



Agence fédérale
pour la Sécurité
de la Chaîne alimentaire

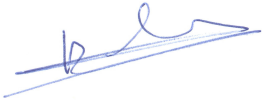


Administration des Laboratoires

Procédure

DETERMINATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE POUR LES ANALYSES CHIMIQUES QUANTITATIVES

Date de mise en application :

- voir date d'approbation pour des méthodes nouvelles pour lesquelles on demande l'agrément;
- au plus tard le 01/01/2011 pour toutes les méthodes pour lesquelles l'agrément a été obtenu.

	Nom – fonction / service	Date	Signature
Rédigé par :	Ronny Martens FLVVM	31/10/2008	
Vérifié par :	Frans De Volder Responsable qualité	31/10/2008	
Approuvé par :	Geert De Poorter Directeur général Administration Laboratoires	03/11/2008	

Récapitulatif de la révision du document

Révision par /date*	Motifs de la révision	Partie du texte / portée de la révision

* L'écart entre la date actuelle et la dernière révision ne peut dépasser 5 ans.

Numéro de révision et, si d'application, adapter l'année. Après approbation, adapter la date de mise en application, en tenant compte du temps nécessaire pour informer les collaborateurs concernés.

Destinataires

Tous les laboratoires agréés :

- Laboratoires AFSCA
- LNR
- Laboratoires externes

Les documents sont disponibles sur le site web de l'AFSCA (www.afsca.be > Professionnels > Laboratoires > Laboratoires agréés > Notes de service).

Pour les collaborateurs de l'AFSCA les documents sont aussi placés sur le serveur central. Les versions du groupe A sont considérée comme les versions d'application.

Mots clés : incertitude de mesure
 analyses chimiques quantitatives

**DETERMINATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE
POUR LES ANALYSES CHIMIQUES QUANTITATIVES**

TABLE DES MATIERES

1	OBJECTIF	4
2	CHAMP D'APPLICATION	4
3	DOCUMENTS LEGAUX ET NORMATIFS	4
4	DEFINITIONS ET ABREVIATIONS.....	4
5	GENERALITES	5
6	APPROCHE TOP-DOWN VIA LA JUSTESSE ET LA REPRODUCTIBILITE	5
6.1	GENERALITES	5
6.2	CONTEXTE.....	6
6.3	INTRA-REPRODUCTIBILITE.....	8
6.3.1	<i>Intra-reproductibilité à partir de la carte de contrôle d'un CRM ou d'un échantillon de contrôle à la matrice identique.....</i>	<i>8</i>
6.3.2	<i>Intra-reproductibilité à partir de la carte de contrôle d'un CRM ou d'un échantillon de contrôle complété avec des données de déterminations de duplos sur des échantillons de routine</i>	<i>9</i>
6.3.3	<i>Intra-reproductibilité à partir des ring tests</i>	<i>10</i>
6.3.4	<i>Intra-reproductibilité uniquement à partir des échantillons de routine.....</i>	<i>10</i>
6.4	JUSTESSE / BIAIS	11
6.4.1	<i>Détermination de la justesse / du biais à partir de la carte de contrôle d'un matériau de référence certifié (CRM).....</i>	<i>11</i>
6.4.2	<i>Détermination de la justesse / du biais à partir de ring tests.....</i>	<i>12</i>
6.4.3	<i>Détermination de la justesse / du biais à partir d'expériences de recouvrement 14</i>	
6.5	CALCUL DE L'INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE U.....	15
6.6	INCERTITUDE DE MESURE A DIFFERENTES CONCENTRATIONS.....	16
7	CONTROLE DU CALCUL	16
8	REFERENCE AUX PROCEDURES, INSTRUCTIONS, DOCUMENTS, FORMULAIRES OU LISTES Y AFFERENTS.....	16

DETERMINATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE POUR LES ANALYSES CHIMIQUES QUANTITATIVES

1 Objectif

Ce document a pour objectif d'établir des directives pour la détermination de l'incertitude de mesure d'analyses chimiques de sorte que celle-ci soit déterminée de manière univoque et cohérente entre les différents laboratoires.

2 Champ d'application

Cette procédure décrit la méthode de détermination de l'incertitude de mesure pour les résultats d'analyses chimiques.

3 Documents légaux et normatifs

Les instructions d'exécution ont été établies conformément aux exigences de la norme NBN EN ISO/IEC 17025, clause 5.4.6.

4 Définitions et abréviations

b et %b	biais / biais relatif
$C_{\text{dopé}}$	la valeur avec laquelle un échantillon d'analyse est dopé (spiked)
C_{cons}	la valeur de consensus lors d'un ring test
C_{ref}	la valeur de référence
CRM	matériau de référence certifié (certified reference material)
%d	différence relative des duplos
k	facteur de couverture pour passer de l'incertitude de mesure relative %u à l'incertitude de mesure relative élargie %U
$\%MS_{\text{bias}}$	le carré moyen relatif (Mean Square) du biais
R	la reproductibilité (= 2,8 s_R)
$\%R_{\text{moy}}$	l'étendue moyenne relative (pour les duplos : la moyenne des différences relatives des duplos %d entre deux valeurs liées)
RSD	l'écart type relatif, calculé comme $RSD = 100 * s/X$ avec s pour l'écart type et X pour la valeur de mesure. RSD est exprimé en %.
RSD_{bias}	l'écart type relatif du biais
RSD_{CC}	l'écart type relatif déduit d'une carte de contrôle
s	l'écart type
s_{CRM} et RSD_{CRM}	l'écart type (relatif) déduit de la carte de contrôle d'un CRM
s_r et RSD_r	l'écart type (relatif) dans des conditions de répétabilité
s_R et RSD_R	l'écart type (relatif) dans des conditions de reproductibilité
u_{bias} et $\%u_{\text{bias}}$	l'incertitude de mesure (relative) liée au biais
u_c	l'incertitude de mesure combinée
u_{Rw} et $\%u_{\text{Rw}}$	l'incertitude de mesure (relative) liée à la reproductibilité interlaboratoire
u_{Cref} et $\%u_{\text{Cref}}$	l'incertitude de mesure (relative) liée à la valeur de référence d'un CRM
%u	l'incertitude de mesure relative, $\%u = 100 * u/X$ avec X pour la valeur de mesure. %u est exprimé en %.
$\%u_{\text{dopé}}$	l'incertitude de mesure relative liée à la valeur dopée (spike) lors

$\%U_{Cref, dopé}$	d'une expérience de recouvrement l'incertitude de mesure relative liée à la solution étalon utilisée lors d'une expérience de recouvrement
$\%U_{Cons}$	l'incertitude de mesure relative de la valeur consensus lors d'une analyse interlaboratoire
$\%U_{ref}$	l'incertitude de mesure relative de toutes les valeurs consensus lors de plusieurs études interlaboratoires
$\%U_p$	le biais relatif du volume de pipette tel qu'utilisé lors d'une expérience de recouvrement
$\%U_v$	l'incertitude de mesure relative du pipetage lors d'une expérience de recouvrement
U et $\%U$	l'incertitude de mesure élargie (relative)

5 Généralités

Lors du calcul de l'incertitude de mesure pour un résultat d'analyse, on peut en principe appliquer deux approches : l'approche 'Bottom-up', où toutes les sources possibles de variation sur le résultat sont répertoriées séparément et où est déterminée la contribution de chaque source à l'incertitude de mesure, et l'approche 'Top-down', où l'on part d'une évaluation statistique de résultats d'analyse qui ont suivi l'ensemble du parcours d'analyse.

En raison de la difficulté de déterminer toutes les sources possibles de variation avec l'approche 'Bottom-up' d'une analyse chimique, on a opté dans ce document pour une approche 'Top-down'.

L'incertitude de mesure élargie **U** est définie comme 2 fois l'incertitude de mesure combinée u_c . L'hypothèse ici est que l'incertitude de mesure combinée possède suffisamment de degrés de liberté (= déduit d'un nombre suffisant de valeurs de mesure), de telle sorte que, lors de la détermination de l'intervalle de 95%, la valeur arrondie de 2,0 de la distribution t puisse être utilisée.

Les calculs sont effectués avec un nombre suffisant de chiffres significatifs ; on arrondit seulement à la fin du calcul de l'incertitude de mesure élargie **U**.

6 Approche Top-down via la justesse et la reproductibilité

6.1 Généralités

Lors du calcul de l'incertitude de mesure élargie **U**, différentes approches peuvent être appliquées en fonction des données disponibles. Les trois approches principales sont les suivantes :

- partir des données obtenues lors de la validation originale de la méthode normalisée appliquée ;
- partir de données obtenues via la participation à des études interlaboratoires;
- partir de données obtenues dans son propre laboratoire lors de l'exécution routinière de la méthode.

La première approche a pour avantage que l'incertitude de mesure élargie **U** peut être déduite des résultats de l'analyse interlaboratoire avec laquelle la méthode normalisée a été initialement validée. Il vaut alors que $U = 2s_R$, où s_R représente l'écart type de la reproductibilité. La part de dispersion entre laboratoires est de cette manière déjà comprise

dans s_R . Les inconvénients de cette approche sont les suivants : elle n'est valable que si la méthode est effectuée de manière **exacte** telle que décrite dans la norme, on doit pouvoir démontrer que son propre biais est négligeable et, lors d'analyses de routine, les données des cartes de contrôle doivent toujours se situer dans les valeurs pour la répétabilité r (dispersion des déterminations des duplos) et la reproductibilité R (dispersion sur plus long terme). Un autre inconvénient est que l'incertitude de mesure propre peut être plus faible que celle déduite de l'analyse interlaboratoire pour la validation et que l'on surestime donc sa propre incertitude de mesure. Et, bien évidemment, cela ne peut être appliqué que lorsque les données d'une analyse interlaboratoire sont disponibles.

La deuxième approche – l'incertitude de mesure élargie U tirée d'analyses interlaboratoires auxquelles on a participé – a également pour avantage que la dispersion entre laboratoires est déjà comprise dans l'incertitude de mesure. U est alors calculé d'une manière analogue comme $U = 2s_R$, où s_R représente l'écart type de la reproductibilité lors des analyses interlaboratoires. Une condition pour pouvoir appliquer cette approche est que son propre laboratoire ait obtenu de bons résultats lors de ces analyses interlaboratoires. Ici aussi, l'inconvénient est que l'incertitude de mesure propre peut être inférieure à celle déduite des analyses interlaboratoires et que l'on peut donc ainsi surestimer sa propre incertitude de mesure. Et ici aussi cela ne peut être appliqué que si des analyses interlaboratoires sont organisées pour la méthode, la matrice et le paramètre concernés.

La troisième approche – l'incertitude de mesure élargie U tirée des données obtenues dans son propre laboratoire – présente plusieurs avantages par rapport aux approches précédentes : le résultat se rapporte à la méthode telle que réellement appliquée dans le laboratoire (donc y compris les modifications par rapport à la norme) et on peut utiliser des résultats obtenus dans le cadre d'analyses de routine (cartes de contrôle, différences des duplos, etc). Si souhaité, on peut également prendre en compte les résultats d'analyses interlaboratoires. Enfin, cette approche permet d'avoir un meilleur aperçu de l'importance relative des différentes sources d'incertitude de mesure.

C'est la troisième approche qui sera davantage détaillée dans cette procédure.

6.2 Contexte

Lors de la détermination de l'incertitude de mesure élargie U à partir de données obtenues dans son propre laboratoire, deux facteurs sont importants : d'une part la justesse ou le biais et d'autre part la précision ou l'intra-reproductibilité. Le biais peut être considéré comme l'erreur systématique et la précision comme l'erreur aléatoire sur une mesure.

Le biais en lui-même peut encore scindé d'une part en b , la valeur du biais, et d'autre part en u_{bias} , l'incertitude liée à cette valeur. Outre ces deux composantes liées au biais, il faut également tenir compte de u_{Rw} , l'incertitude provenant du processus d'analyse lui-même, qui est caractérisée par l'intra-reproductibilité (Rw représente ici *within-lab Reproducibility*). C'est à partir de ces trois composantes, une 'systématique' et deux 'aléatoires', que l'incertitude de mesure élargie U est calculée.

Il y a maintenant différentes manières permettant de calculer les composantes du biais b et u_{bias} .

Une approche possible – la méthode avec combinaison linéaire – suppose un nombre suffisamment grand de données à partir desquelles sont déduits les paramètres de population (taille, variances et écarts types) du biais. Une autre approche – la méthode avec combinaison quadratique – travaille avec des paramètres aléatoires pour le biais, la méthode pouvant ainsi également être appliquée lorsque l'on ne dispose que d'un nombre limité de données pour déduire le biais (à partir de 6). C'est cette dernière approche qui sera davantage détaillée dans ce document.

Pour la méthode de la combinaison quadratique, l'incertitude de mesure élargie **U** est considérée comme la somme de deux composantes aléatoires **u_{bias}** et **u_{Rw}**. Cela implique que, si un biais significatif est présent, une correction est apportée du point de vue de ce biais. Lorsqu'il n'existe pas de biais significatif ou lorsque celui-ci est petit ou lorsqu'aucune correction n'est apportée du point de vue du biais, sa valeur est alors reprise dans **u_{bias}**, l'incertitude liée au biais. La formule pour l'incertitude de mesure élargie **U** devient alors (avec un facteur de couverture k=2) :

$$U = 2\sqrt{(u_{\text{bias}}^2 + u_{\text{Rw}}^2)}.$$

Remarque : même lorsque le biais ne diffère pas de manière significative de 0, on doit tout de même tenir compte de **u_{bias}**, l'incertitude liée au biais. Le biais est en effet estimé, et **u_{bias}** caractérise donc l'incertitude liée à cette estimation. Mettre le biais **b** sur 0 correspond alors à un glissement de la valeur de référence et cela n'a pas d'effet sur la dispersion autour de cette valeur.

Le schéma qui suit pour la détermination de l'incertitude de mesure se déroule comme suit :

- déterminez l'intra-reproductibilité,
- déterminez le biais et la dispersion relative à celui-ci,
- calculez l'incertitude de mesure totale en réunissant tous les facteurs.

Les calculs peuvent être effectués tant avec les valeurs absolues des écarts types **s** qu'avec leurs valeurs relatives (**RSD**, l'écart type relatif). Il vaut ici que

$$RSD = 100 * s/X$$

avec la valeur **X** du paramètre.

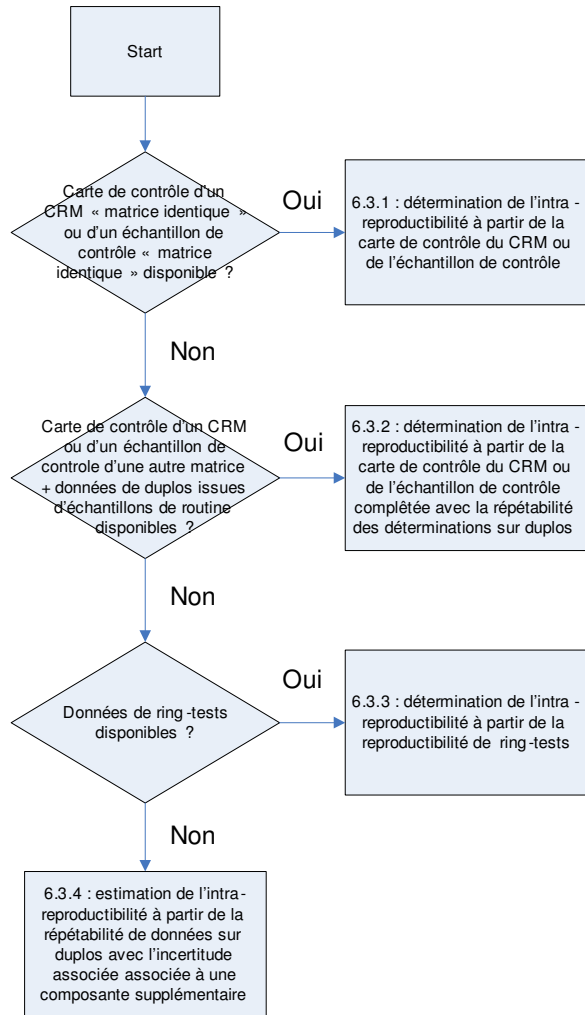
Exemple : si l'écart type **s** d'une mesure s'élève à 2,4 mg/kg à un niveau **X** = 200 mg/kg, alors $RSD = 100 * 2,4/200 = 1,2\%$.

L'avantage de travailler avec des valeurs relatives est que les résultats obtenus à différents niveaux de concentration (par ex. différents CRM) peuvent être combinés facilement. C'est pour cette raison que l'on travaille avec des valeurs relatives dans la suite de ce document.

6.3 Intra-reproductibilité

L'**intra-reproductibilité** relative $\%u_{RW}$ est une mesure pour la dispersion des résultats d'analyse au sein d'un même laboratoire à plus long terme. Le facteur du long terme est important car ce n'est qu'à plus long terme que l'influence de certains facteurs (laborantins différents, appareils différents (si présents), lots réactifs/étalons différents, moments différents, conditions d'environnementales différentes,...) peut se traduire dans l'incertitude de mesure.

En fonction des données dont on dispose, ce paramètre peut être déterminé de différentes manières. Ces différentes procédures sont indiquées ci-après **en ordre de préférence décroissant**, ce qui implique que l'on utilisera la première procédure pour laquelle on peut obtenir les données nécessaires. C'est ce qui est représenté dans le diagramme ci-contre.



6.3.1 Intra-reproductibilité à partir de la carte de contrôle d'un CRM ou d'un échantillon de contrôle à la matrice identique

Le CRM ou l'échantillon de contrôle doivent subir l'ensemble du processus d'analyse et **être représentatifs du point de vue de la matrice pour les échantillons de routine**. Une fois cette condition respectée, la variance relative de l'intra-reproductibilité est alors identique à RSD_{CC}^2 , la variance relative telle que déduite de la carte de contrôle du CRM ou de l'échantillon de contrôle :

$$\%u_{RW}^2 = RSD_{CC}^2$$

Exemple: à partir d'une fiche de contrôle d'un CRM, on a calculé une valeur moyenne \bar{X} = 30,5 mg/kg et un écart-type s de 1,52 mg/kg. L'écart-type relatif $RSD_{CC} = 100 \cdot 1,52/30,5 = 4,98\%$ et la variance relative $RSD_{CC}^2 = (4,98)^2 = 24,84 = \%u_{RW}^2$.

6.3.2 Intra-reproductibilité à partir de la carte de contrôle d'un CRM ou d'un échantillon de contrôle complété avec des données de déterminations de duplos sur des échantillons de routine

Cette méthode est indiquée lorsque le CRM ou l'échantillon de contrôle utilisé *n'est pas représentatif pour les matrices des échantillons de routine*. Du fait que, dans un tel cas, l'intra-reproductibilité qui est déduite de la carte de contrôle peut sous-estimer la dispersion réelle, l'intra-reproductibilité est ajoutée à la répétabilité telle que celle-ci est estimée à partir des déterminations de duplos d'échantillons de routine. La méthode est la suivante :

- à partir de la carte de contrôle, déterminez RSD_{CC}^2 , la variance relative de l'échantillon de contrôle,
- calculez comme suit l'étendue relative %d (les différences relatives des duplos) de chaque échantillon de routine :

$$\%d = 100 * |x_1 - x_2| / X$$

où x_1 et x_2 représentent les valeurs de mesure individuelles de la détermination de duplos et X leur moyenne.

- calculez l'étendue relative moyenne $\%R_{moy}$, la moyenne des différences relatives des duplos %d,
- calculez, à partir de $\%R_{moy}$, l'écart type relatif de la répétabilité RSD_r :

$$RSD_r = \%R_{moy} / 1,128$$

- la variance relative de l'incertitude de mesure provenant de l'intra-reproductibilité constitue alors la somme des deux variances :

$$\%u_{Rw}^2 = RSD_{CC}^2 + RSD_r^2$$

Exemple: on dispose d'une carte de contrôle d'un matériel de référence pour le même paramètre d'analyse mais une autre matrice que pour les échantillons de routine. Les paramètres statistiques dérivés de cette carte de contrôle sont : valeur moyenne $X = 40,5$ mg/kg et écart-type $s = 0,84$ mg/kg. Il en résulte que $RSD_{CC} = 100 * 0,84 / 40,5 = 2,07\%$ et $RSD_{CC}^2 = (2,07)^2 = 4,30$.

A partir des analyses duplos d'échantillons de routine, on calcule les différences relatives des duplos %d (voir tableau, x_1 et x_2 sont les valeurs des duplos, X est la moyenne des valeurs des duplos, $|x_1 - x_2|$ est la différence absolue entre les valeurs des duplos et %d est la différence relative $100 * |x_1 - x_2| / X$).

Remarque : en pratique, utiliser plus de valeurs de duplos que dans le tableau !

x_1	x_2	X	$ x_1 - x_2 $	%d
45,2	40,1	42,65	5,1	11,96
62,8	60,4	61,60	2,4	3,90
83,5	87,6	85,55	4,1	4,79
59,0	53,3	56,15	5,7	10,15
39,1	43,5	41,30	4,4	10,65
25,5	28,4	26,95	2,9	10,76
Etendue moyenne relative $\%R_{gem}$:				8,70

L'étendue moyenne relative $\%R_{gem}$ (la moyenne de la colonne %d) = 8,70%.

RSD_r est alors $\%R_{gem} / 1,128 = 8,70 / 1,128 = 7,72\%$ en $RSD_r^2 = (7,72)^2 = 59,51$.

$\%u_{Rw}^2$ est la somme des deux variances : $\%u_{Rw}^2 = 4,30 + 59,51 = 63,82$.

6.3.3 Intra-reproductibilité à partir des ring tests

Cette méthode peut être appliquée *si aucune information interne n'est disponible à partir de laquelle on peut estimer l'intra-reproductibilité*. On peut alors utiliser, pour l'estimation de l'intra-reproductibilité, la valeur relative pour la reproductibilité du (des) ring test(s) RSD_R :

$$\%u_{Rw}^2 = RSD_R^2$$

Si les résultats de plusieurs ring tests doivent être combinés, le mieux est de calculer la moyenne pondérée de tous les RSD_R^2 :

- déterminez RSD_R^2 pour chaque ring test et multipliez-le par le nombre de degrés de liberté de ce ring test $m-1$ (le nombre de laboratoires participants -1),
- calculez le RSD_R^2 combiné en additionnant tous les termes et divisez cette somme par le nombre total de degrés de liberté (= nombre total de laboratoires participants – nombre de ring tests).

Exemple: on a participé à 6 ring tests avec les résultats suivants (Conc. = valeur de référence, s_R = écart-type de la reproductibilité, m = nombre de participants, $RSD_R = 100 \cdot s_R / \text{Conc.}$) :

Conc. (mg/kg)	s_R (mg/kg)	m	RSD_R (%)	$RSD_R^{2 \cdot (m-1)}$
42,3	5,6	20	13,24	3330
51,1	7,8	18	15,26	3961
65,9	9,0	15	13,66	2611
55,3	8,1	21	14,65	4291
72,8	6,3	18	8,65	1273
31,2	8,2	21	26,28	13815
Nombre total de participants :		113	Som :	29281

Le nombre de degrés de liberté est le nombre total de participants – le nombre de ring tests = $113 - 6 = 107$.

Le RSD_R^2 combiné = $29281 / 107 = 273,65 = \%u_{Rw}^2$.

6.3.4 Intra-reproductibilité uniquement à partir des échantillons de routine

Lorsqu'*aucun échantillon de contrôle n'est disponible* ni *aucune donnée de ring tests*, on peut alors, en dernier recours, estimer l'intra-reproductibilité en partant des différences des duplos d'échantillons de routine. Cette méthode doit, dans la mesure du possible, être évitée !

À partir des différences des duplos, on calcule d'abord l'étendue relative $\%d$ et ensuite l'étendue relative moyenne $\%R_{moy}$, d'où on déduit ensuite l'écart type relatif de la répétabilité RSD_r (voir plus haut).

Du fait que la répétabilité constitue une sous-estimation de l'intra-reproductibilité, une composante supplémentaire RSD_{Rb} doit être prise en considération qui est liée aux différences entre jours, etc. Pour estimer cette composante, il faut utiliser toutes les données supplémentaires possibles concernant cette analyse ; en l'absence de celles-ci (ce qui peut être le cas lors du lancement d'une nouvelle analyse), on peut, si besoin est, utiliser un 'educated guess' sur base de l'expérience avec des méthodes analogues, etc.

La variance relative de l'intra-reproductibilité constitue alors la somme des deux variances :

$$\%u_{Rw}^2 = RSD_{Rb}^2 + RSD_r^2$$

Exemple: on a déduit de doubles analyses (voir tableau au point 6.3.2) que $\%R_{gem} = 8,70$; et de là, que $RSD_r = 8,70 / 1,128 = 7,72\%$.

A partir de la carte de contrôle d'une analyse analogue, on estime que le composant supplémentaire $RSD_{Rb} = 2,5\%$.
 Il en résulte que $\%u_{Rw}^2 = (7,72)^2 + (2,5)^2 = 65,76$.

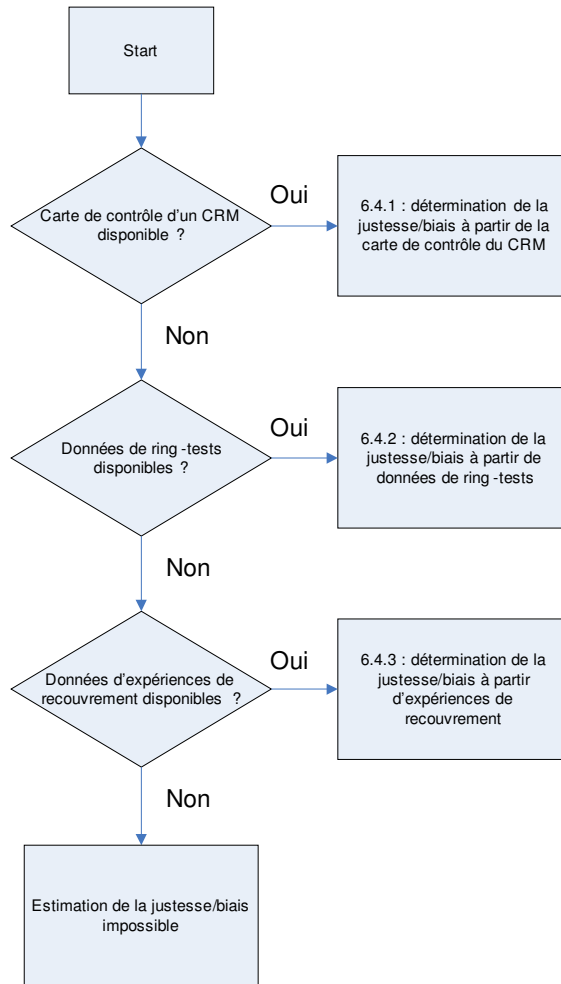
6.4 Justesse / biais

La **justesse** : étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée. Ce dernier paramètre n'est toutefois pas connu et est de préférence estimé à l'aide de matériaux de référence certifié (CRM) ; la valeur certifiée est alors considérée comme la 'vraie' valeur. Les résultats obtenus après analyse du CRM sont comparés à la valeur certifiée et, sur cette base, on calcule le biais.

Si aucun CRM n'est disponible, le biais peut être déduit des données des ring tests, la valeur de consensus du matériau analysé étant alors considéré comme la 'vraie' valeur.

Une autre alternative consiste à estimer le biais à partir d'expériences de recouvrement (recovery) d'échantillons dopés, la quantité dopée servant alors de substitut pour la 'vraie' valeur.

C'est ce qui est représenté dans le diagramme ci-contre.



6.4.1 Détermination de la justesse / du biais à partir de la carte de contrôle d'un matériau de référence certifié (CRM)

Un CRM se caractérise par 2 paramètres : C_{ref} , la valeur de référence certifiée et U_{Cref} , l'incertitude de mesure élargie liée à cette valeur de référence. La valeur de référence est utilisée pour déterminer la valeur du biais, U_{Cref} doit être pris en compte lors de la détermination de l'incertitude liée au biais.

La procédure est la suivante :

- calculez, à partir de l'incertitude de mesure élargie donnée U_{Cref} , l'incertitude de mesure relative $\%u_{Cref}^2$ selon la formule suivante :

$$\%u_{Cref} = (100 * U_{Cref}) / (k * C_{ref})$$

où **k** représente le facteur de couverture utilisé lors du calcul de **U_{Cref}** (celui-ci est indiqué sur le certificat et est généralement égal à 2) et **C_{ref}** la valeur de référence certifiée. L'incertitude de mesure relative **%u_{Cref}** constitue alors une mesure pour l'incertitude liée au fait que la 'vraie' valeur du CRM n'est pas connue mais a été estimée à partir d'analyses.

- effectuez au moins 6 analyses sur le CRM et calculez à partir des résultats d'analyse la valeur de mesure moyenne **X** et l'écart type **s_{CRM}**, et de là l'écart type relatif **RSD_{CRM}**,
- calculez le biais relatif **%b** à partir de la valeur certifiée **C_{ref}** et de la valeur de mesure moyenne **X** selon la formule

$$\%b = 100 * (X - C_{ref})/C_{ref}$$

- calculez la variance relative du biais selon la formule

$$RSD_{bias}^2 = RSD_{CRM}^2/n$$

où **n** représente le nombre de valeurs à partir desquelles la moyenne **X** a été calculée.

- si le biais relatif **%b** n'est pas significatif ou est petit (ce qu'il reste du biais après réalisation d'une correction avec une valeur fixe), il est alors repris dans **%u_{bias}²** :

$$\%u_{bias}^2 = \%b^2 + RSD_{bias}^2 + \%u_{Cref}^2$$

Remarque : si le CRM utilisé n'est pas représentatif de la matrice des échantillons de routine, on doit alors faire en sorte que la dispersion, provoquée par les différentes matrices, soit comprise dans **%u_{Rw}**, sinon l'incertitude de mesure sera sous-estimée !

Exemple:

Pour la détermination du biais, on utilise une CRM dont le certificat mentionne: **C_{ref}** = 425,0 mg/kg et **U_{Cref}** = 9,0 mg/kg déterminé avec **k** = 2.

A partir de cela, on calcule **%u_{Cref}** comme $(100*9,0)/(2*425,0) = 1,06\%$.

On a effectué sur ce CRM 12 analyses avec comme valeur moyenne **X** = 427,5 mg/kg et **s_{CRM}** = 18,2 mg/kg. Il en résulte que **RSD_{CRM}** = $100*18,2/427,5 = 4,26\%$

Le biais relatif **%b** = $100*(427,5 - 425,0)/425,0 = 0,59\%$.

La variance relative du biais **RSD_{bias}²** = $RSD_{CRM}^2/n = (4,26)^2/12 = 1,51$.

Le biais relatif **%b** de 0,59% est considéré comme minime et peut être repris dans la formule pour le **%u_{bias}²** : $\%u_{bias}^2 = (0,59)^2 + 1,51 + (1,06)^2 = 2,98$.

6.4.2 Détermination de la justesse / du biais à partir de ring tests

Pour le calcul du biais, au moins 6 résultats de ring tests sont nécessaires pour obtenir un résultat suffisamment fiable.

Chaque ring test se caractérise ici par 3 paramètres : la valeur de consensus **C_{cons}** qui est donnée par l'organisateur, la valeur **x** que son propre laboratoire a obtenue et la reproductibilité **s_R** déduite du ring test. Le biais **%b** est alors estimé à partir des écarts entre la valeur de consensus et le résultat de son propre laboratoire.

La procédure est la suivante :

- déterminez pour chaque ring test i le biais relatif $\%b_i$ selon la formule

$$\%b_i = 100 * (x_i - C_{\text{cons}, i}) / C_{\text{cons}, i}$$

- calculez le carré moyen relatif (Mean Square) du biais $\%MS_{\text{bias}}$ selon la formule :

$$\%MS_{\text{bias}} = \Sigma \%b_i^2 / n$$

où n représente le nombre de ring tests.

- calculez, pour chaque ring test, l'incertitude relative liée à la valeur de consensus C_{cons} à partir de la reproductibilité du ring test RSD_R et du nombre de participants à ce ring test m :

$$\%u_{\text{cons}} = RSD_R / \sqrt{m}$$

- calculez l'incertitude relative moyenne liée à toutes les valeurs de consensus n selon la formule

$$\%u_{\text{ref}} = \Sigma \%u_{\text{cons}} / n$$

- la variance relative du biais, $\%u_{\text{bias}}^2$, est alors calculée comme suit :

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}} + \%u_{\text{ref}}^2$$

Exemple: on a participé à 7 ring tests avec les résultats suivants (C_{con} est la valeur de consensus indiquée dans le rapport de l'organisateur x notre propre résultat):

n°	C _{con} (mg/kg)	x	biais	%b	%b ²
1	1,05	1,10	0,05	4,76	22,68
2	2,23	2,18	-0,05	-2,24	5,03
3	1,48	1,54	0,06	4,05	16,44
4	1,66	1,65	-0,01	-0,60	0,36
5	2,46	2,50	0,04	1,63	2,64
6	2,03	1,99	-0,04	-1,97	3,88
7	1,88	1,95	0,07	3,72	13,86
Somme :					64,89

Le carré $\Sigma \%b^2$ est de 64,89; le carré moyen $\%MS_{\text{bias}} = 64,89/7 = 9,27$.

Maintenant, on doit calculer l'incertitude de chaque ring test sur la valeur de consensus C_{con} . A cet effet, on a besoin pour chaque ring test de s_R et du nombre de participants m (tous deux indiqués dans le rapport de l'organisateur):

n°	C _{con} (mg/kg)	s _R	m	RSD _R	RSD _R /√m
1	1,05	0,35	15	33,33	8,61
2	2,23	0,42	18	18,83	4,44
3	1,48	0,38	20	25,68	5,74
4	1,66	0,38	20	22,89	5,12
5	2,46	0,56	23	22,76	4,75
6	2,03	0,72	18	35,47	8,36
7	1,88	0,39	20	20,74	4,64
Moyenne = %u_{ref}:					5,95

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}} + \%u_{\text{ref}}^2 = 9,27 + (5,95)^2 = 44,67.$$

6.4.3 Détermination de la justesse / du biais à partir d'expériences de recouvrement

Les résultats d'expériences de recouvrement avec des échantillons dopés sont traités de manière analogue que dans le cas de ring tests, à la différence près que l'incertitude liée à la valeur dopée doit être calculée à l'aide d'une méthode bottom-up.

Pour le calcul du biais, au moins 6 résultats d'expériences de recouvrement sont nécessaires pour un obtenir résultat suffisamment fiable.

Attention : si des expériences sont effectuées à différents niveaux de concentration qui diffèrent fortement les uns des autres, il est alors préférable de calculer le biais pour chaque niveau séparément et de seulement examiner ensuite si une valeur moyenne peut être utilisée.

Chaque expérience de recouvrement se caractérise ici par 3 paramètres : la valeur du dopage $C_{\text{dopé}}$, l'incertitude liée à cette valeur et la valeur x de l'analyse. Le biais est alors estimé à partir des écarts entre la valeur du dopage et le résultat d'analyse.

La procédure est la suivante :

- déterminez le biais relatif $\%b_i$ de chaque expérience de recouvrement i selon la formule

$$\%b_i = 100 * (x_i - C_{\text{dopé}, i}) / C_{\text{dopé}, i}$$

- calculez le carré moyen relatif (Mean Square) du biais $\%MS_{\text{bias}}$ selon la formule :

$$\%MS_{\text{bias}} = \Sigma \%b_i^2 / n$$

où n représente le nombre d'expériences de recouvrement.

- en principe, $\%u_{\text{dopé}}^2$, l'incertitude liée au volume du dopage, et $\%u_{\text{Cref,dopé}}^2$, l'incertitude de la solution étalon avec laquelle on a effectué le dopage, doivent maintenant être déterminées. Ces deux composantes sont généralement petites par rapport à $\%MS_{\text{bias}}$ et peuvent alors être négligées, de sorte qu'il vaut alors

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}}$$

- Remarque : si les deux doivent être déterminées, cela s'effectue comme suit :
 - ⇒ pour chaque expérience de recouvrement, calculez $\%u_{\text{dopé}}^2$, l'incertitude relative liée au volume du dopage, à partir du biais du volume de pipette $\%u_p^2$ (l'écart systématique du volume de pipette, à déduire des spécifications du fabricant) et de la précision (la répétabilité) du pipetage en lui-même $\%u_v^2$:

$$\%u_{\text{dopé}}^2 = \%u_p^2 + \%u_v^2$$

- ⇒ calculez $\%u_{\text{Cref,dopé}}^2$, l'incertitude de la solution étalon avec laquelle on a réalisé le dopage, à partir du certificat du fournisseur,
- ⇒ la variance du biais, $\%u_{\text{bias}}^2$, est alors calculée comme suit :

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}} + \%u_{\text{dopé}}^2 + \%u_{\text{Cref,dopé}}^2$$

Exemple : on a procédé à une série de 7 expériences de recouvrement avec les résultats suivants (C_{belast} est la valeur du dopage (spike). x est notre propre résultat) :

nr.	$C_{\text{dopé}}$ (mg/kg)	x	bias	%b	%b ²
1	4,9	5,1	0,2	4,08	16,66
2	5,1	5,0	-0,1	-1,96	3,84
3	5,0	5,1	0,1	2,00	4,00
4	5,0	5,1	0,1	2,00	4,00
5	4,9	4,8	-0,1	-2,04	4,16
6	5,0	5,1	0,1	2,00	4,00
7	5,0	5,0	0,0	0,00	0,00
Somme :					36,67

Le carré $\Sigma\%b^2$ est de 36,67; le carré moyen $\%MS_{\text{bias}} = 36,67/7 = 5,24$.

Comme il s'agit d'une première série de tests, on ne sait pas encore quelles sont les valeurs de $\%u_{\text{dopé}}^2$ et de $\%u_{\text{Cref, dopé}}^2$ et si on peut les considérer comme négligeables. Dès lors, on doit les calculer avec la méthode bottom-up. A chaque expérience, on a utilisé la même pipette pour distribuer 5 ml. Le biais sur le volume de pipette u_p est de 0,05 ml et le pipetage proprement dit a une précision (écart-type) u_v de 0,02 ml.

On peut en déduire que le $\%u_p = 100 \cdot 0,05/5 = 1,0\%$ et le $\%u_v = 100 \cdot 0,02/5 = 0,4\%$. Il en résulte que le $\%u_{\text{dopé}}^2 = \%u_p^2 + \%u_v^2 = (1,0)^2 + (0,4)^2 = 1,16$.

Pour faire la solution avec laquelle ont été réalisées les expériences de recouvrement, on a utilisé une solution standard de 5,00 mg/kg, à propos de laquelle le certificat du fournisseur mentionne que l'incertitude la concernant (écart-type) est de 0,02 mg/kg. Il en résulte que le $\%u_{\text{Cref, dopé}} = 100 \cdot 0,02/5 = 0,40\%$ en $\%u_{\text{Cref, dopé}}^2 = (0,40)^2 = 0,16$.

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}} + \%u_{\text{dopé}}^2 + \%u_{\text{Cref, dopé}}^2 = 5,24 + 1,16 + 0,16 = 6,56.$$

Dans ce cas, le $\%u_{\text{dopé}}^2 + \%u_{\text{Cref, dopé}}^2 = 1,16 + 0,16 = 1,32$ n'est pas négligeable par rapport au $\%MS_{\text{bias}}$.

6.5 Calcul de l'incertitude de mesure élargie U

Pour le calcul de l'incertitude de mesure relative élargie $\%U$, la formule de base est :

$$\%U = 2\sqrt{(\%u_{\text{bias}}^2 + \%u_{\text{Rw}}^2)}.$$

où $\%u_{\text{bias}}^2$ a été déterminé au point 6.4 et $\%u_{\text{Rw}}^2$ au point 6.3.

Exemple : au point 6.3.2, on a trouvé pour le $\%u_{\text{Rw}}^2$ une valeur de 63,82, et au point 6.4.1 une valeur de 2,98 pour le $\%u_{\text{bias}}^2$.

L'incertitude de mesure relative élargie est alors de $\%U = 2\sqrt{(2,98 + 63,82)} = 16,35\%$ ou, si on arrondit, de 16%.

6.6 Incertitude de mesure à différentes concentrations

Calculez l'incertitude de mesure à des valeurs faibles, moyennes et élevées.

	Portée	Comment
faible	De LOQ à 0,5x norme	Rapportez l'incertitude au niveau LOQ comme une valeur absolue (= %U * LOQ/100)
moyen	De 0,5x norme à 1,5x norme	Rapportez comme une valeur absolue (= %U * valeur/100)
élevé	Au dessus de 1,5x norme	Rapportez en tant que valeur absolue (= %U * valeur/100)

S'il n'y a pas de norme, une même approche est suivie avec les données (3 niveaux de validation) du dossier de validation.

7 Contrôle du calcul

À l'aide du tableau ci-dessous, on peut vérifier si l'incertitude de mesure obtenue est réaliste :

Données à contrôler	L'incertitude de mesure
Imposé par les critères de prestation	$\%U < \max \text{ recovery} + 2 \times \text{RSD}_{\text{Rmax}}$
Études comparatives de méthodes ou de laboratoires (ne considérer que les laboratoires avec la même méthode)	N'est qu'exceptionnellement plus de 2 fois inférieur à la reproductibilité interlaboratoire pour cette méthode.
Une quelconque étude comparative de laboratoires	N'est qu'exceptionnellement très inférieur à la reproductibilité interlaboratoire obtenue.
Donnée de répétabilité ou données de duplos	Est exceptionnellement inférieur à $4.5 \times \text{RSD}_r$
Données de reproductibilité ou cartes de contrôle	Est exceptionnellement inférieur à $3 \times \text{RSD}_{\text{Rw}}$
Les z-scores lors d'intercomparaisons	<ul style="list-style-type: none"> La moyenne des z-scores est nulle et jamais supérieure à 2-3 : l'ordre de grandeur de l'incertitude de mesure est 2 x le RSD cible de l'organisateur. La moyenne des z-scores est significativement différente de zéro et régulièrement supérieure à 1 ou 2 : l'incertitude de mesure n'est jamais inférieure à 2 x le RSD cible de l'organisateur.
Données de qualification équipement critique, opérateurs	Est largement supérieur aux critères de répétabilité / reproductibilité posés.

8 Référence aux procédures, instructions, documents, formulaires ou listes y afférents.

- Template pour les calculs selon la procédure ci-dessus : LAB-P-508-Incertitude-de-mesure-v.01-annexe-F-001_2008-11-04_fr.xls
- Cours 'Détermination des incertitudes de mesure sur les analyses des denrées alimentaires et des aliments pour animaux', P. Vermaercke (05 et 07 septembre 2007)
- Nordtest Report TR 537.