

Acceptabilité et expression des résultats expérimentaux

Biochimie – Génie biologique

Document validé par l'Inspection Générale le **18 janvier 2009**
annule et remplace la version précédente

Document établi par un groupe de travail d'enseignants et d'IA-IPR de « biochimie génie biologique » :
Christine Benayoun, Christiane Joffin, Françoise Lafont, Jean-François Perrin, Jean-Louis Rohaut.
Caroline Bonnefoy, Philippe Garnier, Claude Gavrilovic.

Acceptabilité et expression des résultats expérimentaux	1
Avertissement.....	2
Définitions	2
Métrologie	2
Matériau de référence.....	2
Mesurage (mesure)	2
Mesurande	2
Fidélité	2
Répétabilité	3
Reproductibilité.....	3
Justesse.....	3
Biais	3
Exactitude de mesure.....	4
Erreur de mesure	4
Incertitude de mesure.....	4
Incertitude - type composée u_c	5
Incertitude élargie U	5
Arrondi de l'incertitude élargie et du résultat final.....	5
Mise en application des normes de métrologie : pour l'acceptabilité des résultats d'essais pour l'expression du résultat final accompagné de son incertitude	6
1. Acceptabilité des résultats.....	6
1.1. Contrôle d'acceptabilité à partir de deux ou trois résultats	6
1.2. Validation de l'exactitude des résultats à l'aide de la mesure ponctuelle d'un échantillon de contrôle.....	8
1.3. Validation dans le cadre d'un système de maîtrise statistique intra laboratoire.....	9
2. Expression du résultat avec son incertitude.....	9
2.1. Démarche.....	9
2.2. Exemples.....	10

Document établi d'après les références suivantes :

- Normes ISO 5725 - 1 à 6 : 1994(F) ; ISO 3534-1 ;
- annales de biologie clinique- volume 65 ; Numéro 2 ; 185-200 - mars avril 2007 ;
- document VIM, « vocabulaire international de métrologie » ;
- document GUM, « guide pour l'expression de l'incertitude » XP X 07 – 020 1996 ;
- guide EURACHEM/CITAC « quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques », 2° ed. ;
- site CAT.INIST du CNRS ;
- « Incertitudes et analyse des erreurs dans les mesures physiques » de John Taylor chez Dunod (janvier 2000) ;
- guide ISO/CEI 43

Avertissement

1. Ce document n'est pas destiné aux élèves et étudiants mais aux enseignants.
2. Il a pour objectif d'harmoniser les règles utilisées en milieu scolaire et leur mise partielle en conformité avec les normes de métrologie.
3. Ces règles et leur mise en œuvre concernent les élèves dès la classe de première STL BGB.
4. Les modalités d'évaluation des résultats pratiques obtenus par les élèves et étudiants ne seront pas envisagées dans ce document.

Définitions

Métrologie

« Science des mesurages et ses applications ». (VIM 2008)

Matériau de référence

« Matériau ou substance dont une ou plusieurs valeurs 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 valeur aux matériaux ». (VIM¹)

« Matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne une ou plusieurs propriétés, utilisé sans valeur assignée pour contrôler la fidélité de mesure (spécimen -ou échantillon- de contrôle non titré) ou avec valeur assignée pour servir à l'étalonnage (étalon) ou au contrôle de la justesse de mesure (spécimen de contrôle titré) ». (ABC²)

Mesurage (mesure)

« Processus consistant à obtenir expérimentalement une ou plusieurs valeurs que l'on peut raisonnablement attribuer à une grandeur ». (VIM 2008)

Mesurande

« Grandeur particulière soumise à mesurage ». (VIM)

« La spécification complète du mesurande comporte trois éléments : le système, l'analyte et la grandeur ». Exemple : « Détermination de la concentration molaire du glucose dans le sérum ».

Résultat d'un mesurage (résultat d'une mesure)

« Ensemble de valeurs attribuées à un mesurande, complété par toute autre information pertinente disponible ». (VIM 2008)

Fidélité

« Étroitesse de l'accord entre des résultats indépendants obtenus sous des conditions stipulées ». (ISO³). On distingue la fidélité sous conditions de répétabilité, la fidélité sous conditions de reproductibilité et la fidélité intermédiaire.

La fidélité est en général exprimée numériquement sous forme d'écart-type, de variance ou de coefficient de variation, (ABC). Le défaut de fidélité résulte des erreurs⁴ aléatoires.

¹ Vocabulaire international de métrologie

² Annales de biologie clinique- volume 65 ; Numéro 2 ; 185-200 - mars avril 2007

³ ISO 3534-1 et ISO 5725-1

⁴ Les erreurs grossières (évitables par définition) sont dues au manipulateur.

Les erreurs systématiques sont liées au manque de justesse de la méthode.

Les erreurs aléatoires sont liées au manque de fidélité (répétabilité, reproductibilité) de la méthode.

Écart-type noté « s » ou « σ_{n-1} » (valeur estimée) :
$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$
 avec moyenne :
$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

👉 Pourquoi parle-t-on de « valeur estimée » ?

Il s'agit de la meilleure valeur estimée de l'écart-type, car le nombre d'essais réalisés est toujours un nombre fini.

On pourrait aussi parler d'« écart-type expérimental »

Coefficient de variation :

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

Répétabilité

« Fidélité, pour un niveau donné de l'échantillon, dans les conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essais identiques, dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps » (ISO).

👉 Peut-on parler de la répétabilité des résultats ?

Il est préférable de ne pas utiliser le terme "répétabilité des résultats", la « répétabilité » caractérise une méthode de mesure à un niveau donné de l'échantillon et non les résultats obtenus.

Cette qualité est quantifiée par une valeur algébrique appelée « l'écart-type de répétabilité ».

Reproductibilité

« Fidélité, pour un niveau donné de l'échantillon, dans les conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essais identiques, dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents » (ISO).

- **Reproductibilité intra-laboratoire** (fidélité intermédiaire) : même procédure opératoire, même lieu, pendant une période de temps étendue. (ABC)
- **Reproductibilité inter-laboratoire** (reproductibilité) : lieux, opérateurs et/ou systèmes de mesure différents.

Justesse

« Étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée. » (ISO 3534-1)

La valeur de référence acceptée est la valeur conventionnellement vraie. Le terme « précision » ne doit plus être utilisé dans ce contexte. (VIM)

Biais

Valeur algébrique qui permet de mesurer la justesse. Le défaut de justesse résulte des erreurs systématiques.

Le biais est « la différence entre l'espérance mathématique (ou la moyenne) et une valeur de référence acceptée ».

$$\text{biais} = \bar{x} - x_{\text{référence}}$$

👉 Quelle différence existe-t-il entre justesse et biais ?

Le biais est la valeur algébrique permettant de quantifier la « justesse » qui est une des qualités de la méthode.

Il est possible d'exprimer le biais relatif par l'expression suivante :

$$\text{"biais relatif"} = \frac{\bar{x} - x_{\text{référence}}}{x_{\text{référence}}} \times 100$$

Exactitude de mesure

« Étroitesse de l'accord entre une valeur de résultat d'essai et la valeur de référence acceptée du mesurande. »

Erreur de mesure

L'erreur de mesure est la valeur algébrique qui permet de quantifier « l'exactitude ».

« Différence entre la valeur mesurée et une valeur de référence, c'est la somme de l'erreur systématique (erreur de justesse) et de l'erreur aléatoire (défaut de fidélité), souvent désignée en biologie médicale sous l'appellation d'erreur totale ou parfois d'inexactitude. » (ABC)

$$\text{Erreur de mesure} = x - x_{\text{ref}}$$

👉 Quelle est la différence entre exactitude de mesure et justesse ?

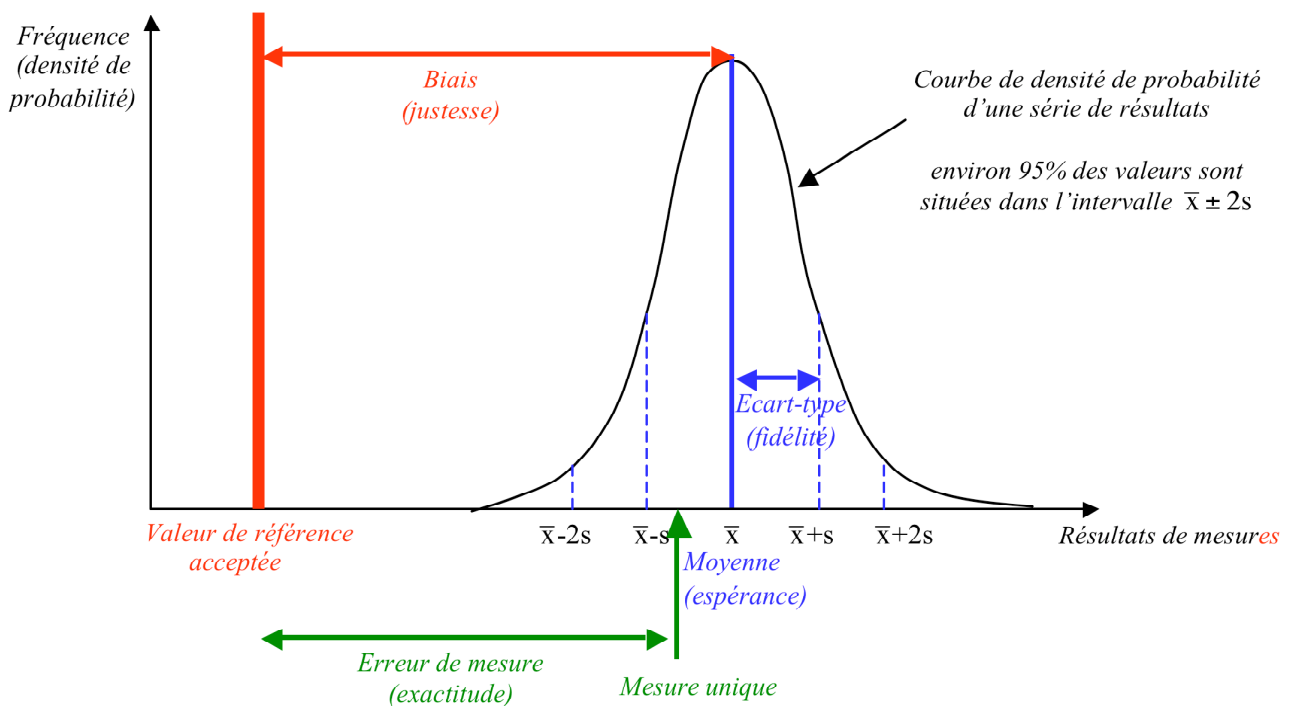
La « justesse » concerne la méthode (ou un laboratoire pratiquant une méthode) et donc s'évalue par l'écart de la moyenne d'une série d'essais à la valeur de référence, cet écart est appelé « biais ».

L'exactitude ne concerne qu'un résultat d'essai, et s'évalue par « l'erreur de mesure »

Incertitude de mesure

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

Il ne faut pas confondre incertitude et erreur. L'incertitude traduit le **doute** sur la valeur attribuée au mesurande. L'incertitude tient compte des erreurs aléatoires et des erreurs systématiques non maîtrisées.




👉 Pourquoi la distribution correspondant à la courbe de densité de probabilité suit-elle une loi normale ?

Dans le graphe ci-dessus, on considère que la distribution correspondant à la courbe de densité de probabilité suit une loi normale car c'est le cas dans la quasi totalité des dosages réalisés avec une méthode normalisée résultant d'une combinaison de phénomènes aléatoires indépendants. Pour un nombre de résultats expérimentaux finis, on détermine la moyenne et l'écart-type.

Incertitude - type composée u_c

Dans une méthode de dosage, différents facteurs influencent la valeur du résultat. A chacun des facteurs on peut associer une incertitude-type. L'incertitude-type globale sur le résultat est appelée incertitude-type composée. Elle s'exprime sous la forme d'un écart-type, dans l'unité du résultat correspondant.

 Comment est déterminée u_c ?

L'incertitude-type composée est déterminée par un laboratoire spécialisé de métrologie. Elle dépend des différents facteurs influençant la mesure, elle est donc composée, et est établie mathématiquement par composition des incertitudes-types de chacune des grandeurs d'influence.

Les données d'« incertitude-type composée » sont demandées par les nouveaux référentiels « qualité » et vont se généraliser dans un proche avenir.


Incertitude élargie U

Le résultat peut s'exprimer sous la forme : $\boxed{X = x \pm U}$

L'incertitude élargie U est obtenue en multipliant l'incertitude-type composée par un facteur k appelé facteur d'élargissement, qui permet d'obtenir un intervalle correspondant au niveau de confiance choisi. Le niveau de confiance d'environ 95 % est généralement retenu.

$$\boxed{U = k \times u_c}$$

Classiquement, dans les laboratoires, chaque résultat est obtenu à partir d'un mesurage unique, la densité de probabilité suit une loi normale et l'incertitude-type a été évaluée dans ce contexte, le facteur d'élargissement est alors $k = 2$ pour un niveau de confiance d'environ 0,95.

 Et si le niveau de confiance retenu était d'environ 0,99 ?

Alors la valeur du facteur d'élargissement k deviendrait $k = 3$.

Arrondi de l'incertitude élargie et du résultat final

- L'incertitude élargie est donnée avec au maximum deux chiffres significatifs, mais le plus souvent, pour les analyses biologiques et biochimiques, un seul chiffre est proposé pour exprimer le résultat final (cf exemples).
- Le dernier chiffre significatif du résultat doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie.
- L'arrondi des résultats et des incertitudes se fait en appliquant les règles usuelles d'arrondi : il n'y a pas de majoration des incertitudes, sauf exception (GUM)⁵.

⁵ GUM = guide to uncertainty in measurement = guide pour l'expression de l'incertitude.

Mise en application des normes de métrologie : pour l'acceptabilité des résultats d'essais pour l'expression du résultat final accompagné de son incertitude

1. Acceptabilité des résultats

1.1. Contrôle d'acceptabilité à partir de deux ou trois résultats

Il devra être effectué au niveau de la préparation du baccalauréat et du post baccalauréat.

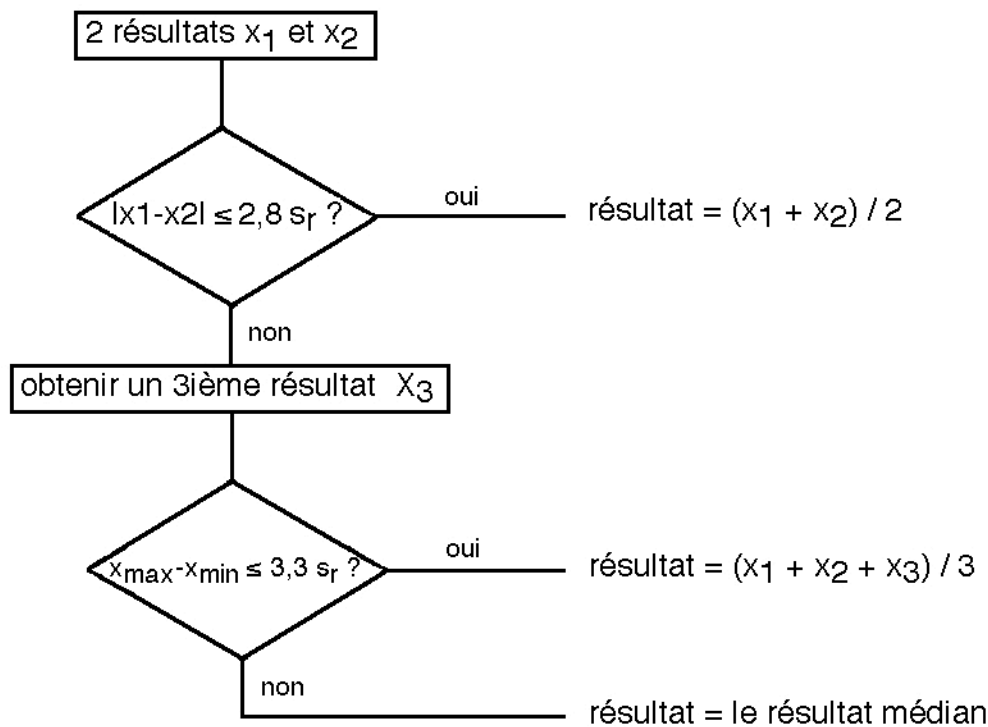
1.1.1 Démarche

On donnera l'écart-type de répétabilité s_r (« r » minuscule) de la méthode aux alentours des valeurs mesurées.

Mathématiquement, on peut établir l'intervalle de confiance entre les résultats d'essais :

- Pour une probabilité d'environ 0,95, l'écart entre deux valeurs de résultats obtenus en condition de répétabilité est inférieur à $2,8 \cdot s_r$ environ ;
- Pour une probabilité d'environ 0,95 l'écart entre la plus petite et le plus grande valeur pour trois résultats obtenus en condition de répétabilité est inférieure à $3,3 \cdot s_r$ environ.

Les élèves utiliseront donc l'écart-type de répétabilité pour contrôler l'acceptabilité de leurs résultats en regardant si les écarts entre résultats sont acceptables selon le **logigramme** suivant :



Utilisation du logigramme :

- Si trois essais sont possibles, l'ensemble du logigramme sera utilisé ;
- Si pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de réaliser un troisième essai alors qu'il est nécessaire, la moyenne ne sera pas effectuée et un résultat sera rendu pour l'un des essais ;

👉 Où peut-on trouver l'écart-type de répétabilité s_r ?

D'après la norme ISO 5725, une méthode normalisée est caractérisée par un écart-type de répétabilité s_r identique à un niveau donné, quel que soit le laboratoire, qui peut donc fournir cette valeur.

Conclusion :

- Indiquer le nombre de résultats d'essais utilisés pour le calcul ;
- Préciser si le résultat retenu correspond à la moyenne arithmétique ou à la médiane.

1.1.2. Exemples


Premier exemple

- Écart-type de répétabilité : $s_r = 0,32$ mmol/L.
- Résultats obtenus :
 - $c_1 = 0,051236$ mol/L $c_2 = 0,051245$ mol/L
- Calculs :
 - $c_1 - c_2 = 0,009$ mmol/L
 - $2,8 \cdot s_r = 0,896$ mmol/L
 - $0,009$ mmol/L < $0,896$ mmol/L

Conclusion : $c_2 - c_1 < 2,8 \cdot s_r$; la moyenne est calculée.

Le compte-rendu indiquera que :

- *L'écart-type de répétabilité $s_r = 0,32$ mmol/L*
- *Deux résultats ont été obtenus par des essais réalisés en conditions de répétabilité.*
- *La moyenne a été calculée, car ils sont suffisamment proches.*
- *Le résultat établi est $c = 51,24$ mmol/L*

 *Comment choisit-on le nombre de chiffres significatifs ?*

Il est suffisant de garder autant de chiffres significatifs que pour l'écart-type de répétabilité, car il est certain que l'incertitude élargie sera proposée avec un nombre inférieur ou égal de chiffres significatifs que celui de l'écart-type de répétabilité.

Deuxième exemple

- Écart-type de répétabilité : $s_r = 0,21$ mmol/L.
- Résultats obtenus :
 - $c_1 = 0,053036$ mol/L $c_2 = 0,053683$ mol/L
- Calculs :
 - $c_2 - c_1 = 0,647$ mmol/L
 - $2,8 \cdot s_r = 0,588$ mmol/L
 - $0,647$ mmol/L > $0,588$ mmol/L

Conclusion : $c_2 - c_1 > 2,8 \cdot s_r$; ces deux résultats ne sont pas suffisamment proches, un troisième essai doit être effectué.

Troisième essai : $c_3 = 0,053438$ mol/L

- Calculs :
 - $c_{\max} - c_{\min} = 0,647$ mmol/L
 - $3,3 \cdot s_r = 0,693$ mmol/L
 - $0,647$ mmol/L < $0,693$ mmol/L

Conclusion : $c_{\max} - c_{\min} < 3,3 \cdot s_r$; la moyenne est calculée.

Le compte-rendu indiquera que :

- *L'écart-type de répétabilité = $0,21$ mmol/L*
- *Trois résultats ont été obtenus par des essais réalisés en conditions de répétabilité*
- *La moyenne a été calculée, car c_{\max} et c_{\min} sont suffisamment proches.*
- *Le résultat établi est $c = 53,39$ mmol/L*

Troisième exemple

- Écart-type de répétabilité : $s_r = 0,21$ mmol/L
- Résultats obtenus :
 - = $c_1 = 0,051236$ mol/L $c_2 = 0,051981$ mol/L
- Calculs :
 - $c_2 - c_1 = 0,745$ mmol/L
 - $2,8 \cdot s_r = 0,588$ mmol/L
 - $0,745$ mmol/L > $0,588$ mmol/L

Conclusion : $c_2 - c_1 > 2,8 \cdot s_r$; ces deux résultats ne sont pas suffisamment proches, un troisième essai doit être effectué.

Troisième essai : $c_3 = 0,051265$ mol/L

- Calculs :
 - $c_{\max} - c_{\min} = 0,745$ mmol/L
 - $3,3 \cdot s_r = 0,693$ mmol/L
 - $0,745$ mmol/L > $0,588$ mmol/L

Conclusion : $c_{\max} - c_{\min} > 3,3 \cdot s_r$; c'est la médiane qui sera retenue.

Le compte-rendu indiquera que :

- L'écart-type de répétabilité $s_r = 0,21$ mmol/L
- La moyenne ne peut être retenue, car c_{\max} et c_{\min} ne sont pas suffisamment proches.
- La médiane a été retenue :
- Le résultat établi est $c = 51,27$ mmol/L

1.2. Validation de l'exactitude des résultats à l'aide de la mesure ponctuelle d'un échantillon de contrôle

Ce type de validation sera réservé au niveau post baccalauréat.

Objectif

Estimer par un calcul statistique si la mesure de l'échantillon de contrôle se situe bien dans l'intervalle proposé pour celui-ci afin de valider les résultats de la série de dosages réalisés dans les mêmes conditions.

Lors de cette étude, le mesurage sera mis en œuvre sur un matériau de référence de valeur connue « a » accompagnée de son incertitude type composée $u_c(a)$ ou élargie $U = k \cdot u_c(a)$.

L'écart type de reproductibilité s_R (« R » majuscule) ou de fidélité intermédiaire doit être également fourni.

Détermination de la valeur de l'écart normalisé (E.N.)

L'étudiant s'assurera que la mesure de l'échantillon de contrôle se situe bien dans l'intervalle proposé pour celui-ci ; à cette fin, il déterminera la valeur de l'Écart Normalisé (EN) :

$$EN = \frac{|x - a|}{\sqrt{u_c^2(a) + s_R^2}}$$

Où :

- « a » est la valeur de référence acceptée de l'échantillon de contrôle ;
- « $u_c(a)$ » est l'incertitude type composée affectée à l'échantillon « a » ;
- « s_R » est l'écart type de reproductibilité pour le mesurage de « a » ;
- « x » est la mesure de « a » par le laboratoire.

Si $EN < 2$, le biais n'est pas significatif et on pourra valider le résultat obtenu.

Remarque :

Lorsque l'échantillon de contrôle est proposé sans incertitude, on admettra que $u_c(a) = 0$ et l'expression devient :

$$|x - a| < 2 \cdot s_R$$

s_R sera parfois remplacé par l'écart type de fidélité intermédiaire.

Premier exemple

- Valeur, connue avec son incertitude élargie, de l'échantillon de contrôle : $a = 7,23 \pm 0,14$ mmol/L, avec $k = 2$;
- Le résultat d'un mesurage au laboratoire donne la valeur de 7,14 mmol/L ;
- L'écart type de reproductibilité s_R est de 0,32 mmol/L ;
- Calcul :

$$EN = \frac{|7,14 - 7,23|}{\sqrt{0,07^2 + 0,32^2}} = 0,27$$

Conclusion : $EN < 2$; l'erreur de mesure n'est pas significative et les résultats de dosage des échantillons peuvent être validés.

Second exemple

- Valeur de l'échantillon de contrôle $a = 4,31$ mmol/L ;
- Le résultat d'un mesurage au laboratoire donne la valeur de 4,93 mmol/L ;
- L'écart - type de reproductibilité s_R est de 0,29 mmol/L ;
- Calcul :

$$4,93 - 4,31 = 0,62 \text{ mmol/L} \quad \text{et} \quad 2 s_R = 0,58 \text{ mmol/L}$$

Conclusion : $|x - a| > 2 s_R$; l'erreur de mesure est significative et les résultats de dosage des échantillons ne peuvent pas être validés.

 *Peut-on utiliser un intervalle de validation ?*

Oui, pour simplifier, il est possible de donner directement l'intervalle de validation associé à l'échantillon de contrôle et à la méthode utilisée. Si la mesure de l'échantillon de contrôle est située dans l'intervalle de validation, l'étudiant pourra valider les résultats de dosage des échantillons à analyser.

1.3. Validation dans le cadre d'un système de maîtrise statistique intra laboratoire

Utilisation des données des cartes de contrôle. Ce cas ne concerne que les classes post-baccalauréat et sera traité ultérieurement.

2. Expression du résultat avec son incertitude

On dispose de la valeur retenue après validation des résultats expérimentaux (X).

Ce mode d'expression doit être utilisé au niveau post baccalauréat.

2.1. Démarche

- L'expression du résultat final nécessite de connaître l'**incertitude-type composée**. La répétabilité n'est qu'une composante de l'incertitude.
- Pour atteindre un niveau de confiance d'environ 95 %, cette incertitude-type composée sera multipliée par le **facteur d'élargissement $k = 2$** , ce qui permet d'obtenir l'**incertitude élargie**. C'est elle qui est en général utilisée dans l'expression du résultat.
- Le dernier chiffre significatif du résultat sera à la même position décimale que le dernier chiffre significatif de l'incertitude élargie.

- Le nombre de chiffres significatifs retenu pour l'incertitude élargie sera, sauf cas contraire explicitement indiqué, identique à celui de l'incertitude-type composée.

☞ Quelles données doivent être communiquées à l'étudiant afin qu'il puisse exprimer un résultat avec l'incertitude élargie associée ?

Une valeur pour l'incertitude-type composée, le facteur d'élargissement k et la probabilité associée, le nombre de chiffres significatifs à retenir sur la valeur d'incertitude élargie.

2.2. Exemples

Premier exemple

- Valeur retenue : $c_x = 0,225611 \text{ mol/L}$
- Incertitude-type composée fournie : $0,0004 \text{ mol/L}$
- Le document indiquera que : « Pour les incertitudes élargies, on utilisera un facteur d'élargissement k égal à 2 qui conduit à un niveau de confiance d'environ 0,95 ».

Le compte-rendu indiquera :

- $U = 2 \cdot 0,0004 = 0,0008 \text{ mol/L}$
- Deux chiffres significatifs sont conservés pour l'incertitude élargie
- $c_x = 0,2256 \pm 0,0008 \text{ mol/L} = 225,6 \pm 0,8 \text{ mmol/L}$
- « L'incertitude élargie, calculée à l'aide d'un facteur d'élargissement 2, donne un niveau de confiance d'environ 95% ».

Second exemple

- Valeur retenue : $c_x = 0,225611 \text{ mol/L}$
- Incertitude-type composée fournie : $0,0036 \text{ mol/L}$
- Le document indiquera que : « Pour les incertitudes élargies, on utilisera un facteur d'élargissement k égal à 2 qui conduit à un niveau de confiance d'environ 0,95 ».

Le compte-rendu indiquera :

- $U = 2 \cdot 0,0036 = 0,0072 \text{ mol/L}$
- Un seul chiffre significatif est conservé pour l'incertitude élargie
- $c_x = 0,226 \pm 0,007 \text{ mol/L} = 226 \pm 7 \text{ mmol/L}$
- « L'incertitude élargie calculée à l'aide d'un facteur d'élargissement 2, donne un niveau de confiance d'environ 95% ».