

Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F)

Recommendations for expressing uncertainty of measurement of quantitative results in laboratory medicine

C. Giroud¹

M. Dumontet²

A. Vassault³

F. Braconnier⁴

G. Féraud⁵,

Groupe de travail SFBC

« Assurance qualité et métrologie »

(coordonnateur M. Dumontet)

¹ Bio-Rad Laboratories,
Marnes-la-Coquette

² CH René Dubos, Pontoise
<michel.f.dumontet@free.fr>

³ Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

⁴ CHU Henri Mondor, Créteil

⁵ UFR sciences pharmaceutiques,
ULP, Illkirch



Résumé. Les résultats quantitatifs des analyses de biologie médicale sont interprétés par rapport à des intervalles de référence, des seuils de décisions cliniques, ou des résultats antérieurs du même patient, d'où la nécessité d'exprimer l'incertitude de mesure liée à la valeur du résultat afin de la porter à la connaissance du clinicien. Ce document expose la problématique de l'expression de cette incertitude de mesure. Il propose des recommandations pour une évaluation simple de cette incertitude à partir des résultats du contrôle de qualité interne au long cours et de la valeur de l'incertitude liée à l'étalonnage de la méthode de mesure. Il aborde la détermination des objectifs analytiques et le choix des méthodes de mesure ainsi que les commentaires accompagnant le compte-rendu des résultats et l'aide à leur interprétation.

Mots clés : *incertitude de mesure, traçabilité métrologique, mesurande, variations biologiques*

Abstract. In laboratory medicine, the quantitative results of examinations are interpreted with regard to reference intervals, clinical decision limits or previous results of a patient, from which it is necessary to inform the clinician about the uncertainty of measurement linked to the value of the result. This document explains the problematic of the expression of the uncertainty of measurement. It proposes recommendations concerning a simple way to evaluate uncertainty of measurement using long term internal quality control data and the value of the uncertainty linked to the method calibration. It approaches the determination of analytical goals and the choice of methods and also the comments accompanying the record of results and a help to their interpretation.

Key words: *uncertainty of measurement, metrological traceability, measurand, biological variations*

Afin d'assurer l'exactitude des résultats il est indispensable qu'une méthode d'analyse quantitative soit juste et fidèle et que la grandeur mesurée (le mesurande) soit convenablement définie. Cependant, même ainsi, lorsque l'on répète plusieurs fois la même mesure ou la même analyse, les résultats successifs obtenus ne sont pas strictement identiques : il y a dispersion des résultats. La quantification par le biologiste de cette dispersion et sa

connaissance par le médecin clinicien leur permettraient d'apprécier dans quelle mesure elle affecte le résultat et ainsi d'accroître la pertinence de l'interprétation de ce résultat. Cette interprétation est faite soit par comparaison avec les résultats antérieurs du même patient, soit par rapport à un intervalle de référence préalablement établi ou à des résultats d'études cliniques. En l'absence de la connaissance de cette dispersion, le clinicien peut être amené à considérer des variations d'ordre analytique comme significatives d'un diagnostic ou d'une évolution de l'état physiopathologique du patient.

Tirés à part : M. Dumontet

Le GBEA [1] précise en 4.1. que le laboratoire d'analyses de biologie médicale (LABM) peut, le cas échéant, indiquer, avec les résultats quantitatifs des analyses, les performances analytiques de la méthode. La norme NF EN ISO 15189 « Laboratoires d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence » [2] spécifie en 5.6.3. : « Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans les cas où cela est pertinent et possible... ».

L'objet de ce document est de présenter les différentes manières de déterminer l'incertitude de mesure, de souligner l'intérêt de cette information afin d'aboutir à des recommandations concernant l'expression de l'incertitude de mesure en biologie médicale. Quelques exemples sont présentés, en annexes, à titre d'illustration.

Définitions d'après le Vocabulaire international de métrologie (VIM) [3]

Matériau de référence

Matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne une ou plusieurs propriétés, utilisé sans valeur assignée pour contrôler la fidélité de mesure (spécimen 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).

Mesurande

Le mesurande est la grandeur que l'on veut mesurer, par exemple la concentration en glucose du plasma. La spécification complète du mesurande comporte trois éléments : le système, l'analyte et le type de grandeur (voir infra : Définir le mesurande et les interférences potentielles).

Fidélité (de mesure)

Étroitesse de l'accord entre les valeurs mesurées obtenues par des analyses répétées du même spécimen ou de spécimens similaires dans des conditions spécifiées. Il peut s'agir de :

- répétabilité : même procédure opératoire, mêmes opérateurs, même système de mesure, mêmes conditions de fonctionnement, même lieu pendant une courte période de temps (la même série analytique) ;
- fidélité intermédiaire (souvent dénommée reproductibilité intra-laboratoire) : même procédure opératoire, même lieu, pendant une période de temps étendue ;
- reproductibilité (reproductibilité inter-laboratoire) : lieux, opérateurs et/ou systèmes de mesure différents.

La fidélité est en général exprimée numériquement sous forme d'écart-type, de variance ou de coefficient de variation.

Justesse (de mesure)

Étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini (en fait un très grand nombre) de valeurs mesurées

répétées et une valeur de référence (une valeur vraie du mesurande ou une valeur assignée d'un étalon dont l'incertitude de mesure est négligeable).

Erreur de justesse (biais)

Erreur systématique ou son estimation par rapport à une valeur de référence.

Exactitude de mesure

Étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie du mesurande.

Il est important de ne pas confondre les concepts d'exactitude et de justesse.

Erreur de mesure

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.

Concept d'incertitude de mesure

Dans son acception la plus large, le mot incertitude signifie doute. L'expression incertitude de mesure a une acception quelque peu différente, c'est le paramètre qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande à partir des informations utilisées. Le paramètre peut être, par exemple, un écart-type ou un multiple de celui-ci [3].

En pratique, la valeur vraie d'une grandeur mesurée est inaccessible mais l'incertitude de mesure permet de définir l'intervalle dans lequel se situe avec une probabilité donnée, 95 % environ pour une loi (distribution) normale, la valeur supposée vraie du résultat que l'on communique. Un résultat quantitatif d'analyse n'est véritablement complet que s'il est accompagné de l'évaluation quantitative de son incertitude.

Traçabilité métrologique, incertitude de mesure et chiffres significatifs

Pour comparer les résultats analytiques d'un laboratoire à l'autre, ou dans le temps dans le même laboratoire, il est indispensable qu'il y ait, lorsque cela est possible, traçabilité métrologique, c'est-à-dire que chaque résultat puisse être relié à une référence métrologique déterminée (un étalon le plus souvent) par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure. Ainsi, lorsque cela est possible, l'incertitude affectant l'étalon de travail de la trousse, souvent appelé calibrateur, doit être prise en compte dans le calcul de l'incertitude de mesure affectant le résultat.

Dans le même esprit, la directive européenne 98/79/CE du 27 octobre 1998 [4] relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (DMDIV), dispose, parmi ses exigences essentielles, que : « La traçabilité des valeurs attribuées aux matériaux d'étalonnage et/ou aux matériaux de contrôle (de justesse) doit être garantie par des procédures de référence existantes et/ou des matériaux de référence disponibles de niveau supérieur ». Cette exigence est explicitée et approfondie par les normes NF EN ISO 17511 [5] et NF EN ISO 18153 [6].

Par ailleurs, le *Joint committee for traceability in laboratory medicine* (JCTLM), dont l'objectif est d'établir une plateforme mondiale dédiée à la traçabilité en biologie médicale, a publié le 1^{er} février 2006, sur le site du BIPM [www.bipm.org], deux listes dont la première contient 133 analytes, médicaments et toxiques pour lesquels existent des matériaux et méthodes de référence traçables au système SI et la seconde 13 analytes et médicaments pour lesquels il y a des matériaux de référence avec valeurs assignées selon un protocole international agréé mais avec absence de traçabilité au système SI ou de méthode de référence.

Il est donc essentiel qu'à l'avenir le fabricant de DMDIV indique à l'utilisateur, chaque fois que cela est possible, à quel étalon de niveau supérieur et/ou à quelle méthode de référence les valeurs des étalons de travail de la trousse (calibrateurs) et celles des spécimens de contrôle de justesse (plasmas, sérums, urines de contrôle titrés) sont reliées, ainsi que l'incertitude de mesure associée aux valeurs qui leur ont été attribuées.

Enfin, le résultat doit être exprimé en unités SI, lorsque cela est possible, et avec un nombre de chiffres significatifs en rapport avec l'incertitude de mesure. Un nombre insuffisant de chiffres accroît l'incertitude, à l'opposé un nombre excessif de chiffres peut induire une erreur sur la qualité réelle du résultat.

Ainsi l'incertitude de mesure, la traçabilité métrologique et le nombre de chiffres significatifs des résultats sont-ils étroitement liés.

Incertitude de mesure : approches et référentiels

La norme NF EN ISO 15189 [2] est désormais le référentiel spécifique pour l'accréditation des LABM ; elle précise en 5.6.2 : « Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure la préparation des spécimens, l'échantillonnage, la sélection des aliquotes d'échantillons, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée (volumes, concentrations, facteurs de correction...), l'équipement utilisé, les conditions environnementales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateur ».

La bibliographie de cette norme inclut le Guide pour l'incertitude de mesure (GUM en anglais) [7] et la norme NF ISO 5725 [8] sur l'exactitude des résultats et les méthodes de mesure. Ces documents présentent deux approches différentes de l'incertitude de mesure. Le GUM a été développé pour les mesures physiques de poids, température, longueur, etc. C'est le document de référence en matière d'incertitude de mesure, notamment dans les laboratoires de métrologie. Toutefois, il se révèle d'une application difficile et même souvent impossible pour les analyses, notamment de biologie médicale. Dans ces domaines la norme NF ISO 5725 et le document FD X 07-021 « Aide à la démarche pour l'estimation et l'utilisation de l'incertitude des mesures et des résultats d'essais » [9] sont souvent utilisés.

Les « Lignes directrices pour l'expression de l'incertitude des résultats d'essais quantitatifs » de l'*European co-operation for accreditation* (document EA-4/16 paru en avril 2004 [10]) admettent notamment qu'à côté du GUM des interprétations sectorielles puissent être nécessaires et que l'exigence de base puisse également être une estimation de l'incertitude globale à partir des données de validation de la méthode de mesure ou d'études comparatives inter-laboratoires selon l'ISO 5725 ou des données d'essai d'aptitude ou des données issues du processus de contrôle de la qualité des analyses. Dans ce dernier cas « l'écart-type (de ces données) fournit les bases pour une évaluation de l'incertitude qui rend immédiatement compte de la plus grande partie de la variabilité (analytique) qui, autrement, devrait exiger une évaluation à partir d'effets individuels ». Le document ISO TS 21748 fournit une proposition d'expression de l'incertitude de mesure basée sur la détermination de la fidélité et de la justesse, notions familières au laboratoire de biologie médicale [11].

Ces différentes approches sont résumées dans un article de Priel [12]. L'ouvrage de Perruchet et Priel [13] présente la comparaison entre l'approche du GUM et celle de la norme ISO 5725.

Évaluation de l'incertitude de mesure par l'approche GUM

Le Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM) a été publié conjointement par le BIPM, l'IEC, l'IFCC, l'ISO, l'IUPAC, l'IUPAP et l'OIML et est largement accepté comme modèle pour l'expression de l'incertitude de mesure.

L'incertitude de mesure est dite *incertitude composée* car elle comprend en général plusieurs composantes appelées *incertitudes-types*.

Incertitude-type

Dans sa deuxième édition, le VIM [3] indique dans une note de la définition de l'incertitude de mesure au § 3.9.

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 ».

Les incertitudes-types proviennent donc aussi bien d'effets systématiques que d'effets aléatoires.

L'approche GUM requiert l'identification de toutes les grandeurs d'entrée (volumes, concentrations, facteurs de correction...) concernant le processus de mesure ainsi que des grandeurs d'influence possibles (matrice, température, pression atmosphérique...). La recherche de tous ces éléments peut être effectuée grâce à la méthode des 5 M basée sur un diagramme cause-effet (diagramme en arêtes de poisson d'Ishikawa), ce qui doit permettre l'identification des différentes incertitudes-types et la modélisation du processus de mesure sous forme mathématique. Cette approche est illustrée ultérieurement dans ce document (paragraphe « Aptitude à l'emploi d'une méthode : suivi, amélioration ou rejet »).

Chaque incertitude-type peut être caractérisée par un écart-type. La valeur numérique des incertitudes-types peut être évaluée selon deux types de méthodes :

- 1) évaluations de type A, à partir de la distribution statistique des valeurs provenant de séries de mesures ;
- 2) évaluations de type B, à partir de l'utilisation de connaissances disponibles telles que :
 - les résultats de mesures antérieures ;
 - les spécifications du fabricant ;
 - les données fournies par les certificats d'étalonnage ;
 - l'expérience personnelle des instruments utilisés ;
 - les données provenant de publications, etc.

et qui conduisent à un écart-type estimé fondé sur une appréciation subjective indépendamment de l'analyse statistique de séries d'observations.

Incertitude composée

Dans la plupart des cas le mesurande Y est déterminé à partir de N grandeurs X_1, X_2, \dots, X_N (grandeurs d'entrée) par une relation fonctionnelle $f: Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$ (1) où les grandeurs sont non corrélées (indépendantes).

L'incertitude composée u_c reflète l'incertitude totale de la mesure. Elle s'obtient en appliquant la méthode usuelle de combinaison des variances de chacune de ses composantes ou incertitudes-types :

- dans le cas simple où Y est la somme de $X_1 + X_2 + \dots + X_N$, l'incertitude composée est la racine carrée de la somme des variances correspondant à chacune des incertitudes-types ;

$$u_c = \sqrt{u_{x1}^2 + u_{x2}^2 + \dots + u_{xN}^2}$$

(Voir *Annexes 1 et 2* les exemples sur la détermination de l'incertitude de mesure concernant le cholestérol et le cholestérol HDL) ;

- si la fonction (1) contient uniquement des facteurs du type $Y = X_1 \times X_2 \times \dots \times X_N$, alors l'incertitude relative composée est la racine carrée de la somme des variances relatives correspondant à chacune des incertitudes-types ;

$$\left(\frac{u_c}{Y}\right) = \sqrt{\left(\frac{u_{x1}}{X_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{x2}}{X_2}\right)^2 + \dots + \left(\frac{u_{xN}}{X_N}\right)^2}$$

(Voir *Annexe 3* l'exemple sur la détermination de l'incertitude de mesure concernant la clairance rénale de la créatinine).

L'incertitude composée s'exprime souvent sous la forme d'un écart-type et dans l'unité du résultat correspondant.

Incertitude élargie

L'incertitude élargie U est obtenue en multipliant l'incertitude composée par un facteur k appelé facteur d'élargissement :

$$U = k \times u_c$$

le résultat peut alors s'exprimer sous la forme : $Y = y \pm U$. Par exemple pour une concentration en sodium du plasma de 135 mmol/L, si l'incertitude composée u_c est de 1 mmol/L, l'incertitude élargie est : $U = 2 \times 1$ mmol/L avec un facteur d'élargissement $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95 % environ, pour une loi normale ; alors PI-Sodium = 135 mmol/L \pm 2 mmol/L.

Approche GUM en biologie médicale

En accord avec le guide Eurachem-Citac [14] qui applique la démarche GUM à la chimie analytique, Linko *et al.* [15] ont évalué l'incertitude de mesure dans le cas de la détermination des concentrations en calcium total et en glucose du sérum : l'incertitude composée u_c sur le résultat de la mesure est calculée à partir des incertitudes-types sur l'absorbance de la solution échantillon, l'absorbance du blanc réactifs, l'absorbance de la solution étalon, la dilution du spécimen biologique, le facteur correcteur de l'effet matrice (différence de comportement du spécimen biologique par rapport à l'étalon de travail), la dérive de l'instrument de mesure, le pré-analytique (pertes, concentration, etc.), la variabilité biologique intra-individuelle, la mesure du volume de diluant, la mesure du volume de spécimen biologique.

Cette méthodologie très structurée fournit un excellent canevas pour identifier les différentes sources significatives d'incertitude et pour quantifier les composantes correspondantes de l'incertitude de mesure ou s'assurer qu'elles sont bien prises en compte par une méthode globale d'évaluation de l'incertitude (qui sera développée

plus loin dans le chapitre Recommandations). Cependant, cette approche GUM est très coûteuse en temps et en moyens financiers et demeure le plus souvent inapplicable en routine au LABM du fait de la complexité des analyses automatisées, de la difficulté voire de l'impossibilité de quantifier certaines des incertitudes-types, du nombre potentiellement élevé de sources d'erreurs, etc.

Évaluation de l'incertitude de mesure par des approches alternatives

En s'appuyant sur les principes du GUM, Kristiansen a développé pour la biologie médicale une approche qu'il a baptisée Modus [16], dont il a démontré qu'elle donnait les mêmes résultats que l'approche GUM [17] et qui offre l'intérêt de regrouper, dans une formulation plus familière au LABM, les sources d'incertitude en quatre catégories selon leurs origines :

- la traçabilité d'étalonnage,
- la mesure proprement dite,
- le spécimen biologique,
- les autres composantes.

L'incertitude de mesure est alors évaluée à partir de ces quatre composantes selon une formule multiplicative et en utilisant les données disponibles auprès de différentes sources extérieures ou celles obtenues au sein du laboratoire.

L'EDMA (Association européenne des fabricants de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*) a proposé une approche similaire de l'expression de l'incertitude de mesure mais selon une formule additive [18] :

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

- l'incertitude sur la valeur assignée à l'étalon de travail par le fabricant ($u_{\text{étalonnage}}$) est fournie sur demande par celui-ci ;

- l'incertitude liée à la méthode de mesure proprement dite est estimée correspondre :

1) à la fidélité intermédiaire qui inclut les incertitudes liées aux différentes étapes de la phase analytique si l'on désire déterminer l'incertitude de mesure propre au laboratoire. Celle-ci peut être obtenue à partir de l'étude de validation de la méthode effectuée à l'intérieur du laboratoire ou peut être obtenue à partir des données du contrôle de reproductibilité intra-laboratoire ;

2) à la reproductibilité inter-laboratoires intra-méthode si l'on désire déterminer l'incertitude propre à la méthode de mesure. Celle-là peut être communiquée par le fabricant de la trousse ou obtenue lors de la participation à des contrôles de reproductibilité inter-laboratoires ;

- l'incertitude affectant le spécimen biologique correspond aux effets pré-analytiques et aux variations biologiques intra- et inter-individuelles ;

- l'incertitude intitulée « divers » regroupe divers effets tels que les interférences qui peuvent être présentes dans certains spécimens biologiques.

Évaluation de l'incertitude de mesure au LABM selon les recommandations de l'AACB

Le groupe de travail sur l'incertitude de mesure de l'*Australasian association of clinical biochemists* (AACB) [19] souligne le rôle essentiel de cette évaluation lors de l'accréditation des LABM et dans l'éducation des utilisateurs pour une meilleure compréhension des limites des résultats des analyses permettant ainsi de reconnaître quand des changements dans les résultats sont ou non cliniquement significatifs.

Dans cet excellent travail il est notamment recommandé au LABM de :

- bien définir le mesurande, de délimiter son intérêt clinique et les interférences possibles ;

- déterminer l'incertitude de mesure à partir de la reproductibilité obtenue sur le long terme à l'intérieur du laboratoire dans le cadre du Contrôle de Qualité Interne (CQI) et à partir de l'incertitude de mesure affectant la valeur de l'étalon de travail du laboratoire (calibrateur) lorsque celle-ci est disponible : $u = \sqrt{u_{\text{étalonnage}}^2 + u_{\text{méthode}}^2}$

- déterminer les objectifs d'incertitude de mesure à atteindre en fonction des besoins cliniques ou de la variation biologique intra-individuelle lorsque cela est approprié ;

- en cas de performances analytiques insuffisantes, identifier la ou les principales sources contributives de l'incertitude de mesure afin d'améliorer la méthode ou d'en changer ;

- exprimer le résultat avec un nombre de chiffres significatifs en rapport avec l'incertitude de mesure ;

- tenir à la disposition des utilisateurs les informations relatives à l'incertitude de mesure.

Recommandations du groupe de travail SFBC pour l'expression de l'incertitude de mesure au LABM

Il est indispensable que les résultats d'un patient puissent être comparés dans le temps (à l'intérieur du même laboratoire) et dans l'espace (entre différents laboratoires). Cette comparabilité métrologique se situe au cœur d'une triple problématique :

- la traçabilité métrologique grâce notamment au développement de matériaux de référence (étalons et spécimens de contrôles de justesse) et de méthodes de référence pour le plus grand nombre possible d'analytes ;

- l'établissement d'intervalles de référence pour les méthodes de mesure utilisées ;
- l'expression de l'incertitude de mesure pour les résultats analytiques.

Les deux premiers aspects soulèvent d'importants problèmes qui ne seront pas abordés dans le cadre restreint de cet article. L'expression de l'incertitude de mesure, « lorsque cela est pertinent et possible », est un objectif important qui doit conduire à :

- une meilleure appréciation des limites des performances analytiques par le biologiste et le clinicien ;
- un meilleur choix et un meilleur suivi des méthodes de mesure en fonction des besoins cliniques ;
- une interprétation plus pertinente des résultats ou de leur évolution en vue du diagnostic ou du suivi biologique du patient.

Par ailleurs cette mise en place est exigée pour les laboratoires accrédités.

Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire de privilégier une approche simple, utilisant si possible des données aisément accessibles, donc peu coûteuse en temps et en moyens. Il est également important que l'incertitude de mesure soit l'expression réelle des performances analytiques obtenues dans le laboratoire, permettant ainsi de les suivre et de déclencher les éventuelles actions correctives nécessaires au niveau de l'amélioration ou du changement de la méthode de mesure.

Le LABM est responsable de la bonne adéquation des résultats d'analyses à l'utilisation clinique qui en est faite en choisissant les méthodes de mesure, en maintenant leur qualité analytique et en s'assurant qu'elles demeurent adaptées. Pour cela il doit :

- sélectionner les analytes pour lesquels l'expression de l'incertitude de mesure est pertinente et possible ;
- définir et indiquer clairement ce que la méthode mesure, c'est-à-dire le mesurande et les interférences potentielles ;
- identifier et maîtriser au mieux les sources des variations biologiques et analytiques ;
- évaluer et exprimer l'incertitude de mesure ;
- déterminer les objectifs analytiques ;
- déterminer l'aptitude de la méthode, suivre et améliorer les performances analytiques de celle-ci ;
- informer les utilisateurs (cliniciens...), notamment en mettant en place une base de données sur les incertitudes de mesure du laboratoire et les variations biologiques ;
- fournir si nécessaire une aide à l'interprétation.

Les recommandations de ce document rejoignent pour l'essentiel celles de l'AACB [19], constituent une première étape de mise en œuvre du concept d'incertitude de mesure dans les LABM et pourront évoluer au fur et à mesure que ces notions se préciseront pour les différentes parties concernées.

Définir le mesurande et les interférences potentielles

Il est important de définir précisément le mesurande chaque fois que cela est possible. La description complète du mesurande comprend trois éléments : le système (plasma, sérum, urine, etc.), l'analyte qui identifie le composant mesuré et le type de grandeur (concentration de substance, concentration de l'activité) soumise à l'analyse.

Ainsi à l'analyte sodium correspondent les mesurandes différents que sont la concentration en sodium dans le plasma et la concentration en sodium total dans l'urine si l'on utilise comme méthode d'analyse la photométrie de flamme ou la potentiométrie indirecte, ainsi que la concentration de l'activité en ion sodium dans le plasma si l'on utilise la potentiométrie directe.

Cependant, la nature exacte du mesurande demeure parfois inconnue : immunoglobulines A, G ou M, haptoglobine, troponines, mélanges de plusieurs molécules ou isoformes, protéines plus ou moins glycosylées, hormones ou médicaments présents sous forme libre et liée, etc. Par suite d'une différence dans leur spécificité analytique, les résultats obtenus par différentes méthodes sont alors souvent difficilement comparables, même lorsque la traçabilité métrologique de l'étalon de travail est assurée.

La méthode analytique est souvent sujette à des interférences qui ne sont présentes que dans certains spécimens biologiques, il ne paraît donc pas souhaitable d'inclure un tel paramètre dans l'évaluation de l'incertitude de mesure. Par contre, lorsque la présence d'une interférence est connue pour un spécimen donné, le compte-rendu d'analyse doit le spécifier et indiquer si nécessaire les conséquences possibles sur le résultat fourni.

Évaluer et exprimer l'incertitude de mesure

Pour évaluer l'incertitude de mesure dans un LABM nous proposons 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 sur diverses autres composantes lorsque cela est nécessaire.

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 en routine au Système international d'unités, 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 spécimens biologiques). Il est donc important d'obtenir l'indication de la traçabilité des valeurs attribuées aux étalons de travail, ainsi que de l'incertitude de mesure qui leur est associée : actuellement, ces indications commencent à être fournies par certains fournisseurs et cette pratique devrait

rapidement se généraliser (voir supra). Alors l'incertitude de mesure relative au résultat pourra être déterminée et des objectifs analytiques pourront également être définis pour cette incertitude liée à l'étalonnage.

Par ailleurs, d'après le GUM (3.2.3), toute erreur systématique quantifiable, significative et reconnue doit être corrigée ou compensée par une correction ou un facteur de correction affectés d'une incertitude-type.

En l'absence de suffisamment de données établies, il ne semble pas, en l'état actuel, souhaitable d'ajuster l'incertitude de mesure de l'étalon en fonction de la concentration du spécimen biologique.

En revanche, il est nécessaire que le laboratoire utilise l'intervalle de référence établi avec la méthode qu'il emploie ou avec une méthode parfaitement corrélée. Dans ce dernier cas, il est conseillé d'appliquer un facteur de correction aux résultats, afin de corriger l'erreur de justesse : 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.

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

Elle regroupe les incertitudes sur les dilutions, les mesures du signal (absorbance, ou autre), le facteur de correction éventuel, la dérive de l'instrument entre les étalonnages, la numérisation des données (transformation de la valeur du signal en concentration en analyte), etc. : ces diverses incertitudes sont directement liées à la méthode analytique et constituent l'incertitude de mesure *stricto sensu*.

Parmi diverses possibilités [10, 19], l'incertitude liée à la méthode peut être assimilée à la reproductibilité intra-laboratoire au long cours obtenue au cours du CQI exigé par le GBEA pour la validation analytique quotidienne des résultats. La reproductibilité intra-laboratoire, désormais appelée fidélité intermédiaire, est disponible sans coût supplémentaire et sans perte de temps dans chaque LABM et s'exprime quantitativement sous la forme de l'écart-type s . Ainsi : $u_{\text{méthode}} = s$

Cette évaluation reflète alors les conditions réelles d'utilisation de la méthode analytique puisqu'elle est obtenue à partir des résultats du CQI effectué chaque jour. Elle rend directement compte de la plus grande partie de la variabilité analytique si la fidélité est déterminée sur une période suffisamment longue où le système analytique est sous contrôle et où plusieurs lots de réactifs et d'étalons de travail sont utilisés, plusieurs opérateurs interviennent, plusieurs opérations de maintenance sont réalisées et les conditions saisonnières varient : une période optimale d'un an ou à défaut six mois représente un objectif souhaitable. Enfin, cette évaluation doit être effectuée au minimum à deux concentrations dont l'une au moins soit proche d'un seuil de décision clinique lorsque cela est possible.

Si la méthode est utilisée depuis peu, une évaluation provisoire peut être réalisée sur une période plus courte avec au moins trente valeurs pour chacun des spécimens de contrôle et utilisation si possible de deux lots de réactifs.

Incertitude sur diverses autres composantes u_{divers}

Parfois, certaines composantes de l'incertitude ne sont pas prises en compte lors du CQI, notamment lorsque le spécimen biologique et le spécimen de contrôle de qualité ne subissent pas de façon identique toutes les étapes du processus de mesure (extraction, digestion enzymatique, dérivation) ou lors de la présence de certaines constantes dans les algorithmes de calcul. Une réflexion devra alors être menée sur la meilleure façon d'évaluer cette incertitude.

Expression de l'incertitude de mesure

Lorsque la traçabilité de l'étalon de travail est assurée l'incertitude de mesure sur le résultat sera :

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

et sera exprimée, dans la même unité que le résultat, sous forme d'incertitude élargie, un facteur d'élargissement $k = 2$ étant conseillé pour un niveau de confiance de 95 % environ, pour une loi normale ; alors $U = 2 u_{\text{résultat}}$ (voir *Annexe 1* l'exemple de la détermination de l'incertitude de mesure concernant le cholestérol total).

Variations biologiques

Les variations biologiques n'ont pas été considérées comme étant une composante de l'incertitude de mesure. En effet :

- le système qui fait partie des spécifications du mesurande est, en général, un système *in vitro*, par exemple le plasma ou le sérum et non le sang circulant *in vivo* ;
- les résultats des patients, accompagnés de l'incertitude de mesure, doivent être confrontés aux intervalles de référence représentatifs des variations biologiques.

Cependant, il est important d'avoir connaissance des variations biologiques ([20, 21] et *Annexe 4*) et de les confronter à l'incertitude de mesure lors du choix de la méthode de mesure et de l'interprétation des résultats, ce qui nécessite que cette variation biologique ne soit pas déjà incluse comme composante de l'incertitude de mesure.

Variations pré-analytiques

La phase pré-analytique peut être à l'origine de nombreuses variations qui peuvent être minimisées par l'application rigoureuse de procédures standardisées [22] :

- du mode de prélèvement (durée du jeûne préalable, heure de prélèvement et lieu de ponction si nécessaire, durée de pose du garrot, qualité du prélèvement, homogénéisation du spécimen, etc.) ;
- du transport du spécimen biologique (durée et température) ;

- de la conservation avant décantation du spécimen biologique (durée et température notamment) ;
- du prétraitement (vitesse et température de centrifugation, modalités de décantation, mode de conservation après décantation).

Par ailleurs, la norme NF EN ISO 15189 spécifie en 5.8.5 que : « Le compte rendu doit indiquer si la qualité du spécimen reçu était insuffisante pour l'analyse ou si elle pouvait avoir compromis le résultat ».

D'autre part, Fuentes-Arderiu *et al.* [23] ont quantifié les variations pré-analytiques pour 21 mesurandes chez 20 sujets lors de deux prélèvements successifs, un à chaque bras, à une demi-heure d'intervalle, effectués par deux préleveurs différents, le sang étant recueilli dans des tubes avec gel séparateur pour le sérum. Pour 4 de ces mesurandes (Se-Urée, Se-Fer, Se-Ferritine, Se-Antigène carcino-embryonnaire) les variations sont nulles, pour 10 les CV sont supérieurs ou égaux à 2 %, et même, pour 4 de ceux-ci, égaux ou supérieurs aux CV de fidélité intermédiaire (Se-Phosphate, Se-Protéines totales, Se-Créatinine, Se-Phosphatase alcaline).

En l'état actuel, faute d'études assez nombreuses et plus exhaustives notamment quant au nombre d'analytes, aux différentes catégories de patients, aux différents types de systèmes de prélèvement (aiguilles, récipients, anticoagulants, etc.) et faute d'une standardisation suffisante de la phase pré-analytique, il ne semble pas envisageable d'inclure, malgré une incidence parfois importante, la variabilité pré-analytique dans la détermination de l'incertitude de mesure ; il est cependant indispensable de préciser que l'incertitude de mesure communiquée exclut la composante liée à la phase pré-analytique.

Déterminer les objectifs analytiques d'une méthode de mesure

La détermination d'objectifs analytiques de fidélité, de justesse, éventuellement d'erreur totale peut être assurée selon des recommandations internationales d'ordre clinique. En l'absence de telles recommandations, le consensus obtenu lors de la réunion *Strategies to set global quality specifications in laboratory medicine* à Stockholm du 24 au 26 avril 1999, préconise d'établir pour chaque méthode de mesure des objectifs analytiques en utilisant les variations biologiques des analytes ou l'état de l'art tel qu'observé notamment dans les Évaluations Externes de la Qualité (EEQ) [24].

Recommandations internationales en fonction de critères cliniques

Pour quelques mesurandes les objectifs analytiques ont été définis à l'échelon international ou national à partir de critères cliniques :

- pour le consensus de l'*European society of cardiology* et de l'*American college of cardiology* [25] l'élévation de

la concentration en troponine sérique ou plasmatique au-delà du 99^e percentile des valeurs obtenues pour la population saine de référence associée à des signes d'ischémie fait partie intégrante de la définition de l'infarctus du myocarde et donc de son diagnostic. Le consensus spécifie qu'à ce niveau la reproductibilité analytique exprimée en coefficient de variation doit être inférieure à 10 % ; à la parution du consensus en 2000 aucune méthode analytique ne permettait d'atteindre cette exigence. Cette demande a entraîné d'importants efforts des fabricants pour améliorer la reproductibilité à ce niveau ;

- pour l'*American diabetes association*, aux États-Unis, l'objectif thérapeutique pour le diabète est d'obtenir une concentration en HbA_{1c} inférieure à 7 %, un taux supérieur à 8 % devant entraîner un réajustement thérapeutique. Les recommandations correspondantes sont d'utiliser des méthodes respectant les critères NGSP/DCCT et présentant des CV intra-laboratoire inférieurs à 3 % [26] ; en France, l'Anaes (maintenant Haute autorité de santé) préconisait en 2000 l'utilisation de méthodes ayant un CV inférieur à 5 % [27] ;

- pour le *National cholesterol education program* (NCEP) aux États-Unis : 1) les coefficients de variation de reproductibilité ne doivent pas dépasser 5 % pour les triglycérides, 3 % pour le cholestérol total, 4 % pour le cholestérol LDL et 4 % pour le cholestérol HDL si celui-ci est supérieur à 420 mg/L ; en deçà de 420 mg/L, l'écart-type pour le cholestérol HDL ne doit pas dépasser 1,7 mg/L ; 2) les erreurs de justesse (biais) ne doivent pas dépasser 5 % pour les triglycérides, 3 % pour le cholestérol total, 4 % pour le cholestérol LDL, et 5 % pour le cholestérol HDL [28] ; 3) l'erreur totale ne doit pas dépasser 15 % pour les triglycérides, 9 % pour le cholestérol total, 12 % pour le cholestérol LDL et 13 % pour le cholestérol HDL.

Exigences en fonction des variations biologiques

Fraser [20], Ricos *et al.* [21] ont établi des limites supérieures d'acceptabilité analytique comme des proportions des variations biologiques intra-individuelle (CV_I) et inter-individuelle (CV_G) :

- le défaut de fidélité intermédiaire souhaitable ne doit pas excéder un quart (optimum) à trois quarts (minimum) du CV_I ;
- l'erreur de justesse (biais : B) souhaitable, ne doit pas excéder 0,125 (optimum) à 0,375 (minimum) de $(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$;
- l'erreur totale souhaitable ne doit pas excéder la somme de l'erreur de justesse et de 1,65 fois le défaut de fidélité.

Une base de données de 302 mesurandes, régulièrement mise à jour, est disponible sur le site web de Westgard [21] dont quelques extraits sont présentés en Annexe 4.

Cette approche peut fixer, pour certains analytes, des exigences de performances analytiques difficiles à atteindre

en l'état de l'art (par exemple pour le calcium total, le sodium, etc.) et pour d'autres mesurandes des critères plus tolérants que ceux de l'état de l'art. Elle offre l'intérêt d'attirer l'attention sur les analytes dont les variations biologiques sont faibles, dont les méthodes de mesure doivent être améliorées et plus étroitement surveillées ainsi que sur la nécessité de tenir compte des variations biologiques lors de l'interprétation des résultats.

Exigences en fonction de l'état de l'art

Le groupe de travail de la SFBC « Normes de validation du protocole de validation de techniques » [29] a développé une approche purement analytique basée sur l'état de l'art en retenant, pour 116 analytes, comme objectif souhaitable, les performances réalisées, à trois niveaux de concentration, par 50 % des meilleurs résultats d'un grand nombre de laboratoires participant à divers contrôles externes de qualité français : voir quelques exemples en *Annexe 5*. Cette approche pragmatique incite à une amélioration de la maîtrise métrologique des processus analytiques.

Détermination des objectifs analytiques au laboratoire

Afin d'assurer la maîtrise des systèmes analytiques, il est nécessaire de définir pour chaque analyte les objectifs analytiques de fidélité intermédiaire, de justesse et d'erreur totale acceptable en s'appuyant sur les performances réellement obtenues par le laboratoire sur une période de plusieurs mois [30]. Ces performances doivent respecter les recommandations internationales de consensus clinique et les objectifs établis en fonction des variabilités biologiques chaque fois que l'état de l'art le permet.

Par ailleurs, les exigences établies en fonction de l'état de l'art doivent être un objectif pour tout laboratoire.

La pratique des années futures permettra d'apprécier si il sera pertinent et possible de remplacer les objectifs analytiques d'erreur totale acceptable par des objectifs d'incertitude de mesure acceptable, tout en maintenant les objectifs complémentaires de fidélité intermédiaire et de justesse.

Aptitude à l'emploi d'une méthode, suivi, amélioration ou rejet

Si les performances se révèlent insuffisantes au regard des objectifs analytiques déterminés ci-dessus, il convient alors d'analyser les composantes de l'incertitude affectant le processus analytique, afin d'identifier la source de ce problème, et ainsi d'améliorer les performances ou à défaut de rejeter la méthode. Cette analyse peut être réalisée à l'aide du diagramme d'Ishikawa et de la méthode des 5 M évoqués au paragraphe « incertitude-type ».

La *figure 1* donne un exemple concernant le dosage radio-immunologique de la prolactine dans le sérum [16].

Constitution d'une base de données

Pour son usage interne il est conseillé à chaque LABM de constituer et de réviser annuellement 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 (unité SI obligatoirement pour les analyses traçables jusqu'au système SI) ;
- les intervalles de référence ;
- les limites de la méthode de mesure (pré-analytique) ;
- les interférences cliniquement significatives ;
- la traçabilité, fournie par le fabricant, de la valeur de l'étalon de travail cette dernière accompagnée si possible de l'incertitude associée ;
- l'éventuel biais analytique ;
- la fidélité intermédiaire exprimée sous forme d'écart-type et/ou de CV, obtenue grâce au CQI sur une longue période, et si possible à deux niveaux au moins ;
- l'objectif analytique ;
- l'aptitude à l'emploi de la méthode au regard des exigences analytiques et cliniques ;
- l'incertitude élargie sur le résultat, à deux niveaux au moins ;
- la date de dernière mise à jour de ces valeurs.

Un exemple traduit et adapté du travail de l'AABC est donné en *Annexe 6*. Par ailleurs, le laboratoire doit également disposer de la liste des variations biologiques des analytes.

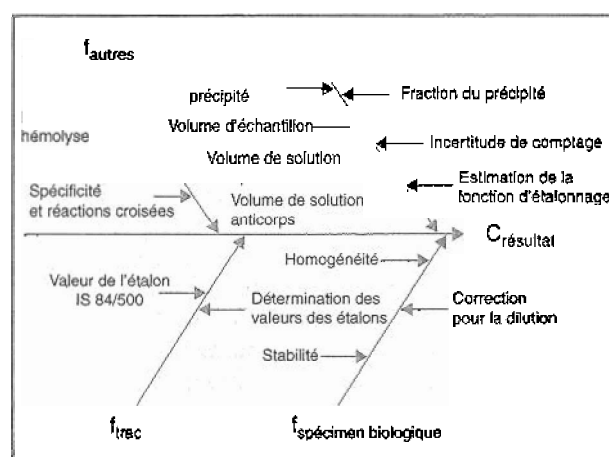


Figure 1. Identification des sources d'incertitude de mesure dans une méthode de dosage radio-immunologique de la prolactine (d'après [16]). $C_{\text{résultat}}$: valeur du résultat ; C_{obs} : valeur du résultat de mesure observée ; f_{trac} : correction associée à la chaîne de traçabilité ; $f_{\text{spécimen biologique}}$: facteur de correction associé au spécimen biologique et à la phase pré-analytique ; f_{autres} : facteurs de correction non pris en compte dans les deux précédents.

Compte rendu des résultats

Les résultats d'analyses doivent être exprimés, en unités SI lorsque cela est possible, avec un nombre de chiffres significatifs en rapport avec l'incertitude de mesure.

Chaque fois que nécessaire le biologiste doit indiquer sur le compte rendu les réserves liées aux variations pré-analytiques (spécimen hémolysé, trouble, ictérique, etc.) et avertir le clinicien des éventuelles interférences, par exemple :

- par la macro-prolactine en cas d'hyper-prolactinémie ;
- par des hétéro-anticorps, naturels ou apparus consécutivement à un traitement ou à l'administration d'anticorps murins lors d'explorations radiologiques qui peuvent affecter positivement ou négativement un immunodosage, etc.

Le plus souvent, il n'est pas actuellement concevable de rendre les résultats de patients accompagnés de l'incertitude de mesure car cliniciens et patients ne sont pas familiers des notions d'incertitude de mesure et de variation biologique. Cependant, les listes des incertitudes de mesure du laboratoire et des variations biologiques devront leur être communiquées après sensibilisation (voir infra).

Afin d'éclairer avec pertinence le clinicien, les éventuels commentaires d'interprétation des résultats doivent tenir compte des incertitudes de mesure et des variations biologiques courantes ou particulières, rythme nyctéméral, grossesse par exemple (voir Fournir une aide à l'interprétation).

Sensibiliser les utilisateurs

Il est indispensable de former tout d'abord les biologistes et les techniciens aux concepts d'incertitude de mesure et de variation biologique. Il est souhaitable de tenir compte de l'incertitude de mesure lors de l'élaboration de recommandations en fonction d'objectifs cliniques (voir les exemples des Annexes 1 et 2). Il importe de faire prendre conscience à l'ensemble des cliniciens des notions de variabilité biologique et analytique, et qu'un résultat d'analyse est toujours affecté d'une incertitude de mesure. Il est nécessaire de mener auprès des cliniciens les plus concernés des actions spécifiques et concrètes de sensibilisation pour les analytes pour lesquels l'emploi de ces concepts s'avère le plus pertinent. Par exemple, pour les analytes du bilan hydro-électrolytique auprès des réanimateurs, pour les marqueurs tumoraux auprès des oncologues, pour la troponine et les paramètres du bilan lipidique auprès des cardiologues, pour l'hémoglobine A_{1c} auprès des diabétologues, etc.

Dans cette tâche de longue haleine biologistes hospitaliers et biologistes privés doivent jouer un rôle majeur d'initiation.

Fournir une aide à l'interprétation des résultats

Pour le diagnostic, il est important de sensibiliser les utilisateurs au fait qu'un résultat proche du seuil de décision clinique doit être interprété en tenant compte de l'incertitude de mesure à ce seuil : si l'écart entre le résultat et le seuil de décision clinique est inférieur à l'incertitude élargie, le résultat ne peut être considéré comme informatif par rapport à ce seuil.

Pour le suivi d'un analyte, pour un même patient, dans le même laboratoire, une variation entre deux résultats n'est statistiquement significative au niveau de confiance de 95,5 % environ que si elle dépasse :

$$1,96 \times \sqrt{2} \times CV_{\text{analytique}}$$

soit environ 2,77 fois le CV analytique.

Si, de plus, nous voulons savoir si deux résultats d'un même patient sont significativement différents d'un point de vue biologique, au niveau de confiance de 95,5 % environ, il est également nécessaire de tenir compte de la variation biologique affectant ces deux résultats (Annexe 4). Dans ce cas les résultats comparés doivent être distants de plus de :

$$2,77 \times \sqrt{CV_{\text{analytique}}^2 + CV_{\text{intra-individuel}}^2} \quad [19].$$

Pour être pertinents les éventuels commentaires d'interprétation des biologistes doivent tenir compte de ces considérations.

Conclusion

Le Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure [7] est paru en juin 1996. Depuis, la détermination de l'incertitude de mesure n'est toujours pas appliquée en biologie médicale.

Il se peut que nous ayons une certaine difficulté à abandonner le positivisme du XIX^e siècle et pourtant il n'y a pas de valeur vraie : un résultat de mesure est toujours affecté d'une incertitude de mesure, plus ou moins importante, acceptable ou non au regard des objectifs analytiques recherchés.

En biologie médicale, la connaissance de l'incertitude de mesure qui affecte le résultat permettra d'assurer une meilleure « comparabilité métrologique » [3] des résultats et de les interpréter de manière plus fiable par rapport aux intervalles de référence et aux résultats antérieurs du patient.

L'exigence de la norme NF EN ISO 15189, et l'arrêté du 16 mars 2006 fixant les critères permettant de vérifier « les conditions de fonctionnement des laboratoires établis hors de France dans un État membre de la Communauté européenne » [31] qui renforce cette exigence, montrent l'actualité de ce sujet et l'importance que les autorités de santé accordent, à juste titre, à la mise en place dans les

En résumé

Démarche recommandée

- Informer et former le personnel du laboratoire ;
- Définir la liste des mesurands pour lesquels l'expression de l'incertitude de mesure semble pertinente : HbA_{1c}, troponine, paramètres du bilan lipidique, sodium, calcium total, etc. ;
- Relever les traçabilités des étalons de travail employés (JCTLM, notices techniques et autres renseignements du fournisseur) et des incertitudes associées aux valeurs attribuées si elles sont disponibles ;
- Relever les CV de reproductibilité intra-laboratoire admissibles (SFBC) [29] ;
- Relever les CV du CQI obtenus sur une longue période ;
- Établir le relevé des variations biologiques intra- et inter-individuelles ;
- Confirmer l'aptitude à l'emploi de la méthode de mesure au regard des exigences analytiques et cliniques ;
- Constituer une base de données à l'usage interne du laboratoire ;
- Sensibiliser les cliniciens et leur communiquer les listes des incertitudes de mesure du laboratoire et des variations biologiques.

LABM de la détermination de l'incertitude de mesure associée aux résultats quantitatifs.

Lorsque la traçabilité métrologique des étalons est assurée, il est aisé pour les LABM de déterminer cette incertitude à partir de la fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire au long cours) obtenue lors du CQI et de l'incertitude de mesure associée à la valeur des étalons utilisés dont les fournisseurs de trousse de réactifs travaillent activement à l'évaluation.

Par contre, des efforts importants devront être développés par l'ensemble de la communauté biologique internationale pour la formation des techniciens et biologistes, l'information des cliniciens, la standardisation de la phase pré-analytique et l'étude quantitative des variations qui y sont associées, le développement de matériaux et de méthodes de référence pour le plus grand nombre possible d'analytes, ainsi que le développement de recommandations internationales pour l'établissement standardisé d'intervalles de référence. D'une façon générale, un réel enseignement universitaire de la métrologie devrait permettre à la biologie médicale de bénéficier de la rigueur de cette science et des avancées certaines qu'elle autorise dans la recherche d'une meilleure fiabilité des résultats analytiques et de leur interprétation.

Références

1. Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale : Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. *Journal officiel de la République française du 11 décembre 1999* : 18441-52.
2. NF EN ISO 15189 - octobre 2003. Laboratoires d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence.
3. NFX07-001. Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie. BIPM, CEI, FICC, ISO, OIML, UICPA, UIPPA. 2^e édition. Paris La Défense : Afnor 1994. 3^e édition en préparation.
4. Directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. *Journal officiel de la Communauté européenne du 7 décembre 1998* : L331/1-L331/37.
5. NF EN ISO 17511. Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* - Mesure des grandeurs dans des échantillons d'origine biologique - Traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle, 2003.
6. NF EN ISO 18153 Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* - Mesurage des grandeurs dans des échantillons d'origine biologique - Traçabilité métrologique des valeurs de concentration catalytique des enzymes attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle, 2003.
7. NF EN 13005. Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure, 1999.
8. NF ISO 5725 (Parties 1 à 6) Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure, 1986.
9. FD X 07-021. 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, 1999.
10. EA-4/16, EA guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing. EA 2003.
11. ISO/TS 21748. Guide to the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation, 2002.
12. Priel M. Évaluation de l'incertitude. Il n'y a pas que le chapitre 8 du GUM. *Mesures* 2005 ; 776 : 53-7.
13. Perruchet C, Priel M. Estimer l'incertitude de mesure. *Mesures - Essais*. Paris La Défense : Afnor, 2000.
14. Eurachem / CITAC. Guide - Quantifying uncertainty in analytical measurement. Second edition, 2000. <http://www.eurachem.ul.pt/QUAM2000-1.pdf>.
15. Linko S, Örnemark U, Kessel R, Taylor PDP. Evaluation of uncertainty of measurement in routine clinical chemistry - Applications to determination of the substance concentration of calcium and glucose in serum. *Clin Chem Lab Med* 2002 ; 40 : 391-8.
16. Kristiansen J. Description of a generally applicable model for the evaluation of uncertainty of measurement in clinical chemistry. *Clin Chem Lab Med* 2001 ; 39 : 920-31.
17. Kristiansen J. Uncertainty is just repeated measurements. *LabMedica International* 2002 July-August : 7-10.
18. European Diagnostic Manufacturers Association. EDMA position paper - Estimation of uncertainty of measurement in medical laboratories. www.edma-ivd.be ; 17 septembre 2006.

19. White GH, Farrance I. Uncertainty of measurement in quantitative medical testing – a laboratory implementation guide. *Clin Biochem Rev* 2004 ; 25 (Suppl. ii) : S1-S24.
20. Fraser CG. *Biological variation : from principles to practice*. Washington : AACC Press, 2001.
21. 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>.
22. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zwata B. *Samples : from the patient to the laboratory – The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results*. Troisième édition. Weinheim : Wiley-VCH, 2003.
23. Fuentes-Arderiu X, Acbes-Frieyro G, Gavaso-Navarro L, Castineiras-Lacabra J. Pre-metrological (Pre-analytical) variation of some biochemical quantities. *Clin Chem Lab Med* 1999 ; 37 : 987-9.
24. Kenny D, Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Kallner A. Consensus agreement. *Scand J Clin Lab Invest* 1999 ; 59 : 585.
25. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined—a consensus document of the joint European society of cardiology/American college of cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000 ; 36 : 959-69.
26. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes melitus. *Clin Chem* 2002 ; 48 : 436-72.
27. Anaes. Recommandations pour la pratique clinique - Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. Paris : Anaes, 2000.
28. Warnick GR, Myers GL, Cooper GR, Rifai N. Impact of the third cholesterol report from the adult treatment panel of the National Education Program of the clinical laboratory. *Clin Chem* 2002 ; 48 : 11-7.
29. 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 (Paris)* 1999 ; 57 : 685-95.
30. Statistical quality control for quantitative measurement procedures. C24-A3 Vol 26 N° 25 Third Edition. Wayne (PA) : CLSI, 2006.
31. Arrêté du 16 mars 2006 fixant les critères permettant de vérifier que les conditions de fonctionnement des laboratoires établis hors de France dans un État membre de la Communauté européenne ou partie à l'accord sur l'Espace économique européen sont équivalentes à celles imposées aux laboratoires d'analyses de biologie médicale implantés sur le territoire français. *Journal officiel de la République française du 17 mars 2006*.
32. Afssaps. Prise en charge thérapeutique du patient dyslipidémique - Nouvelles recommandations de l'Afssaps. *Le quotidien du médecin* du jeudi 7 avril 2005 ; cahier 2.
- Les différentes normes sont disponibles auprès de l'Afnor : <http://www.afnor.fr>.

Annexe 1

Détermination de l'incertitude liée aux résultats de Se-Cholestérol total

Dans cet exemple, les analyses de Se-Cholestérol total du laboratoire x sont effectuées sur un automate multiparamétrique :

– l'étalon de travail (calibrateur) fourni par le fabricant est raccordé à l'étalon international NIST 909 S et a une valeur annoncée de 3,40 mmol/L ± 0,06 mmol/L avec $k = 2$; l'incertitude élargie pour la valeur de l'étalon de travail est donc $U_e = 0,06$ mmol/L et l'incertitude $u_{\text{étalonnage}}$ de 0,03 mmol/L ;

– le laboratoire x emploie deux spécimens de contrôle : les moyennes des valeurs obtenues chaque jour pendant un an pour ces deux spécimens de contrôle sont respectivement de 4,2 et 6,2 mmol/L avec un écart-type s de 0,15 mmol/L, soit un CV de 2,5 % pour le spécimen dont la concentration en cholestérol total est la plus élevée, ce qui répond aux exigences du NCEP ; l'incertitude sur la méthode est donc :

$$u_{\text{méthode}} = s = 0,15 \text{ et } u_{\text{chol}}^2 = u_{\text{étalonnage}}^2 + u_{\text{méthode}}^2 = 0,03^2 + 0,15^2 = 0,0234$$

et l'incertitude de mesure sur les résultats de cholestérol total au niveau de 6,2 mmol/L est : $u_{\text{chol}} = 0,153 \approx 0,16$; on a ainsi l'incertitude de mesure élargie $U_{\text{chol}} = 0,32$ mmol/L, avec un facteur d'élargissement $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95 % environ, pour une loi normale.

Pour un patient dont la valeur trouvée est de 5,82 mmol/L le résultat de la concentration sérique en cholestérol total est donc : $5,8 \pm 0,4$ mmol/L avec $k = 2$, l'incertitude sur le pré-analytique n'étant pas prise en compte.

À titre indicatif Fuentes-Arderiu [23] indique par ailleurs un CV pré-analytique de 1,2 % pour une concentration physiologique de Se-Cholestérol total.

Annexe 2

Incertitude liée au résultat du calcul d'une somme ou d'une différence

Si une grandeur R résulte de la quantification de plusieurs mesurandes indépendants X et Y par addition ou soustraction, l'incertitude sur le résultat u_R est la racine carrée de la somme des variances propres à chacune des incertitudes affectant les mesurandes.

Si $R = X + Y$ alors

$$u_R = \sqrt{u_X^2 + u_Y^2}$$

où u_R , u_X et u_Y sont les incertitudes respectives sur R , X et Y .

Exemple : Détermination de l'incertitude de mesure liée aux résultats de Se-LDL-cholestérol calculé à l'aide de la formule de Frederickson.

Le LDL-cholestérol est souvent calculé selon la formule de Frederickson exprimée ici en mmol/L :

$$\text{LDL-cholestérol} = \text{Cholestérol total} - (\text{HDL-cholestérol} + \text{Triglycérides}/2,2)$$

L'incertitude sur le résultat du LDL-cholestérol s'exprime alors sous la forme :

$$(u_{LDL})^2 = (u_{Chol})^2 + (u_{HDL})^2 + (u_{Trig})^2$$

où u_{LDL} , u_{Chol} , u_{HDL} , u_{Trig} sont les incertitudes composées respectivement sur le LDL-cholestérol, le cholestérol total, le HDL-cholestérol et les triglycérides.

Les incertitudes de mesure obtenues par le laboratoire x à partir des résultats du CQI et des incertitudes de mesure sur les étalons de travail communiquées par le fournisseur, sont, pour des concentrations sensiblement physiologiques, les suivantes en mmol/L :

$$u_{Chol} = 0,16 ; u_{HDL} = 0,04 ; u_{Trig} = 0,07$$

on a donc :

$$u_{LDL}^2 = (0,16)^2 + (0,04)^2 + (0,07)^2 = 0,0321$$

soit une incertitude de mesure pour le LDL-cholestérol : $u = 0,18$ mmol/L et une incertitude de mesure élargie $U_{LDL} = 0,36$ mmol/L avec un facteur d'élargissement $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95 % environ, pour une loi normale.

Pour un patient ayant des concentrations c de 5,8 mmol/L en cholestérol total, 1,08 mmol/L en HDL-cholestérol, 1,60 mmol/L en triglycérides on a :

$$c_{LDL} = 5,8 - 1,08 - 0,72 = 4,0 \text{ mmol/L}$$

et le résultat du LDL-cholestérol est donc $4,0 \pm 0,4$ mmol/L avec $k = 2$, l'incertitude sur le pré-analytique n'étant pas prise en compte.

Cet exemple illustre l'intérêt qu'aurait pour le médecin clinicien la connaissance de l'incertitude de mesure associée au résultat du cholestérol LDL en regard des recommandations de l'Afssaps [32].

Annexe 3

**Incertitude liée au résultat du calcul de produits ou de quotients
modifié d'après [19]**

Si un résultat R provient de la multiplication ou du quotient de deux ou plusieurs mesurandes X et Y .. l'incertitude relative composée sur le résultat (u_R/R) est la racine carrée de la somme des variances relatives propres à chacune des incertitudes affectant les mesurandes.

Si $R = X \times Y$ alors

$$\left(\frac{u_R}{R}\right) = \sqrt{\left(\frac{u_X}{X}\right)^2 + \left(\frac{u_Y}{Y}\right)^2}$$

où u_R , u_X et u_Y sont les incertitudes respectives sur R , X et Y .

Exemple : Incertitude de mesure d'une clairance rénale de la créatinine.

La clairance rénale de la créatinine est obtenue en divisant la quantité de créatinine urinaire excrétée pendant le temps de recueil par la concentration plasmatique de créatinine.

Si : C = clairance rénale de la créatinine en mL/s

P = concentration de créatinine plasmatique en mmol/L

U = concentration de créatinine urinaire en mmol/L

V = volume d'urine en mL

t = durée du recueil en secondes

avec u_U , u_V , u_P et u_t incertitudes composées respectivement sur C , P , V et t ,

$$C = (U \times V)/(P \times t) \text{ exprimé en mL/s}$$

$$u_{\text{clairance}} = C \times [(u_U/U)^2 + (u_V/V)^2 + (u_P/P)^2 + (u_t/t)^2]^{1/2}$$

Si : $P = 0,1$ mmol/L et $u_P = 0,004$ mmol/L

$U = 10,0$ mmol/L $u_U = 0,5$ mmol/L

$V = 1\,500$ mL $u_V = 100$ mL (estimation)

$t = 86\,400$ s (24 heures) $u_t = 1\,800$ s (estimation)

$$C = (10 \times 1\,500)/(0,1 \times 86\,400) = 1,74 \text{ mL/s (104 mL/min)}$$

$$u_{\text{clairance}} = 1,74 \times [(0,5/10)^2 + (100/1\,500)^2 + (0,004/0,1)^2 + (1\,800/86\,400)^2]^{1/2}$$

$$u_{\text{clairance}} = 1,74 \times [0,0025 + 0,0045 + 0,0016 + 0,0004]^{1/2} = 0,165 \text{ mL/s}$$

Donc : $C = 1,74 \pm 0,33$ mL/s (clairance de la créatinine, avec $k = 2$) soit $C = 104 \pm 20$ mL/min.

L'examen des différents termes du calcul fait apparaître la participation prépondérante de l'une des composantes de l'incertitude de mesure sur laquelle doit plus particulièrement porter l'attention de l'analyste, ici, en l'occurrence, l'importance de l'incertitude affectant le volume urinaire qui souligne la nécessité d'une bonne maîtrise du recueil des urines.

Annexe 4

Objectifs analytiques souhaitables pour la fidélité intermédiaire, la justesse et l'erreur totale en fonction des variations biologiques selon Ricos *et al.* [21], mis à jour en 2006 sur <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

Analyte	Variations biologiques		Spécifications d'acceptabilité		
	CV _i %	CV _g %	Défaut de fidélité (%)	Erreur de justesse (%)	Erreur totale (%)
Se-Glucose	5,7	6,9	2,9	2,2	6,9
Se-Sodium	0,7	1,0	0,4	0,3	0,9
Se-Potassium	4,8	5,6	2,4	1,8	5,8
Se-Chlorure	1,2	1,5	0,6	0,5	1,5
Se-Calcium total	1,9	2,8	1,0	0,8	2,4
Se-ACE	12,7	55,6	6,4	14,3	24,7
Se-CA 15.3	6,2	62,9	3,1	15,8	20,9
Se-CA 19.9	16,2	102,0	8,1	25,8	39,0
Se-CA 125	29,2	48,2	14,6	14,1	38,2
Se-Créatinine	4,3	12,9	2,2	3,4	6,9
Pt-Clairance rénale de la créatinine	13,6	13,5	6,8	4,8	16,0

CV_i : coefficient de variation biologique intra-individuel ; CV_g : coefficient de variation biologique inter-individuel ; Se : sérum ; Pt : patient.

Annexe 5

Objectifs analytiques souhaitables basés sur l'état de l'art selon la SFBC pour 10 des 116 analytes retenus [29]

Analyte	Pour des niveaux de concentration « moyen »		
	Reproductibilité CV % (défaut de fidélité)	Justesse % (erreur de justesse)	Inexactitude % (erreur totale)
PI-Glucose	2,4	4,4	5,0
PI-Créatinine	4,5	7,8	9,0
PI-Sodium	1,1	1,4	1,8
PI-Potassium	1,6	3,1	3,5
PI-Chlorure	1,6	1,9	2,5
PI-Calcium total	1,6	1,7	2,3
Se-ACE	8,0	8,9	12,0
Se-CA 15.3	7,0	12,1	14,0
Se-CA 19.9	10,0	11,2	15,0
Se-CA 125	7,0	12,1	14,0

Annexe 6

Fiche de la base de données concernant l'incertitude de mesure d'un mesurande d'après l'Association australasienne de biochimie clinique [19]

Analyte : Abréviation	Potassium : K
Définition du mesurande	Concentration plasmatique en potassium
Principe de la méthode	Électrode ion sélective Valinomycine
Unité	mmol/L
Intervalle de référence ^a	Plasma : 3,2-4,3 mmol/L
Interférences significatives	Hémolyse, sel de potassium de l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique
Traçabilité	Données fournies par le fabricant
Méthode de référence	Gravimétrie
Étalon (niveau de confiance à 95 %)	Valeur & incertitude de mesure
- concentration basse	3,00 ± 0,07 mmol/L u_{e1} : 0,035
- concentration élevée	7,00 ± 0,08 mmol/L u_{e2} : 0,040
Fidélité intermédiaire	CQI du 01/01/04 au 20/07/04
- niveau m_1 : 4,2 mmol/L ; écart-type	$s_1 = u_{i1}$: 0,04 mmol/L ; CV ₁ : 1,06 %
- niveau m_2 : 6,2 mmol/L ; écart-type	$s_2 = u_{i2}$: 0,05 mmol/L ; CV ₂ : 0,86 %
Objectifs analytiques	
- État de l'art [29] (au niveau de concentration moyen)	CV reproductibilité : 1,6 % Biais : 3,1 %
- Variations biologiques [21]	CV _{intra-individuel} : 4,8 %
- Objectif souhaitable	< 0,5 CV _{intra-individuel} soit < 2,4 %
Aptitude à l'emploi	Fidélité intermédiaire acceptable
Incertitudes u_{r1} et u_{r2} sur les résultats	
- niveau r_1 à 4,2 mmol/L	$u_{r1}^2 = u_{e1}^2 + u_{i1}^2 = 0,035^2 + 0,04^2 = 0,002825$ $u_{r1} = 0,05$ mmol/L
- niveau r_2 à 6,2 mmol/L	$u_{r2}^2 = u_{e2}^2 + u_{i2}^2 = 0,04^2 + 0,05^2 = 0,0041$ $u_{r2} = 0,06$ mmol/L
Incertitude de mesure élargie U à communiquer	
- niveau à 4,2 mmol/L	$U = 0,05 \times 2 = 0,10$ mmol/L
- niveau à 6,2 mmol/L	$U = 0,06 \times 2 = \pm 0,12$ mmol/L arrondi à $\pm 0,10$ mmol/L

^a si nécessaire préciser les tranches d'âge.