : TSH (en mUI/l)

Dans cet exemple, le laboratoire exploite le résultat du Contrôle National de Qualité (CNQ), et sa confrontation externe du CIQ (voir aussi exemple suivant). Voici les résultats obtenus,

TSH	Limites Acceptables		Toutes Techniques		Technique: SB	
	IA52: 16%	IA53: 16%	IA52	IA53	IA52	IA53
Résultats du Laboratoire						
IA52:	0,49 mUI/l	Effectif	2 437	2 431	90	89
IA53:	5,94 mUI/l	Moyenne			0,497	6,048
SB	DPC Immul / Im 2000/ Im 2500 TSH 3eG	CV			4,6%	3,7%
U4R	DPC Immulite 2000	Résult / Moy.			98,6%	98,2%
			(*)		A-	A-
					Bons résultats	

Récapitulatif des données exploitées et disponibles pour le calcul d'incertitude :

DONNEES DE L'EEQ		DONNEES DU CIQ (confrontation externe du CIQ depuis 10/2005, voir le rapport dans l'exemple suivant)	
Effectif du groupe de pairs	89 laboratoires	Effectif du groupe de pairs	25
Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	1 valeur	Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	109 valeurs
Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	89 valeurs	Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	1940 valeurs
"Valeur assignée" (moyenne des pairs)	6,05 mUI/l	"Valeur assignée" du CIQ du laboratoire	5,25 mUI/l
Valeur trouvée par le laboratoire	5,94 mUI/l	Moyenne du CIQ du laboratoire	5,38 mUI/l
Biais moyen "absolu" (\bar{E}) (Si correction)	5,94 – 6,05 = - 0,11 mUI/l	Biais max "absolu" sur le CIQ ("non écrêté")	-0,71 mUI/l
Biais max relatif	- 2 %	Biais max relatif sur le CIQ	- 14 %
Biais moyen "absolu" (\bar{E}) (Si correction)	ND (Non Disponible)	Biais moyen "absolu" (\bar{E})	0,13
Ecart Type du groupe de pairs	$3,7 \cdot 6,05 / 100 = 0,224$ mUI/l	Ecart Type du CIQ (s)	0,35 mUI/l
CV du groupe de pairs	3,7 %	CV du CIQ	6,5 %
Ecart type des différences (S_E)	ND	Ecart type des différences (S_E)	Non calculé
Etendue de la distribution	ND	Etendue de la distribution du CIQ	NC

Calcul d'incertitude avec l'EEQ ponctuelle couplée au CIQ

Données en mUI/l :	
Valeur du laboratoire	5,94
Contrôle interne de qualité (CIQ)	
s =	0,350
Contrôle externe de qualité (EEQ)	
\bar{E} =	ND
S_E =	ND
max E _i =	-0,11

	Calculs en mUI/l :	
	Correction	Pas de correction
$u(CIQ) =$	0,35	0,35
	$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
$u(K_{EEQ}) =$	ND	-0,06350853

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$$

$u(C) =$	ND	0,35473135
$U(k=2) =$	ND	0,71

	Résultats en mUI/l (k = 2)	
Absolu	ND	5,94 ± 0,71
Relatif	ND	5,94 ± 11,7 %

Note : selon Ricos *et al.*, l'"Erreur Totale", correspond à l'incertitude (en relatif ici), doit être inférieure à 31,3 % (approche "variation biologique"). Selon la SFBC, l'"Erreur Totale" acceptable doit être < 30 % (en relatif ici).

12.2.5. Un second exemple en hormonologie : TSH (en mUI/l)

Cet exemple illustre une confrontation externe du CIQ avec deux niveaux de CQ par jour alternant les niveaux de jour en jour (B + N, puis N + H, puis B + H, etc...), et un suivi sur le même lot de contrôle sur plus de 6 mois. Il s'agit en outre de l'EEQ/CIQ utilisée dans l'exemple précédent. Les résultats obtenus se présentent sous cette forme,

TSH				<u>Mois en cours</u>		<u>Cumul sur 10 mois</u>		
Chemiluminescence $\mu\text{IU/mL}$								
DPC IMMULITE 2000								
Réactif dédié								
Votre labo		Moyenne	0,590	0,587	5,07	5,38	27,38	27,71
		E.T.	0,031	0,035	0,222	0,350	0,812	1,34
		C.V.	5,3	6,0	4,4	6,5	3,0	4,8
		(Pairs) CVR	0,8	0,7	0,6	0,9	0,4	0,7
		(Méthode) CVR	0,6	0,7	0,4	0,6	0,2	0,3
		(Pairs) IET	1,19	0,17	0,35	0,35	0,55	0,05
		(Méthode) IET	0,80	0,68	-0,31	0,23	-0,01	0,12
		Nb. Pts.	11	105	9	109	8	111
Groupe des pairs		Moyenne	0,547	0,579	4,95	5,25	26,36	27,62
DPC IMMULITE 2000/2500		E.T.	0,036	0,048	0,341	0,368	1,85	1,95
		C.V.	6,6	8,3	6,9	7,0	7,0	7,1
		Nb. Pts.	578	3327	297	1940	479	2806
		Nb. Labos	23	33	14	25	20	29
Résultats des laboratoires avec cette méthode		Moyenne	0,551	0,551	5,26	5,25	27,42	27,32
		E.T.	0,049	0,053	0,605	0,566	3,78	3,38
		C.V.	8,9	9,6	11,5	10,8	13,8	12,4
		Nb. Pts.	16605	113105	10817	73407	15832	107469
		Nb. Labos	555	751	381	530	537	722

Récapitulatif des données exploitées et disponibles pour le calcul d'incertitude :

Ce sont les mêmes que dans l'exemple précédent, mais ici on n'utilise pas l'EEQ ponctuelle, mais la confrontation externe du CIQ,

DONNEES DU CIQ (confrontation externe du CIQ depuis 10/2005)	
Effectif du groupe de pairs	25
Nombre de valeurs obtenues par le laboratoire	109 valeurs
Nombre de valeurs obtenues par l'ensemble du groupe de pairs	1940 valeurs
"Valeur assignée" du CIQ du laboratoire	5,25 mUI/l
Moyenne du CIQ du laboratoire	5,38 mUI/l
Biais max "absolu" sur le CIQ ("non écrêté")	-0,71 mUI/l
Biais max relatif sur le CIQ	- 14 %
Biais moyen "absolu" (\bar{E})	0,13
Ecart Type du CIQ (s)	0,35 mUI/l
CV du CIQ	6,5 %
Ecart type des différences (S_E)	Non calculé
Etendue de la distribution du CIQ	NC

Calcul d'incertitude avec la seule confrontation externe du CIQ

Données en mUI/l :

Valeur du laboratoire	5,38
-----------------------	-------------

Contrôle interne de qualité (CIQ)	
s =	0,350

Contrôle externe de qualité (confrontation externe du CIQ)	
\bar{E} =	ND
S_E =	ND
max E _i =	0,71

Calculs en mUI/l :

	Correction	Pas de correction
$u(CIQ) =$	0,350	0,350
	$K_{EEQ} = -\bar{E}$ $u(K_{EEQ}) = S_E$	$K_{EEQ} = 0$ $u(K_{EEQ}) = \frac{\text{MAX } E_i }{\sqrt{3}}$
$u(K_{EEQ}) =$	ND	-0,40991869

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(K_{EEQ})}$$

$u(c) =$	ND	0,53836264
$U(k=2) =$	ND	1,0767

Résultats en mUI/l (k = 2):

Absolu	ND	5,38 ± 1,08
Relatif	ND	5,38 ± 20,1 %

Pour information, avec le biais moyen, on obtient	Absolu	ND	5,38 ± 0,71
	Relatif	ND	5,38 ± 14 %

Note : selon Ricos *et al.*, l'"Erreur Totale", correspond à l'incertitude (en relatif ici), doit être inférieure à 31,3 % (approche "variation biologique"). Selon la SFBC, l'"Erreur Totale" acceptable doit être < 30 % (en relatif ici).

L'évaluation réalisée en utilisant le biais max dans la confrontation externe du CIQ donnent une incertitude nettement plus élevée, car il est pris en compte sur l'ensemble des données (correspondant à une "longue" période) tous les facteurs influents et "majeurs" de l'incertitude (cf. ci-dessous) et augmente la variabilité.

12.2.6. Conclusions et commentaires

En ce qui concerne l'évaluation des incertitudes, la confrontation externe du CIQ présente quelques avantages. En effet la plupart des sources de variabilité sont prises en compte, notamment : changement de lots de réactifs, calibrations, changements d'opérateurs, conditions ambiantes, maintenances, interventions SAV, ... En outre, le nombre de valeurs étant relativement élevé, il n'y a moins de problème de significativité au sens statistique. Enfin, le niveau de valeur testé est le même (notamment important pour l'écart type), mais le biais maximum est forcément plus élevé que lors d'évaluations ponctuelles, le biais moyen étant représentatif de la justesse du laboratoire.

On peut constater que les données telles que écart type ou CV et biais max semblent plus élevés que pour dans le cas d'un contrôle ponctuel, ou du CIQ sur de courtes périodes. Ceci est dû à la prise en compte de tous les paramètres listés ci-avant.

Rappelons néanmoins, que dans le cadre du contrôle externe de la qualité (CEQ), la confrontation du CIQ présente des inconvénients, puisque les valeurs assignées (cibles) sont connues à l'avance, le contrôle n'est pas fait en "aveugle", et que certains "effets de matrice" peuvent ne pas être pris en compte ou détectés.

Valide au jour de l'impression

13. ELEMENTS DE REFLEXION POUR LES METHODES D'ANALYSES QUALITATIVES

Pour les méthodes d'analyses qualitatives *stricto sensu*, notamment réalisées suivant des techniques manuelles, il apparaît difficile aujourd'hui d'évaluer les incertitudes de mesures. L'évaluation de l'incertitude de mesure par des calculs mathématiques ou statistiques est donc peu ou pas applicable. Il est rappelé ici les politiques du Cofrac en la matière, mentionnées dans les documents Cofrac LAB Ref 02 en application de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et LAB LABM Ref 02, pour la norme NF EN ISO 15189 (§ 9.2.3).

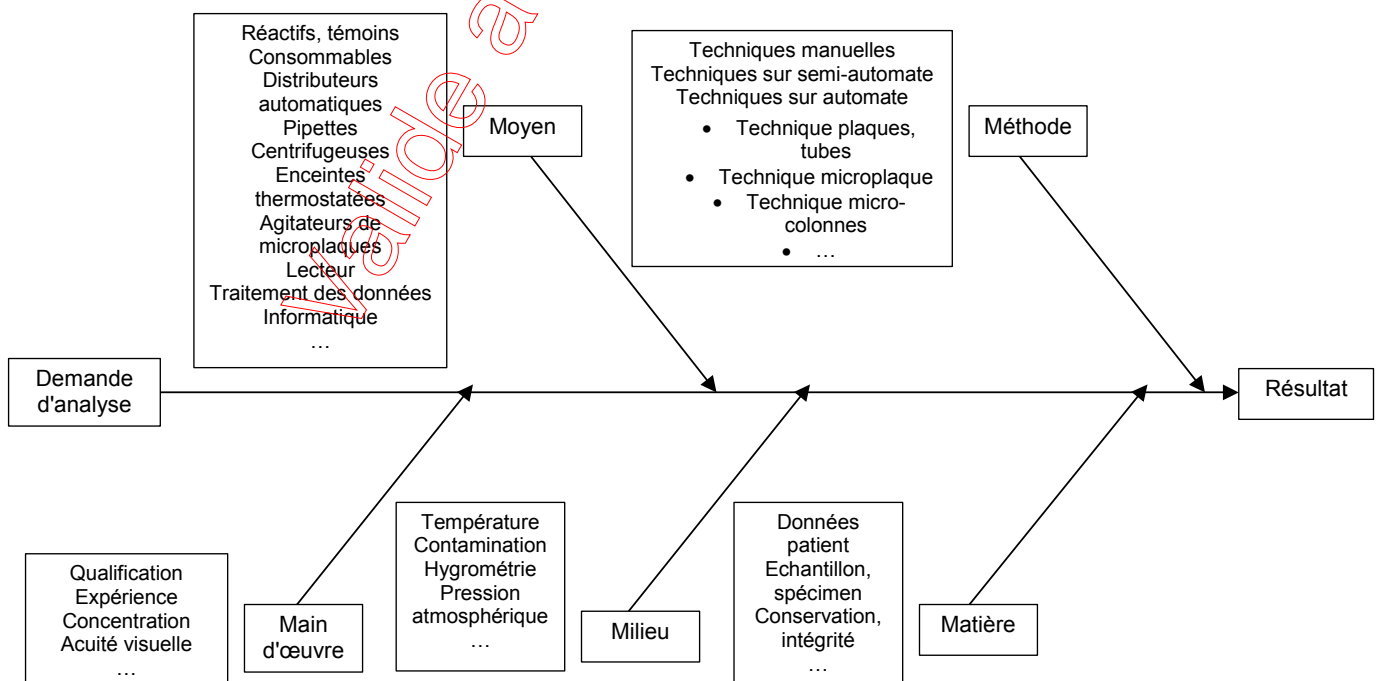
Le laboratoire ne doit pas se cantonner au seul cas des analyses quantitatives, pour les méthodes d'analyses qualitatives, il lui appartient de procéder à une analyse de risque, afin d'établir les éléments de variabilité du processus. Cette analyse doit être réalisée en prenant en compte l'intégralité du processus analytique, et elle consiste en :

- Identifier et lister tous les facteurs susceptibles d'influencer le résultat de l'analyse, au même titre que dans le cas des méthodes d'analyses quantitatives (cf. § 9.2),
- Justifier l'influence jugée non significative de certains facteurs qui ne sont pas pris en compte,
- Montrer comment sont maîtrisés les facteurs dont l'influence est significative, de manière à minimiser les risques et les erreurs.

A l'issue de cette analyse, une éventuelle estimation "raisonnable" de certaines composantes d'incertitude sera conduite ainsi que leurs impacts sur les résultats annoncés. S'il persiste des facteurs d'influence significative ne pouvant être maîtrisés ou difficilement, leur impact sur le résultat d'analyse doit être évalué et le cas échéant faire l'objet d'une information au client si elle est importante pour la validité des résultats obtenus.

Pour établir la liste exhaustive des facteurs susceptibles d'influencer sur le résultat, le laboratoire s'appuie sur une analyse de chaque étape de son processus, par exemple à partir de la méthode des "5M" (main d'œuvre, milieu, matériel, matière et méthode) qu'on peut représenter sur un diagramme d'Ishikawa, ou dans un tableau reprenant ces "5M" pour chaque étape.

Exemple de diagramme d'Ishikawa, dans le cas d'analyses d'Immunohématologie,



En tout état de cause, il appartiendra au laboratoire d'apporter la preuve de la maîtrise sur les facteurs influents, notamment au travers des dispositions qu'il a pu prendre au sein de son Système de Management de la Qualité (qualification des personnels, maîtrise des données, validation informatique de leur traitement, maîtrise des réactifs, ...).

Pour les méthodes d'analyses automatisées assimilables au quantitatif à résultat qualitatif c'est-à-dire avec rendu d'un signal quantifié et interprétation par rapport à un seuil de décision analytique ("cut off"), par exemple en sérologie sur des techniques EIA et RIA, il est possible de suivre les CV des résultats de CIQ, ce qui prend en compte quelques sources d'incertitudes (reproductibilité interne ou fidélité intermédiaire). Néanmoins, dans ce cas, le biais est habituellement inaccessible, puisque en général les matériaux de contrôle (CIQ) ne sont pas fournis avec leur valeur assignée, et que les organisateurs de comparaisons interlaboratoires ne retransmettent généralement pas les données quantitatives dans leurs exploitations statistiques dans leurs comptes rendus. Par ailleurs, on peut suivre les CV uniquement sur les échantillons/témoins "positifs", puisque par définition, les échantillons/témoins "négatifs" ne contiennent pas d'anticorps ni d'antigène (il s'agit plutôt d'un "blanc réactif" pour lequel le CV, souvent > à 30 voire 50 %, n'a que peu d'intérêt). Ainsi, l'évaluation des CV, représentant la variabilité du processus analytique (reproductibilité interne ou fidélité intermédiaire), en tant qu'incertitude, pourrait permettre de ré-évaluer les "zones grises" pour chaque test, sous réserve de faire cette évaluation sur un échantillon de contrôle dont la valeur assignée est proche de la valeur du "cut-off" (cf. LAB GTA 06).

Il est alors possible de calculer un ratio entre la valeur de signal de l'échantillon et celle du "cut-off": ces ratios peuvent être traités en suivant les techniques classiques de maîtrise statistique des procédés. La valeur des échantillons de contrôle peut être choisie dans une zone peu éloignée du seuil de décision ("cut-off"). Le suivi au long court du CIQ fournit l'évaluation de la fidélité.

La comparaison des moyennes obtenues avec celles du groupe des pairs (indispensable avec ce type de technique ou la définition du mesurande est généralement méthode dépendant) fournit l'évaluation de la justesse, lors de comparaisons interlaboratoires, pourvu que les données quantitatives soient également fournies par l'organisateur de la comparaison.

La combinaison des valeurs de biais et de fidélité permet d'évaluer l'incertitude des résultats du laboratoire.

Toutefois, le suivi de ce CV a certaines limites et une attention particulière est à apporter au matériel de contrôle utilisé pour ce suivi. En effet, un échantillon dont le résultat est à la limite du "cut off" donnera un CV plus grand que celui d'un échantillon de résultat bien plus élevé. Néanmoins, pour pouvoir correctement caractériser la "zone grise", l'emploi d'un échantillon de contrôle proche du "cut off" s'avère très utile et est le meilleur indicateur à suivre. Son CV sera extrapolé à la "zone grise", tout en portant une attention à la discrimination de la méthode. Le laboratoire portera une attention particulière au principe même des techniques: il convient d'éviter de raisonner de la même façon pour un marqueur dont le résultat est obtenu à l'aide d'une technique par compétition si une des trois autres techniques issues de l'ELISA, est utilisée.

14. BIBLIOGRAPHIE

14.1. Références réglementaires

Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. (GBEA), J.O. Numéro 287 du 11 décembre 1999, page 18441 ([NOR : MESP9923609A](#)).

Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. Numéro 104 du 4 Mai 2002, page 8375 ([NOR : SANP0221588A](#)).

Directive [98/79/CE](#) du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998, relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, JOCE 7.12.98, L.3317 1-37.

14.2. Références normatives générales

Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. NF EN ISO/CEI 17025 ([AFNOR](#)).

Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 15189 ([AFNOR](#)).

Normes fondamentales - Vocabulaire des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM). NF X07-001 ([AFNOR](#)).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 1 : probabilité et termes statistiques généraux. NF ISO 3534-1 ([AFNOR](#)).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 2 : maîtrise statistique de la qualité. NF ISO 3534-2 ([AFNOR](#)).

Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM). NF ENV 13005 ([AFNOR](#)).

Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM) – supplément 1 : numerical methods for the propagation of distributions. DGUIDE 99998 ([ISO](#)).

Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure. ISO/TS 21748 ([AFNOR](#)).

Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1-6, NF ISO 5725 (1-6) et rectificatifs techniques ([AFNOR](#)).

Essais d'aptitude des laboratoires par intercomparaison - Partie 1 : Développement et mise en oeuvre de systèmes d'essais d'aptitude. ISO/CEI GUIDE 43-1 ([AFNOR](#)).

Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires. NF ISO 13528 ([AFNOR](#)).

Métrologie et applications de la statistique - Aide à la démarche pour l'estimation et l'utilisation de l'incertitude des mesures et des résultats d'essais. FD X07-021 ([AFNOR](#)).

Métrologie et applications de la statistique - Utilisation des incertitudes de mesures : présentation de quelques cas et pratiques usuelles. FD X07-022 ([AFNOR](#)).

Mesurage des grandeurs dans des échantillons d'origine biologique. Traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle. NF EN ISO 17511 ([AFNOR](#)).

Utilisation des matériaux de référence certifiés. ISO Guide 33 ([ISO](#)).

Étalonnage en chimie analytique et utilisation de matériaux de référence certifiés. ISO/CEI Guide 32 ([AFNOR](#)).

Estimer l'incertitude, Mesures et Essai. C. Perruchet et M. Priel, 2000, ([AFNOR](#)).

Grandeurs et unités - Principes généraux. NF X02-001 ([AFNOR](#)).

Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire. NF EN ISO 9000 : Décembre 2000 ([AFNOR](#)).

14.3. Documentation Cofrac – EA

[Document Cofrac LAB REF 02](#), "Accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 – Prescriptions" ([Cofrac](#)).

[Document Cofrac LAB LABM REF 02](#), "Exigences pour l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025" ([Cofrac](#)).

[Document Cofrac LAB GTA 04](#), "Guide de validation des méthodes en Biologie Médicale" ([Cofrac](#)).

[Document Cofrac LAB GTA 06](#), "Les contrôles de la qualité analytiques en Biologie Médicale" ([Cofrac](#)).

Documents Cofrac d'accréditation Cofrac en Biologie Médicale (Programmes n° [143](#), [145](#), [147](#), [155](#) et [168](#), respectivement, [Analyses en Biochimie](#), [Analyses en Hématologie](#), [Analyses en Immunologie](#), [Analyses en Bactériologie](#), et [Analyses en Toxicologie et suivi thérapeutique pharmacologique](#)) ([Cofrac](#)).

[Document Cofrac LAB REF 05](#), "Règlement d'accréditation", document décrivant le processus d'accréditation des laboratoires par le Cofrac" ([Cofrac](#)).

[Document Cofrac LAB LABM REF 04](#), "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale suivant la norme ISO 15189 - Politique Cofrac" ([Cofrac](#)).

Document [EA-4/16](#) "Lignes directrices d'EA pour l'expression de l'incertitude des résultats d'essais quantitatifs" ([EA](#))

Document ILAC-G17 "Introducing the Concept of Uncertainty of Measurement in Testing in Association with the Application of the Standard ISO/IEC 17025" ([ILAC](#)).

Document ILAC-G9 "Guidelines for the Selection and Use of Reference Materials" ([ILAC](#)).

14.4. Evaluation des incertitudes de mesure – Statistiques

Guide EURACHEM/CITAC, Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques, 2eme édition, 2000 ([LNE](#)).

Guide pratique pour la validation, le contrôle qualité, et l'estimation de l'incertitude d'une méthode d'analyse œnologique alternative. 10/2005, annexe E du Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, OIV Ed., Paris, [OIV](#).

Guide méthodologique pour l'estimation des incertitudes en analyse chimie, Projet METREAU, janvier 2003, LNE C370 X18 ([LNE](#)).

Qualité de l'eau - Protocole d'estimation de l'incertitude de mesure associée à un résultat d'analyse pour les méthodes physico-chimiques. XP T90-220 ([AFNOR](#))

Microbiologie des aliments - Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives. ISO TS 19036 ([AFNOR](#)).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Guide pour l'utilisation des matériaux de référence. FD V03-115: Juillet 1996 ([AFNOR](#)).

Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, Nordtest project 1589-02, janvier 2003, Eurofins A/S, Agern Allé 11, DK-2970 Hørsholm, Denmark.

Applied regression analysis, Draper and Smith (1966), Ed. WILEY.

14.5. Evaluation des incertitudes de mesure en Biologie Médicale

Current databases on biological variation : pros, cons and progress, Ricos *et al.*, Scand J Clin Lab Invest (1999) 59 : 491-500.

Biological Variation: From Principles to Practice, C.G. Fraser, Washington, DC: AACC Press, 2001, ISBN 1-890883-49-2.

Estimation of Uncertainty of Measurement in Medical Laboratories, EDMA Position Paper, European Diagnostic Manufacturer Association, http://www.edma-ivd.be/fileadmin/upl_documents/Position_Papers/Estimation_of_uncertainty.pdf.

Uncertainty of measurement in quantitative medical testing – A laboratory implementation guide, White et Farrance, Australasian Association of Clinical Biochemists, Clin Biochem Rev (2004) 25: suppl (ii).

Implementation of Traceability and uncertainty in *in-vitro* diagnostic products-results or the Roche workshop "in vitro diagnostics directive": practical applications of uncertainty calculation, Andresson *et al.*, Accred Qual Assur (2004) 9: 47 - 51.

Evaluation of measurement uncertainty in clinical chemistry – Application to determinations of total concentration of calcium and glucose in human serum, Solveig *et al.* Institute for Reference Materials and Measurements, www.irmm.jrc.be

Uncertainty in measurement – Introduction and examples from laboratory medicine, Kallner *et al.*, eJIFCC, 13 (1): [1301200103](#)

Effects of drugs on clinical laboratory tests, D. S. Young, 5th ed. Washington DC AAC Press 2000, www.aacc.org, (extraits accessibles sur www.edhayes.com/labtestmain2.html).

Examen de laboratoire et médicaments, Interférences analytiques et variations pharmacologiques" G. Siest, ed. Expansion scientifique française.

14.6. Sites Internet

Cofrac, Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr

LABAC, Réseau National des Laboratoires accrédités, www.labac.org

JCTLM, Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (CIPM, ILAC, IFCC),
<http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm/>

EDMA, European Diagnostic Manufacturer Association, www.edma-ivd.be

IRMM, Institute for Reference Materials and Measurement, www.irmm.jrc.be

IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry, www.iupac.org

NIST, National Institute of Standards and Technology, www.nist.gov

AFNOR, Association Française de Normalisation, www.afnor.fr

HAs, Haute Autorité de santé (ex ANAES), www.has.sante.fr

EA, European co-operation for Accreditation, www.european-accreditation.org

ILAC, International Laboratory Accreditation Co-operation, www.ilac.org

Valide au jour de l'impression

15. ANNEXE 1 – OBJET DU JCTLM (*en anglais*)

PREAMBLE

The goal of obtaining comparability of laboratory diagnostic test results will be reached only when common reference systems can be established for worldwide use. A critical step in reaching this goal is achieving traceability of values obtained using reference measurement procedures and reference materials to a universally recognized and accepted reference point such as the International System of Units (SI). Recently, traceability requirements for medical devices to be imported into the European Community have been codified. The European Community In Vitro Diagnostic Directive (EC IVDD) states that "The traceability of values assigned to calibrators and/or control materials must be assured through available reference measurement procedures and/or available reference materials of a higher order." (98/79/EC, Annex I (A) (3) 2nd paragraph).

The Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) was created to meet the need for a worldwide platform to promote and give guidance on internationally recognized and accepted equivalence of measurements in laboratory medicine and traceability to appropriate measurement standards. These are embodied in ISO 17511, 17025 and 18153. The JCTLM created two working groups:

- WG1 Reference Materials and Reference Measurement Procedures
- WG2 Reference Measurement Services.

The Declaration of Cooperation between the International Committee of Weights and Measures (CIPM), the International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), and the International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) for establishment of the JCTLM can be found at <http://www.bipm.org/en/convention/mou/jctlm.html>

JCTLM WG1 is charged with establishing a process for identifying, reviewing against agreed upon criteria, and publishing List(s) of Higher Order Certified Reference Materials and Reference Measurement Procedures required for industry compliance with the EC IVDD.

Nominated reference materials and measurement methods/procedures were categorized according to the criteria described in ISO 15194 and ISO 15193. Two Lists of Higher Order Reference Materials and Reference Measurement Methods/Procedures will be published:

- List I. Certified reference materials and reference measurement methods for well-defined chemical entities or internationally recognized reference method-defined measurands. Reference materials and measurement methods included in this category are those that provide values that are traceable to the SI units; e.g., electrolytes, enzymes, drugs, metabolites and substrates, non-peptide hormones, and some proteins.
- List II. Reference materials for which values of the measurands are not SI-traceable but are assigned by or traceable to an internationally agreed upon protocol, e.g., reference materials for blood typing, coagulation factors, microbial serology, nucleic acids, and some proteins and purified substances. List II also contains a group of purified substances which, due to the absence of reference measurement procedures, should not be directly used for calibration of routine methods unless commutability is established and/or matrix effect independent internationally recognized standardized value transfer protocols to commutable samples are applied.

The general procedures by which reference materials and reference measurement methods/procedures have been evaluated for listing are provided in the JCTLM Quality System Document which is available on the BIPM and IFCC websites at <http://www.bipm.org/en/committees/ic/jctlm/jctlm-db/> and <http://www.ifcc.org> respectively. JCTLM WG2 is establishing criteria and processes for listing reference measurement services of laboratories.

New materials, reference methods/procedures and reference measurement services will be considered for listing periodically, but not less frequently than biennially. Listed materials are expected to be available for at least eighteen months after initial posting. However, because usage rates for listed materials cannot be predicted accurately, producers must be contacted by anyone intending to use the listed material to determine availability of the current materials and projected times for production of new lots. It is the responsibility of the producer to notify the JCTLM Secretariat if a material ceases to be available.

16. ANNEXE 2 – TEST DE GRUBBS

Le test de Grubbs est un test d'homogénéité, utiliser pour détecter des valeurs aberrantes. Le principe du test est détaillé dans la norme NF ISO 5725-2.

Soit un ensemble de valeurs ordonnées $\{x_1, x_2, \dots, x_p\}$, le test se décline en 2 étapes, un test simple et un test double. Il est proposé ici uniquement le test simple.

La statistique du test de Grubbs pour tester si la plus grande observation de l'ensemble est une valeur aberrante est,

$$G_p = \frac{(x_p - \bar{x})}{s}$$

où \bar{x} est la moyenne et s est l'écart-type de l'ensemble

La statistique du test de Grubbs pour tester si la plus petite observation de l'ensemble est une valeur aberrante est,

$$G_1 = \frac{(\bar{x} - x_1)}{s}$$

où \bar{x} est la moyenne et s est l'écart-type de l'ensemble

Prendre la statistique la plus grande :

1. Si la statistique du test (G_1 ou G_p) est inférieure ou égale à sa valeur critique (voir tableau ci-dessous) à $\alpha\%$, l'hypothèse d'homogénéité des valeurs est acceptée (pas de valeur aberrante),
2. Si la statistique du test (G_1 ou G_p) est supérieure à sa valeur critique à $\alpha\%$, l'hypothèse d'homogénéité des valeurs est rejetée, la donnée correspondante est aberrante.

Tableau des valeurs critiques - Test de Grubbs

Grubbs simple			Grubbs simple		
p	à 1%	à 5%	p	à 1%	à 5%
3	1.155	1.155	22	3.06	2.758
4	1.496	1.481	23	3.087	2.781
5	1.764	1.715	24	3.112	2.802
6	1.973	1.887	25	3.135	2.822
7	2.139	2.02	26	3.157	2.841
8	2.274	2.126	27	3.178	2.859
9	2.387	2.215	28	3.199	2.876
10	2.482	2.29	29	3.218	2.893
11	2.564	2.355	30	3.236	2.908
12	2.636	2.412	31	3.253	2.924
13	2.699	2.462	32	3.27	2.938
14	2.755	2.507	33	3.286	2.952
15	2.806	2.549	34	3.301	2.965
16	2.852	2.585	35	3.316	2.979
17	2.894	2.62	36	3.33	2.991
18	2.932	2.651	37	3.343	3.003
19	2.968	2.681	38	3.356	3.014
20	3.001	2.709	39	3.369	3.025
21	3.031	2.733	40	3.381	3.036

p = nombre de valeurs

Valide au jour de l'impression

17. ANNEXE 3 – EVALUATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE DE L'ANALYSE SELON L'APPROCHE "ANALYTIQUE" (GUM) : CAS DE LA GLYCEMIE

Le processus physicochimique de l'analyse du glucose dans un spécimen de plasma humain (C_g) a été modélisé. Les variables d'entrée ont été établies, ainsi que les facteurs influents : effet de matrice, effet dû à la dérive et effet dû à la phase pré-analytique. L'équation du modèle peut alors s'écrire ainsi,

$$C_g = \left(\left[C_0 + \frac{A_s}{A_{Cal}} (C_{cal} - C_0) \right] \times \left(\frac{V1+V2}{V2} \right) \times f_{matrice} \times f_{dérive} + K_{pre} \right)$$

en mmol/L (notations dans le tableau suivant).

L'approche GUM a été mise en œuvre, avec les variables correspondantes et valeurs associées (ex. incertitudes dû aux pipetage), ainsi que les valeurs associées au "doute" (incertitudes, écart-types, intervalle de dispersion, ...) et leur provenance. Cette information a été le cas échéant transformée en incertitude selon le 2 modes d'évaluation (type A ou B, et loi associée). L'incertitude type de chaque composante a été calculée, ainsi que sa contribution sur l'incertitude totale.

Valide au jour de l'impression

Evaluation de l'incertitude selon la méthode GUM (données Laboratoire de Biochimie CHU Toulouse)

Mesurande : concentration totale de glucose (Cg) dans un spécimen de plasma humain

CODE X_i	Composantes	VALEUR X_i	UNITE	INFORMATION FOURNIE POUR L'EVALUATION DE $u(X_i)$		TYPE	LOI	$u(X_i)$	Ci	%
				valeur	source					
A_s	Absorbance corrigée blanc de la mesure	0,3	[AU]	0,006	Reproductibilité laboratoire évaluée par CIQ, 2%	A		0,0060	23,5249	44,56%
A_{cal}	Absorbance de la solution d'étalonnage corrigée blanc	0,3445	[AU]	0,0046	Dispersion expérimentale sur 6 mois	A		0,0046	-20,486	19,86%
C_0	Concentration totale de glucose au pt 0 du "calibrage" (eau pure)	0	mmol/L	0	Par hypothèse, pas d'incertitude sur l'eau pure	-	-	0,0000	0,13021	0,00%
C_{cal}	Concentration totale de glucose lors du "calibrage"	8,04	mmol/L	0,1437	Hypothèse: 3 fois incertitudes du MR NIST 965 auquel le "calibrant" est traçable	B	k=2	0,1437	0,87779	35,58%
V_1	Volume de l'échantillon (Automate)	1,6	μ L	justesse : 0,03 répétabilité : 0,014	Incertaince des pipettes fournie par le fabricant	B	k=2	0,0223	0,03501	0,00%
V_2	Volume 2 réactifs + eau (Automate)	200	μ L	justesse : 1,6 répétabilité : 0,3	Incertaince des pipettes fournie par le fabricant	B	k=2	0,9700	-0,003	0,00%
$f_{matrice}$	Facteur dû à l'effet de matrice	1	-	0	Pas d'information	-		0		
$f_{dérive}$	Facteur dû à la dérive (sensibilité de l'appareil)	1	-	0	Information fabricant ou incluse dans la fidélité	-		0		
K_{pre}	Correction due à la phase pré-analytique	0	mmol/L	0	Plan d'expériences (après validation 1 bras) 4% à 5mmol/l	-		0		

Alors, le calcul donne une incertitude type, $u = 0,2115 \text{ mmol/L}$, et, une incertitude élargie, $U = 0,43 \text{ mmol/L}$ ($k = 2$), soit 6,0 %

Le résultat est alors, **$Cg = 7,06 \pm 0,43 \text{ mmol/L}$** ($k = 2$), les 2 chiffres significatifs ont été conservés (selon GUM).

Le résultat peut être rendu au prescripteur, vu les besoins cliniques, en ne gardant qu'un chiffre significatif,

$Cg = 7,1 \pm 0,5 \text{ mmol/L}$ ($k = 2$)

En utilisant l'approche essai d'aptitude couplé à des données intralaboratoires (cf. ch. 12.1.3), il a été obtenu une incertitude de 7 % proche de celle de 6% obtenue en appliquant la méthode GUM, sous la condition d'appliquer une correction, ce qui apparaît cohérent et valide par l'exemple la nouvelle approche proposée. Rappelons que par l'approche interlaboratoire, l'évaluation des incertitudes est nécessairement un peu plus élevée puisqu'elle prend en compte *a priori* tous les facteurs d'influence.

En dernière colonne de ce tableau, est indiqué la contribution de chaque composante d'incertitude par rapport à l'incertitude type.

Note : les facteurs d'influence (en grisé dans le tableau) ont été négligés (à ce jour, pas de données exploitables).

Valide au jour de l'impression

18. ANNEXE 4 – RÔLE ET UTILISATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE

La plaquette pédagogique présentée ci-après illustre le rôle de l'incertitude de mesure qui est bien un indicateur de la fiabilité du résultat rendu (niveau de confiance) et non un élément qui desservirait ce résultat. L'information qu'elle apporte sera utile pour l'exploitation du résultat associé, comme une prise de décision. Cette plaquette a été publiée à des fins de communication, notamment envers les clients des laboratoires qui peuvent être peu ou pas sensibilisés à ces concepts d'incertitudes de mesure.

Valide au jour de l'impression

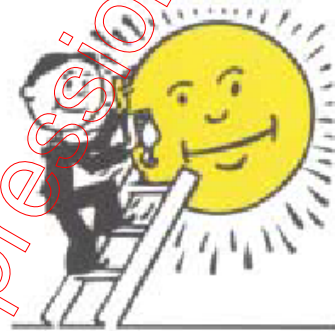
Information importante pour nos clients à propos de la qualité des mesures

- 1** *Utilisez-vous les résultats des analyses chimiques pour porter des jugements et prendre des décisions ?*



Nous qui travaillons dans des laboratoires accrédités et sommes concernés par la qualité des mesures, voudrions vous informer d'importants changements dans la présentation des résultats de mesure. Ces changements vont vous faciliter la tâche et vous aideront à prendre de bonnes décisions.

- 2** *La perfection n'est pas de ce monde !*



Les résultats d'analyses ne peuvent être parfaits ! Nous sommes sûrs que vous le saviez déjà. Nous employons le terme incertitude de mesure pour exprimer cet écart à la perfection.

- 3** *L'analyse chimique*

A chaque étape d'une analyse, de l'échantillonnage à la mesure finale, des écarts par rapport à la «valeur vraie» apparaissent et les conditions de mesure varient. Nous prenons des dispositions et effectuons régulièrement des contrôles afin de nous assurer que ces écarts et variations restent suffisamment faibles pour que le résultat final corresponde à vos besoins. Lorsque nous n'avons pas d'informations complètes sur chacune des étapes, vous pouvez nous aider en nous informant sur le déroulement de ce processus (par exemple quand c'est vous, le client, qui effectuez l'échantillonnage et la préparation de l'échantillon). Nos experts sont prêts à vous conseiller sur tous les aspects concernant l'échantillonnage. Merci de contacter le Laboratoire au préalable.



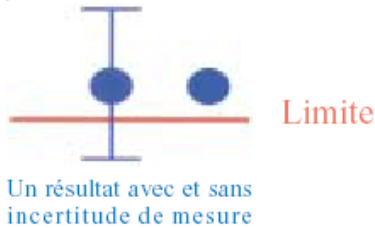
- 4** *Les résultats doivent être adaptés à votre besoin*



Les résultats doivent être exacts, mais une grande exactitude a un coût. Elle doit être adaptée à l'objectif fixé. Si vous ne connaissez pas le niveau d'exactitude dont vous avez besoin, n'hésitez pas à contacter le Laboratoire.

5 L'incertitude et les seuils limites

Beaucoup d'analyses sont réalisées pour vérifier que des seuils ne sont pas dépassés. Si on ne connaît pas l'incertitude, il n'y a rien de plus facile que de prendre des décisions. Mais celles-ci peuvent être erronées et lourdes de conséquences : dans le domaine économique si on rejette un produit acceptable, dans le domaine judiciaire si on condamne un innocent et dans le domaine médical si on impose un traitement inutile. Les exemples sont innombrables !



Avec une incertitude de mesure réaliste, l'information contenue dans le résultat devient bien plus utile.

6 Il sera plus facile de comparer les résultats



Jusqu'à présent, la plupart des laboratoires ont choisi de ne pas annoncer l'incertitude de mesure dans le rapport d'essais. Cette information n'est fournie que sur demande du client.

Ces informations sur les incertitudes de mesure sont disponibles sur demande.

A l'avenir, les informations sur l'incertitude de mesure seront courantes dans les rapports d'analyse. Peut-être allez-vous aussi être confrontés à des termes nouveaux qui ne vous sont pas familiers. Cela est dû à la parution de nouveaux guides internationaux et de normes qui introduisent une terminologie en partie nouvelle. L'un de leurs objectifs est de faciliter la tâche des clients des laboratoires quand ils comparent les résultats d'essais.

7 Comment seront présentés les résultats ?

Quand nous exprimerons un résultat d'essais, nous donnerons les informations habituelles sur ce que nous avons mesuré. Quand les résultats seront accompagnés par des estimations d'incertitude, ils seront présentés sous la forme d'intervalles à l'intérieur desquels on espère trouver une proportion élevée (généralement 95 %) des valeurs possibles pour le résultat. Dans l'exemple ci-dessous, la teneur en plomb est de $1,65 \pm 0,15 \text{ mmol.kg}^{-1}$, c'est-à-dire comprise entre 1,50 et 1,80. L'incertitude de mesure est également souvent exprimée de manière relative en %.

Teneur en plomb total (Pb)	$1,65 \text{ mmol.kg}^{-1}$
Incertitude de mesure	$0,15 \text{ mmol.kg}^{-1}$ (9,1 %)

L'incertitude déclarée est une incertitude élargie (U). Elle a été obtenue en multipliant l'incertitude-type composée u_c par le coefficient d'élargissement k égal à 2. Cela correspond approximativement à un intervalle de niveau de confiance de 95 %.

8 Tout est bien qui finit bien...



Il existe une demande croissante pour une présentation cohérente des résultats. Engagés dans les mesures, nous sommes impatients de nous assurer que nous avons bien compris vos besoins. Vous le remarquerez lors de vos contacts avec nous avant, pendant et après la réalisation de l'essai. Nous espérons que vous serez satisfaits du résultat final.



eurolab-France