

SG2-06

Incertitude de mesure

C. Giroud, J. Arnaud, A. Vassault
et les membres du sous-groupe 2 analytique*

Groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale »
(coordonnateur M. Vaubourdolle)

RÉSUMÉ

La norme NF EN ISO 15189 requiert l'évaluation de l'incertitude de mesure des résultats lorsque cela est possible et pertinent. Cet article propose des recommandations pour l'évaluer à partir de données disponibles au laboratoire de biologie médicale en illustrant également l'intérêt d'une telle détermination.

MOTS CLÉS : accréditation | ISO 15189 | incertitude de mesure | traçabilité métrologique | mesurande | variations biologiques

ABSTRACT Uncertainty of measurement

The ISO 15189 standard requires the evaluation of measurement uncertainty where relevant and possible. This document presents recommendations for a simple evaluation of the uncertainty from data available in medical laboratory and illustrates the value of such a determination.

KEY WORDS: accreditation | ISO 15189 | measurement uncertainty | metrological traceability | measurand | biological variations

* **Liste des membres du SG2 :** Anne Vassault (coordonnateur), Valérie Adjidé, Josiane Arnaud, Pascal Bailly, Frédéric Barbier, Bruno Baudin, Catherine Bourcier, Éric Chapuzet, Patrice Combe, Jacques de Graeve, Jean-Louis Dhondt, Laurence Drouard, Patrice Fournier, Claude Giroud, Line Guezeneq, Joseph Henry, Anne Hulin, Guy Lalau, Christian Nourrin, Jean-Marc Pavard, Agnès Perrin, Henri Portugal, Olivier Reuilly, Jean Pascal Siest, Anton Szymanowicz

Objet et domaine d'application



L'objet de cet article est de présenter le mode d'évaluation de l'incertitude de mesure et de souligner son intérêt pour une interprétation éclairée des résultats. Il s'agit d'un résumé des recommandations de la Société française de biologie clinique (SFBC) : *Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale* [1].

Tout résultat étant le fruit d'une mesure est affecté d'une erreur. Son influence sur la valeur du résultat, appelée incertitude de mesure, peut être évaluée pour apporter une aide à son interprétation :

- **dans le cas d'un résultat comparé à un résultat antérieur** : est-ce que la différence observée entre deux résultats correspond à une variation purement analytique ou est-elle le reflet d'une modification physiopathologique ? Si la variation analytique est importante en regard des variations pathologiques à mettre en évidence, il est capital, pour toute variation, de ne pas à tort l'interpréter comme une variable pathologique et prendre des décisions thérapeutiques inappropriées ;
- **dans le cas d'un résultat comparé à un seuil de décision défini au niveau national ou international par consensus** : la différence entre la valeur seuil et la valeur observée qui détermine le diagnostic ou une décision thérapeutique serait-elle imputable à un effet analytique ?

L'incertitude de mesure doit être évaluée pour toutes les mesures quantitatives réalisées au laboratoire de biologie médicale (LBM) dans les cas où cela est jugé pertinent et possible (cas des méthodes quantitatives dont l'interprétation s'effectue par rapport à une antériorité ou à un seuil de décision clinique). Sinon, le laboratoire doit en justifier la raison. Les méthodes semi-quantitatives peuvent être considérées comme les méthodes quantitatives dès lors que le signal de mesure est disponible.

Le concept d'incertitude de mesure ne s'applique pas aux méthodes qualitatives.

1 Les exigences de la norme NF EN ISO 15189

5.6.2. « Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans les 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 environnementales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateur.

5.5.3. c) et k) Toutes les procédures analytiques doivent être documentées, être disponibles au poste de travail du personnel concerné. Le principe de la méthode de calcul des résultats, incluant l'incertitude de mesure devrait faire partie de la documentation.

5.8.3. k) Le laboratoire peut fournir, sur demande, des informations sur la limite de détection et l'incertitude de mesure dans le compte rendu d'analyse. » [2]

2 Définitions

→ Incertitude de mesure

« Paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées. » [3 – paragraphe 2.26]

→ Incertitude type

« Incertitude de mesure exprimée sous la forme d'un écart type. » [3 – paragraphe 2.30]

→ Incertitude type composée

« Incertitude type obtenue en utilisant les incertitudes types individuelles associées aux grandeurs d'entrée dans un modèle de mesure. » [3 – paragraphe 2.31]

→ Mesurande

« Grandeur que l'on veut mesurer.

Note 1. La spécification d'un mesurande nécessite la connaissance de la nature de grandeur et la description de l'état du phénomène, du corps ou de la substance dont la grandeur est une propriété, incluant tout constituant pertinent, et les entités chimiques en jeu. » [3 – paragraphe 2.3]

3 Évaluation de l'incertitude de mesure

L'évaluation de l'incertitude de mesure est réalisée, en adéquation avec le *Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure* [4].

Décrire le mesurande considéré

Il convient de définir rigoureusement le mesurande. La description complète du mesurande comprend trois éléments :

- le milieu biologique (plasma, sérum, urine, etc.) ;
- l'analyte qui identifie le composant mesuré ;
- le type de grandeur (concentration de substance, concentration d'activité, etc.) soumis à l'analyse.

Il est important de noter que le type de grandeur peut dépendre de la méthode utilisée. Exemple pour la natrémie : la potentiométrie directe mesure la concentration d'activité du sodium plasmatique alors que la potentiométrie indirecte mesure la concentration de substance.

Évaluer l'incertitude composée

Pour évaluer l'incertitude de mesure dans un LBM, il convient de retenir comme principales composantes :

- l'incertitude liée à l'étalonnage lorsqu'elle est connue ;
- l'incertitude liée à la méthode de mesure ;
- l'incertitude liée à d'autres facteurs lorsque cela est nécessaire.

Le calcul s'effectue comme suit :

$$u_{\text{résultat}} = \sqrt{u_{\text{étalonnage}}^2 + u_{\text{méthode}}^2 + u_{\text{divers}}^2}$$

→ Incertitude liée à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$

L'incertitude liée à la valeur assignée à l'étalon de travail est directement liée au raccordement des étalons de travail utilisés au système international d'unités (SI), à des étalons internationaux ou à des systèmes de référence de niveau inférieur (traçabilité métrologique) et aux différences d'effet matrice (entre l'étalon de travail et les échantillons biologiques). Il est donc important d'indiquer la traçabilité des valeurs attribuées aux étalons de travail, ainsi que l'incertitude de mesure qui leur est associée.

Dans le cas des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* commercialisés, l'incertitude sur la valeur assignée à l'étalon de travail est communiquée sur demande par le fournisseur. Le laboratoire doit s'assurer que l'incertitude communiquée correspond à une incertitude élargie et connaître le facteur d'élargissement utilisé (généralement $k = 2$).

Toute erreur systématique quantifiable, significative et reconnue doit être corrigée ou compensée par un facteur de correction. L'incertitude liée à l'établissement de ce facteur de correction doit alors être estimée et considérée comme une composante de l'incertitude liée à l'étalonnage. Une approche différente est envisagée dans le guide proposé par le Cofrac [5] pour évaluer l'incertitude liée à la justesse de l'étalonnage qui consiste à exploiter les résultats ponctuels de différentes évaluations externes de la qualité (EEQ). Cependant, il existe une grande variabilité en fonction des EEQ (voir chapitre CIL).

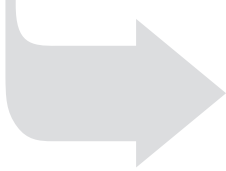
→ Incertitude liée à la méthode de mesure $u_{\text{méthode}}$

L'incertitude liée à la méthode de mesure proprement dite est estimée correspondre à la fidélité intermédiaire qui inclut les incertitudes liées aux différentes étapes de la phase analytique. Elle est obtenue à partir de l'étude de la validation/vérification de la méthode effectuée par le laboratoire ou à partir des données du contrôle interne de qualité.

Cette évaluation doit refléter les conditions réelles d'utilisation de la méthode analytique. Elle rend directement compte de la plus grande part de la variabilité analytique. Cette condition est respectée, pour un système maîtrisé, si la fidélité intermédiaire est déterminée pendant une période suffisamment longue pour prendre en compte les critères suivants :

- changement de lots de réactifs,
- changement de lots d'étalons,

- différents opérateurs,
- opérations de maintenance,
- variations saisonnières (hygrométrie, température, etc.).



Lorsque les données de contrôle interne de qualité (CIQ) sont utilisées pour déterminer $u_{\text{méthode}}$ dans des conditions optimales, il est recommandé de choisir :

- une période d'un an ou, à défaut, de 6 mois ;
- deux niveaux de concentration différents en fonction des zones de décision médicale.

Si la méthode est utilisée depuis peu, une évaluation provisoire peut être réalisée pendant une période plus courte avec au moins 30 valeurs pour chacun des échantillons de contrôle et en incluant si possible un facteur de variabilité.

Donc $u_{\text{méthode}}$ = écart type de fidélité intermédiaire du CIQ

→ Incertitude sur diverses autres composantes u_{divers}

Certaines composantes de l'incertitude ne sont pas prises en compte lors du contrôle interne de qualité :

- variations intra-individuelles,
- pré-analytiques,
- analytiques, notamment lorsque l'échantillon biologique et l'échantillon de contrôle de qualité ne subissent pas de façon identique toutes les étapes du processus de mesure (reconstitution, extraction, digestion enzymatique, dérivatisation, etc.) ou lors de l'utilisation de certaines constantes dans les algorithmes de calcul.

Les différentes sources d'incertitude significatives (hémolyse, lactescence, centrifugation, etc.) doivent être identifiées et être rapportées dans le dossier de validation [1, 5] accompagnées des préconisations retenues (commentaires des comptes rendus de résultats, nouveau prélèvement, etc.).

Exprimer l'incertitude de mesure des résultats

L'approche proposée s'adresse uniquement aux incertitudes de mesure résultant du processus analytique mis en œuvre.

L'incertitude de mesure est exprimée dans la même unité que le résultat, sous forme d'incertitude élargie. Un facteur d'élargissement $k = 2$ étant conseillé pour un intervalle de confiance de 95 % environ, pour une loi normale ; alors $U = 2 u_{\text{résultat}}$

Constitution d'une base de données à référencer dans la base documentaire

Le LBM doit constituer puis réviser si besoin une base de données, sous forme électronique ou autre, comprenant pour chaque analyte les informations suivantes :

- la définition précise du mesurande ;
- le principe de la méthode de mesure ;
- l'unité utilisée ;
- l'intervalle de référence ;
- les variabilités intra- et inter-individuelles [6] ;
- les interférences cliniquement significatives ;
- les limites de la méthode de mesure (pré-analytique) ;
- la traçabilité, fournie par le fabricant, de la valeur de l'étalon de travail, cette dernière accompagnée si possible de l'incertitude associée ;
- la fidélité intermédiaire exprimée sous forme d'écart type (s) et/ou de coefficient de variation (CV), obtenue grâce au contrôle interne de qualité pendant une longue période, et si possible au niveau des zones de décision clinique ;
- l'incertitude élargie sur le résultat, à deux niveaux de concentration au moins ;
- l'objectif analytique [7] ;
- l'aptitude à l'emploi de la méthode au regard des exigences prédéfinies par le biologiste médical ;
- la date de dernière mise à jour de ces données.

Conflits d'intérêts : aucun

• Références

1. Giroud C, Dumontet M, Vassault A, Braconnier F, Férard G. ; groupe de travail Assurance qualité-métrologie de la SFBC. Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F). *Ann Biol Clin* 2007 ; 65 (2) : 185-200 (http://www.jle.com/e-docs/00/04/2C/31/vers_alt/VersionPDF.pdf).
2. NF EN ISO 15189. *Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence*. AFNOR, 2007.
3. *Vocabulaire international de métrologie – Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM)*. JCGM, 2008 (http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf).
4. NF EN 13005. *Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure*. AFNOR, 1999.
5. COFRAC. LAB GTA 14. *Guide d'évaluation des incertitudes de mesure des analyses de biologie médicale*. COFRAC, 2006.
6. Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variations : Pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999 ; 59 : 491-500. Une mise à jour régulière de cette base de données est disponible sur le site web de Westgard JO <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.
7. Vassault A, Grafmeyer D, de Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Ann Biol Clin* 1999 ; 57 : 685-95.
8. White GH, Farrance I. Uncertainty of measurement in quantitative medical testing – a laboratory implementation guide. *Clin Biochem Rev* 2004 ; 25 (suppl. ii) : S1-S24.

Exemple : fiche d'information concernant l'incertitude de mesure d'un mesurande d'après les recommandations de la SFBC

Analyte :

Abréviation :

Définition du mesurande :

Principe de la méthode :

Unité :

Intervalle de référence¹ :

Interférences significatives :

Traçabilité :

- Méthode référence :
- Étalon (niveau de confiance à 95 %)
 - Concentration basse :
 - Concentration élevée :

Fidélité intermédiaire :

- Niveau m_1 :
4,2 mmol/L ; écart type :
- Niveau m_2 :
6,2 mmol/L ; écart type :

Objectifs analytiques :

- État de l'art [7] :
(au niveau de concentration moyen)
- Variations biologiques [6] :
- Objectif souhaitable :

Aptitude à l'emploi :

Incertitudes u_{r1} et u_{r2}
sur les résultats :

– niveau r_1 à 4,2 mmol/L :

– niveau r_2 à 6,2 mmol/L :

Incertitude de mesure élargie U
à communiquer :

- niveau à 4,2 mmol/L :
- niveau à 6,2 mmol/L :

POTASSIUM

K^+

Concentration plasmatique de potassium

Électrode ion sélective valinomycine

mmol/L

Plasma : 3,2-4,3 mmol/L

Hémolyse, sel de potassium
de l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique

Données fournies par le fabricant :
Gravimétrie

Valeur de l'incertitude de mesure

3,00 ± 0,07 mmol/L | $u_{e1} = 0,035$

7,00 ± 0,08 mmol/L | $u_{e2} = 0,040$

CIQ du 01/01/04 au 20/07/04 :

$s_1 = u_{r1} : 0,04$ mmol/L CV₁ : 1,06 %

$s_2 = u_{r2} : 0,05$ mmol/L CV₂ : 0,86 %

CV reproductibilité : 1,6 % Biais : 3,1 %

$CV_{\text{intra-individuel}} = 4,8$ %
< 0,5 $CV_{\text{intra-individuel}}$ soit < 2,4 %

Fidélité intermédiaire acceptable

$u_{r1}^2 = u_{e1}^2 + u_{r1}^2 = 0,035^2 + 0,04^2 = 0,002825$
 $u_{r1} = 0,05$ mmol/L

$u_{r2}^2 = u_{e2}^2 + u_{r2}^2 = 0,04^2 + 0,05^2 = 0,0041$
 $u_{r2} = 0,06$ mmol/L

$U = 0,05 \times 2 = 0,10$ mmol/L

$U = 0,06 \times 2 = \pm 0,12$ mmol/L arrondi
à ± 0,10 mmol/L

¹ Si nécessaire, précisez les tranches d'âge.
CIQ : contrôle interne de qualité ; CV : coefficient de variabilité.

Annexe I

Évaluation d'un résultat par rapport à un résultat antérieur [8]

→ **Exemple : exploitation des données de l'évaluation de l'incertitude de mesure du dosage de l'antigène spécifique de la prostate (PSA)**

Le résultat observé pour le dosage du PSA le 10 janvier 2010 est : **R1 = 3,8 µg/L**

Le résultat observé le 15 juillet 2010 est : **R2 = 4,3 µg/L**



La différence observée (+ 0,5 µg/L, soit 13 %), compte tenu de l'incertitude des mesures, est-elle le reflet d'une évolution physiopathologique ou celle de l'effet des variations analytiques ?

Les données de contrôle interne de qualité (s et CV % de reproductibilité) observées pendant la même période, pour un niveau de concentration équivalent sont les suivantes : moyenne = 3 µg/L, $s = 0,15$ µg/L, CV = 5 %

Pendant cette période, si aucune modification des conditions opératoires n'a été constatée et que l'incertitude sur l'étalonnage est négligeable :

- l'incertitude du résultat R1 est : $3,8 \pm (2 \times s) = 3,8 \pm 0,38$ µg/L ;
- l'incertitude du résultat R2 est : $4,3 \pm (2 \times s) = 4,3 \pm 0,43$ µg/L.

Pour que la différence observée entre les deux résultats ne soit pas imputable à une variation d'ordre analytique, avec un risque choisi (généralement 95 %), cette différence devrait être supérieure à : $\sqrt{2} \times (2 \times s)$, soit : $2,8 \times s$ (en unité) ou $2,8 \times CV$ (en %).

Dans ce cas, la différence entre les deux dosages devra être supérieure à $2,8 \times 5$ %, soit 14 % pour témoigner, au risque 95 %, d'une variation physiopathologique.

La différence observée entre les deux résultats n'est pas (au risque 95 %) significative d'une variation physiopathologique.

Exemple	Dosage antigène spécifique de la prostate (PSA)
CIQ	
Moyenne CQ1	3 µg/L
s	0,15 µg/L
CV	5 %
Moyenne CQ2	30 µg/L
s	1,2
CV	4 %
Différence entre 2 résultats > $\sqrt{2} \times (2 \times s)$, soit :	
> $2,8 \times s$ (en unité) ou	> $2,8 \times 5 \% = 14 \%$
> $2,8 \times CV$ (en %)	
Résultat R1	3,8 µg/L
Uc 1 (incertitude élargie) : $2 \times s$	$\pm 0,38 \mu\text{g/L}$ (risque 95 %)
Résultat R2	4,3 µg/L
Uc 2 (incertitude élargie) : $2 \times s$	$\pm 0,43 \mu\text{g/L}$ (risque 95 %)
Différence observée	$R2 \pm R1 = 4,3 \pm 3,8 = 0,5 \mu\text{g/L}$ soit 13 %
Conclusion	La différence observée n'est pas supérieure aux variations analytiques au risque choisi (95 %)

Évaluation d'un résultat par rapport à un seuil de décision médicale [8]

→ Exemple : exploitation des données de l'évaluation de l'incertitude de mesure du dosage de l'hémoglobine A1C.

Ce seuil n'est pas affecté d'une incertitude. Aussi, un résultat est évalué en fonction de sa seule incertitude.

Dans le cas de l'hémoglobine A1C, le seuil est fixé par les conférences de consensus à 7 %.

Quelle est la limite à partir de laquelle un résultat peut être considéré comme supérieur au seuil de décision et entraîner une modification thérapeutique ?

Pour un laboratoire dont les résultats présenteraient un biais négligeable par rapport à la méthode de référence ou, si ce biais, jugé important, a été corrigé, l'incertitude sur les résultats ne tiendra compte que de l'incertitude de fidélité. Ainsi, pour des résultats de CIQ, à un niveau de concentration équivalent au niveau du seuil de décision :

Moyenne : 6,5 %

s : 0,2 %

CV : 3,8 %

Un résultat sera considéré comme supérieur à ce seuil si la valeur est supérieure à 0,4 % soit $7 \pm 0,4 \%$.

