

INTÉRÊTS DE L'INCERTITUDE DE MESURE DANS L'ÉVALUATION ET L'INTERPRÉTATION DE LA CALCÉMIE TOTALE

ALLOUI A.S, AMOKRANE E, LEHBIL H, BENLATRECHE C,
ABADI N.

Laboratoire de Biochimie, CHU Constantine.

RÉSUMÉ :

Les résultats quantitatifs fournis par les laboratoires de biologie 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. Ce travail décrit d'une part un protocole simple d'expression de l'incertitude de mesure de la calcémie totale à partir des résultats du contrôle de qualité interne au long cours, et d'autre part, il démontre les intérêts pratiques de la mesure de cette incertitude.

Mots clés : Incertitude de mesure, Traçabilité métrologique, Variabilité analytique, Variation biologique.

ABSTRACT : INTERESTS OF UNCERTAINTY OF MEASUREMENT IN THE ASSESSMENT AND INTERPRETATION OF THE TOTAL SERUM CALCIUM.

Quantitative results provided by biology labs are interpreted in relation to intervals of references, clinical decision thresholds, or previous outcomes of the same patient, hence the need to express the uncertainty of measurement associated with the value of the result. This paper analyzes the protocol for expressing the uncertainty of measurement of total serum calcium from the results of the long-term internal quality control as well as it shows the practical interests of the measurement of this uncertainty.

Key words: Measurement of uncertainty, Metrological traceability, Analytical variability, Biological variation.

INTRODUCTION

À fin 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 [1]. 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 [1]. 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 [1]. 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 [1]. Le Guide de Bonne Exécution des Analyses GBEA [1] précise 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 [2]. La norme ISO 15189 « Laboratoires d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence » [3] spécifie que : « Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans les cas où cela est pertinent et possible... ». Par ailleurs la mise en place de l'incertitude de mesure est exigée pour les laboratoires accrédités. Le laboratoire 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. Dans ce contexte, l'objet de ce travail est de déterminer l'incertitude de mesure liée aux résultats de la calcémie totale et son intérêt en pratique.

CONCEPT «STATISTIQUE» D'INCERTITUDE DE MESURE (IM)

Dans son acception la plus large, le mot incertitude signifie doute. L'expression incertitude de mesure à une acception quelque peu différente, c'est le paramètre qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande à partir des informations utilisées [1,4]. Le paramètre peut être, par exemple, un écart-type ou un multiple de celui-ci [5]. 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 ou 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.

Par ailleurs, il s'agit d'une incertitude composée, car elle comprend de multiples composantes, dénommées incertitudes types, dont les plus importantes doivent être prises en compte : incertitude sur la valeur attribuée à l'étalon de travail, incertitudes-types relatives aux conditions environnementales, changements de manipulateurs, aspirations et dilutions de réactifs et spécimens, mesure du signal, numérisation des données, température, ... [1,4].

PATIENTS ET MÉTHODES

Spécimens biologiques

Nous avons utilisé des spécimens de contrôle du commerce

d'origine humaine TECHNOPATH Multichem S Plus (Abbott diagnostics) à trois niveaux de concentration proches des seuils de décision clinique (level 1, 2 et 3), lot n 1311120, 1311121 et 1311123 respectivement (péremption 30-04-2015).

Réactif et calibrant

Le réactif CALCIUM sur analyseur Architect® ci 8200 (Abbott Diagnostics) est le colorant arsenazo-III qui réagit avec le calcium dans une solution acide pour former un complexe bleu-pourpre. La coloration qui se développe est mesurée à 600nm. Elle est proportionnelle à la concentration en calcium de l'échantillon (notice du test).

La calibration est effectuée à l'aide d'un calibrant multiparamétrique, le Multiconstituent calibrator MCC réf 1E65, raccordé pour le paramètre calcium à l'étalon international du National Institute of Standard and Technology NIST SRM 956 (notice du calibrant).

Méthodes

La détermination de l'incertitude de mesure liée aux résultats de la calcémie totale est réalisée conformément aux recommandations de la Société Française de Biologie Clinique SFBC [2] qui rejoignent pour l'essentiel celles de l'Australian Association of Clinical Biochemistry AACB [6], avec :

Définition du mesurande et des interférences potentielles

Elle comprend la description complète des éléments définissant le mesurande : le système (plasma, sérum, urine, etc.), l'analyte (le composant mesuré) et le type de grandeur soumise à l'analyse (concentration de substance, concentration de l'activité).

Évaluation et expression de l'incertitude de mesure à l'aide de deux composantes

L'incertitude liée à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$

L'indication de la traçabilité des valeurs attribuées aux étalons de travail, ainsi que de l'incertitude de mesure qui leur est associée sont actuellement transmis par les fournisseurs à la demande du laboratoire. En ce qui concerne notre étalon de travail pour la méthode Calcium sur Architect® ci 8200, ces renseignements nous ont été communiqués par la société Abbott Diagnostics.

L'incertitude liée à la méthode de mesure $u_{\text{méthode}}$

Elle regroupe les incertitudes sur les dilutions, les mesures du signal (absorbance ou autre), 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. L'incertitude liée à la méthode peut être assimilée à la reproductibilité intralaboratoire au long cours [4,6]. Dans ces conditions, elle reflète les conditions réelles d'utilisation de la méthode analytique en rendant compte de la plus grande partie de la variabilité analytique si la précision est déterminée sur une période suffisamment longue [2,6]. Elle s'exprime quantitativement sous la forme de l'écart-type s . ($u_{\text{méthode}} = s$).

L'incertitude sur le préanalytique n'étant pas prise en compte. En effet, en l'état actuel et faute d'une standardisation suffisante de la phase préanalytique, il ne semble pas envisageable d'inclure, malgré une incidence parfois importante, la variabilité préanalytique dans la détermination de l'incertitude de mesure.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Définition du mesurande et des interférences potentielles

La description complète du principe analytique, de la matrice, de l'analyte soumis à l'analyse sont présentés sur le tableau I.

Tableau I. Définition du mesurande et des interférences potentielles.

Analyte : Abréviation	Calcium : Ca
Définition du mesurande	Concentration plasmatique en calcium
Principe de la méthode	Complexo-colorimétrique (Arsenazo III)
Unité	mg/L
Intervalle de référence	Plasma : 88-104 mg/L
Interférences significatives	Sels de potassium de l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique EDTA
Traçabilité	Données fournies par le fabricant
Méthode de référence	Spectrométrie d'absorption atomique SAA

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

Le calibrateur fourni par le fabricant, raccordé à l'étalon international NIST SRM 956, présente deux niveaux de concentration. Le niveau 1 a une valeur annoncée de 84 mg/L $\pm$ 0,111 avec $k=2$; l'incertitude élargie pour le niveau 1 est donc $U_e=0,111$ mg/L et l'incertitude liée à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$ de 0,056 mg/L. Le niveau 2 quant à lui a une valeur annoncée de 122mg/L $\pm$ 0,161 avec $k=2$; l'incertitude élargie pour le niveau 2 est donc $U_e=0,161$ mg/L et l'incertitude liée à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$ de 0,080 mg/L (tableau II).

Tableau II. Incertitude liée à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$ (Données fabricant)

	Calibrant	Unité	Niveaux	Incertitude élargie U_e ($k=2$)	Incertitude $u_{\text{étalonnage}}$
Calcium plasmatique	Multi-constituent Calibrant MCC	mg/L	1 : 84	0.111	0,056
			2 : 122	0.161	0,080

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

Les résultats de la reproductibilité intralaboratoire obtenus sur les spécimens de contrôle dosés quotidiennement avant chaque série sur une période de 06 mois (120 valeurs pour chaque niveau de concentration au cours du 1^{er} semestre 2014) sont présentés sur le tableau III.

Tableau III. Incertitude liée à la méthode de mesure $u_{\text{méthode}}$ (u_m)

Contrôle	Valeur cible (mg/L)	Moyenne (mg/L)	Ecart-type S (mg/L)	Incertitude $u_{\text{méthode}}$ (u_m) (mg/L)
Niveau 1	65,2	63,02	1,66	$u_{m1}=S_1 : 1,66$
Niveau 2	96,4	95,50	2,49	$u_{m2}=S_2 : 2,49$
Niveau 3	132	129,36	3,14	$u_{m3}=S_3 : 3,14$

Les coefficients de variation (CV) analytiques obtenus sont ensuite confrontés aux objectifs analytiques préétablis basés sur les normes de la SFBC et sur la variation biologique [7,8,9]; les résultats sont présentés sur le tableau IV.

Tableau IV. Confrontations des CV analytiques du laboratoire aux objectifs analytiques.

Contrôle	CV laboratoire (%)	CV limite SFBC ¹ (%)	CV limite VB ² (%)
Niveau 1	2,63	1,6	1,05
Niveau 2	2,61	1,6	1,05
Niveau 3	2,43	1,6	1,05

1: Société Française de Biologie Clinique; 2: Variation Biologique.

La non-conformité de la variabilité analytique au long cours de la calcémie totale (reflétée par les CV analytiques), principale composante de notre incertitude de mesure, aux objectifs analytiques démontre les performances insuffisantes de nos systèmes analytiques pour cet analyte dont l'amplitude des variations chez un même individu ou d'un individu à un autre (variation biologique) est très étroite imposant une erreur analytique tolérable très faible [10]. En effet, les valeurs observées chez les sujets sains se situent chez l'adulte entre 88 et 104 mg/L, ce qui n'autorise pas, sur le plan analytique une marge d'erreur supérieure à 8 mg/l et correspond donc à $\pm 4\%$, soit un coefficient de variation (CV) de reproductibilité inférieure à 2 % si l'on considère qu'il n'y a pas d'erreur de justesse [10]. Cette absence d'adéquation avec les objectifs analytiques préétablis impose des actions correctives en vue de l'amélioration de la méthode de mesure de la calcémie et une vigilance extrême tant pour le calcium que pour les autres paramètres dont les variations biologiques sont également faibles (notamment le sodium, le chlorure et le glucose) [11].

Expression de l'incertitude sur les résultats $u_{\text{résultat}}$ (u_r)

L'incertitude sur les résultats $u_{\text{résultat}}$ correspond à la somme des incertitudes liées à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$ et à la méthode de mesure $u_{\text{méthode}}$ selon la formule :

$$u_r^2 = u_e^2 + u_m^2$$

Les incertitudes sur les résultats u_{r1} , u_{r2} et u_{r3} sont présentées sur le tableau V. Le calibrant n'étant pas titré au niveau bas; il ne sera pas tenu compte de l'incertitude liée à l'étalonnage $u_{\text{étalonnage}}$ pour l'estimation de l'incertitude sur le résultat au niveau 1.

Expression de l'incertitude de mesure U à communiquer

L'incertitude de mesure U sur le résultat à communiquer sera exprimée dans la même unité que le résultat sous forme d'incertitude élargie. Un facteur d'élargissement $k=2$ étant conseillé

Tableau V. Incertitude sur les résultats $u_{résultats}$

Incertitudes sur les résultats u_i		
Niveau 1	$u_{r1}^2 = u_{m1}^2 = (1,66)^2 = 2,76$	$u_{r2} = 1,70$
Niveau 2	$u_{r2}^2 = u_{e2}^2 + u_{m2}^2 = 6,20$	$u_{r2} = 2,50$
Niveau 3	$u_{r3}^2 = u_{e3}^2 + u_{m3}^2 = 9,87$	$u_{r3} = 3,20$

pour un niveau de confiance de 95 % environ et pour une distribution normale ; alors $U = k u_{résultat} = 2U_{résultat}$. Les résultats sont présentés sur le tableau VI.

Tableau VI. Incertitude à communiquer U .

Incertitudes U à communiquer			
Niveau 1	$U_1 = 2 \times u_{r1} = 1,70 \times 2$	$U_1 = 3,40 \text{ mg/L}$	(pour les concentrations basses)
Niveau 2	$U_2 = 2 \times u_{r2} = 2,5 \times 2$	$U_2 = 5,00 \text{ mg/L}$	(pour les concentrations moyennes)
Niveau 3	$U_3 = 2 \times u_{r3} = 3,20 \times 2$	$U_3 = 6,40 \text{ mg/L}$	(pour les concentrations élevées)

L'incertitude de mesure (qui découle de la variabilité analytique excessive), même si elle n'est pas satisfaisante, fournit tout de même une aide précieuse à l'interprétation des résultats provenant de notre laboratoire. En effet, dans le cadre du diagnostic et pour un résultat proche du seuil de décision clinique 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 et inversement [2].

Autrement dit, une calcémie totale revenue à 85 mg/L avec un seuil de décision clinique à 88 mg/L et une incertitude de mesure à ce seuil $U_2 = 5,00 \text{ mg/L}$, ne peut être considérée comme informative avec un niveau de confiance de 95%. Alors qu'une calcémie revenue à 110 mg/L avec un seuil de décision clinique à 104 mg/L avec la même incertitude est considérée comme informative avec le même niveau de confiance.

En somme, la détermination de notre incertitude de mesure sur le calcium a permis d'une part, une meilleure appréciation des limites de nos performances analytiques sur ce paramètre en fonction des besoins cliniques, et d'autre part, une interprétation plus pertinente des résultats de la calcémie en vue du diagnostic du patient.

Cependant, et malgré l'intérêt certain, il ne paraît pas actuellement concevable de rendre les résultats de patients accompagnés de l'incertitude de mesure car les cliniciens (et encore moins les patients) ne sont pas familiers des notions d'incertitude de mesure et de variation biologique par la même.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'incertitude de mesure est une expression "réelle" des performances analytiques obtenues dans le laboratoire dans la mesure où elle permet d'évaluer dans quelle proportion une performance analytique affecte la décision clinique.

Il est donc indispensable de former les biologistes (et même les techniciens) au concept d'incertitude de mesure et de variation biologique. Il importe aussi par ailleurs 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. Dans ce contexte, Il serait nécessaire de mener auprès des cliniciens les plus concernés des actions spécifiques et concrètes de sensibilisation pour les analytes pour lesquels l'emploi de ce concept s'avère le plus pertinent (le bilan hydro-électrolytique auprès des réanimateurs, les

marqueurs tumoraux auprès des oncologues, la troponine et les paramètres du bilan lipidique auprès des cardiologues, l'HbA1c auprès des diabétologues).

Dans cette tâche de longue haleine, les biologistes doivent jouer un rôle majeur d'initiation.

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. Giroud C, Dumontet M, Vassault A, Braconnier F, Férard G.** 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.
- 3. NF EN ISO 15189 - octobre 2003.** Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence.
- 4. EA-4/16, EA guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing.** EA 2003.
- 5. Guide pour l'Expression de l'Incertainitude de Mesure.** XP X 07-020 - Juin 1996.
- 6. White GH, Farrance I.** Uncertainty of measurement in quantitative medical testing – a laboratory implementation guide. Clin Biochem Rev 2004 ; 25(Suppl. ii) : S1-S24.
- 7. Dumontet M.** Mise en œuvre, utilisation et exploitation du contrôle de qualité afin d'assurer la validation analytique, la maîtrise métrologique des instruments d'analyses et la détermination de l'incertitude de mesure. Spectra Biologie. 2004 ; 157 : 27-36.
- 8. 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>
- 9. 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.
- 10. NFX07-001.** Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie. BIPM, CEI, FICC, ISO, OIML, UICPA, UIPPA. 2e édition. Paris : La Défense : Afnor 1994. 3e édition en préparation, 1993.
- 11. Vassault A.** Calcium total et ionisé. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie Clinique. 90-10-0260, 2006.