

## 2. EXEMPLE N° 2

---

### 2.1. Objectif

Construction d'une droite du jour et acceptation sur la base des résultats obtenus par étalonnage inverse.

### 2.2. Les données

Le tableau 2.1 précise les données brutes pour l'exemple 2

**Tableau 2.1** : concentrations d'un analyte et réponse chromatographique

<b>Concentrations théoriques</b>	<b>Réponses chromatographiques</b>
0.10	0.27
0.15	0.41
0.25	0.86
0.50	2.25
1.25	5.12
2.50	9.72
5.0	19.67
10	44.32
20	84.63

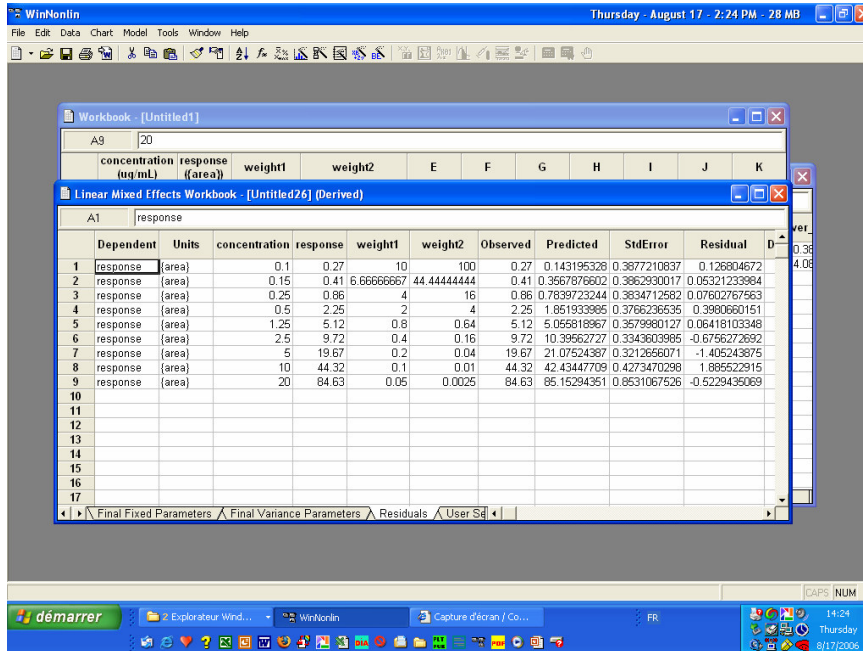
Nous allons comparer l'ajustement de ces données sans facteur de pondération et avec un facteur de pondération ( $1/X^2$ ).

L'équation de la droite obtenue sans pondération est :

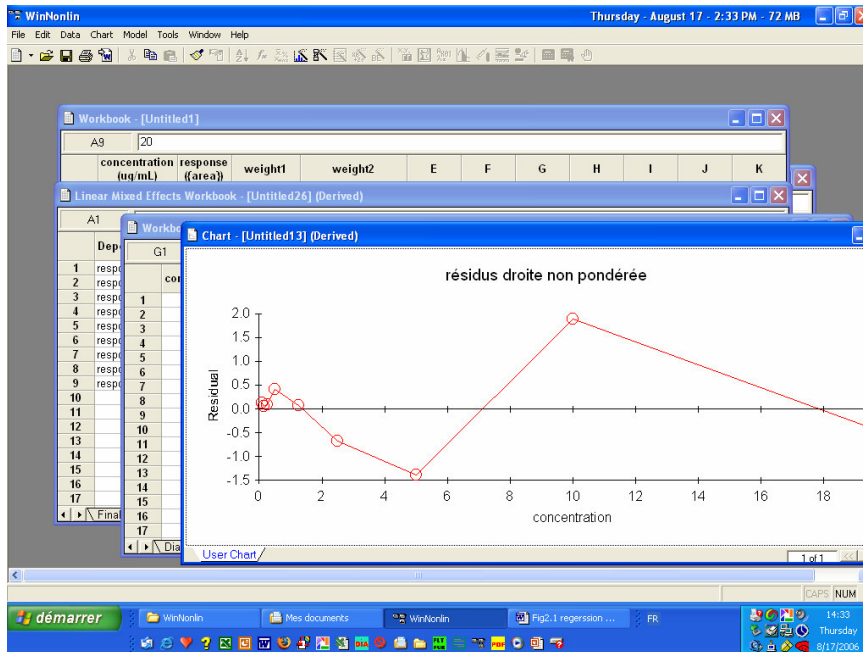
$$Y = 4.2718 X - 0.2840$$

Le tableau des valeurs ajustées et des résidus est donné dans la figure 2.1. L'inspection des résidus montre que tous les résidus sont positifs pour les petites concentrations et négatifs pour les grandes concentrations sauf pour la concentration de 10  $\mu\text{g/mL}$  (fig. 2.2).

**Figure 2.1 :** Tableau des valeurs ajustées et des résidus pour les données du tableau 2.1 ajustées avec un modèle de régression simple sans pondération.

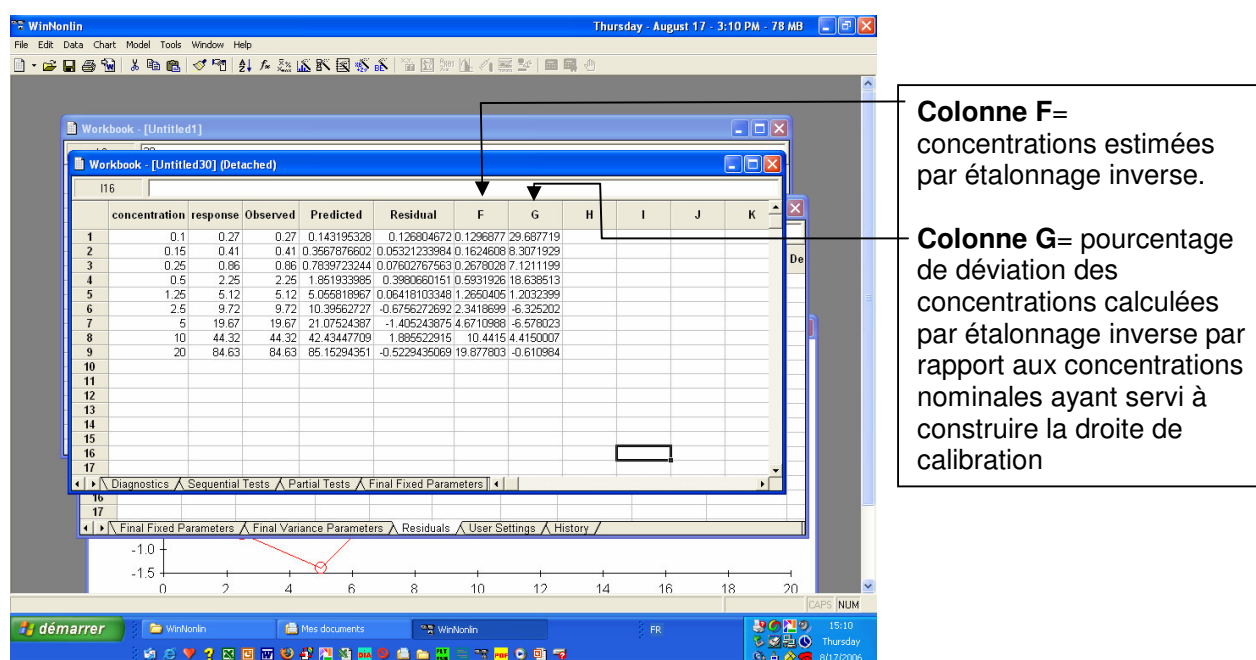


**Figure 2.2. :** résidus pour les données du tableau 2.1 ajustées avec un modèle de régression simple sans pondération. On notera que la répartition des résidus n'est pas aléatoire autour de la ligne d'ordonnée 0.



La figure 2.3 et le tableau 2.2 (voir page 27) donnent les concentrations calculées par étalonnage inverse. Il apparaît que le calcul par étalonnage inverse donne une valeur de 0.13 µg/mL pour la concentration nominale de 0.10 µg/mL ce qui représente une **déviaton de 29.7% considérée comme inacceptable**. Cette concentration ne pourrait pas être retenue comme LOQ.

**Figure 2.3** : concentrations calculées par étalonnage inverse (colonne F) et déviation en pourcentage par rapport aux valeurs nominales (colonne G). Il apparaît pour la concentration de 0.1 µg/mL que la valeur prédite présente une déviation de 29.7% ce qui est considéré comme inacceptable pour être retenu comme LOQ.



Nous allons ajuster ces mêmes données avec une pondération de  $1/X^2$ . L'ajustement est :

$$Y = 4.2325 X - 0.1708$$

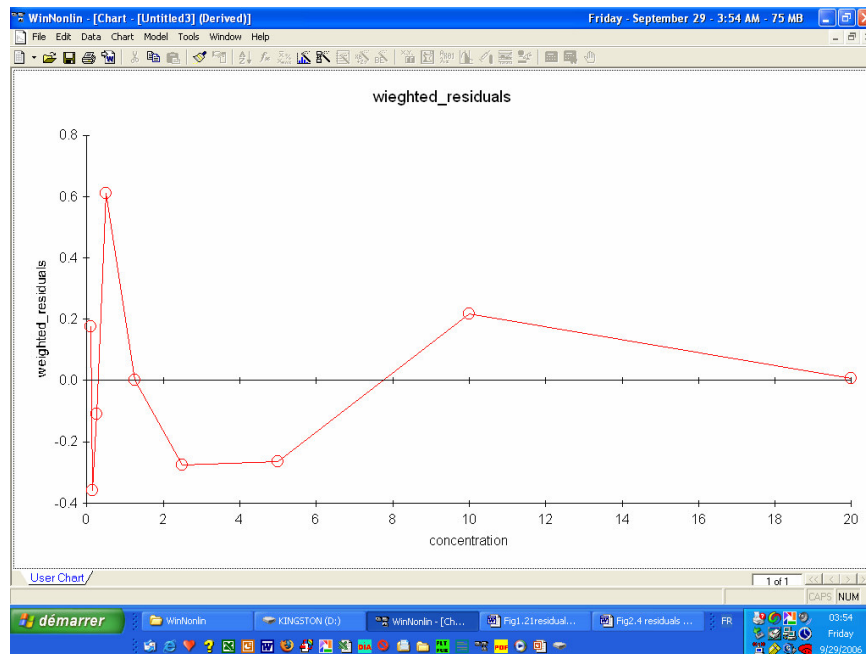
La figure 2.4 donne les résidus pondérés. Il apparaît que des résidus positifs alternent régulièrement avec des résidus négatifs. La figure 2.5 illustre la répartition des résidus.

La figure 2.6 et le tableau 2.2 donnent les concentrations estimées par étalonnage inverse et les déviations correspondantes. Il apparaît que toutes les concentrations présentent une déviation inférieure à 20%. C'est notamment le cas de la concentration 0.10 qui peut donc être retenue comme LOQ.

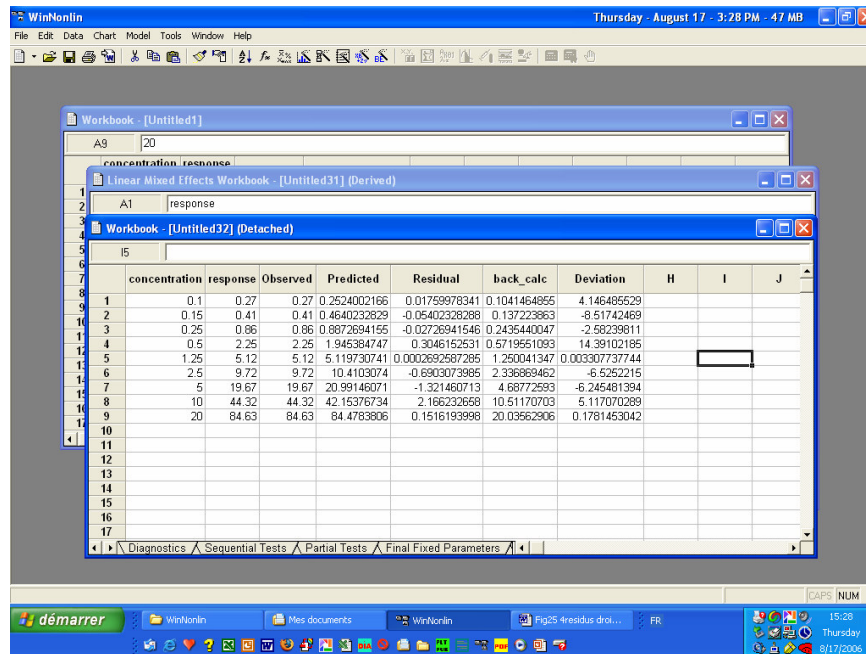
**Figure 2.4** : valeurs prédites et résidus pondérés (weighted\_residuals) obtenus en ajustant les données du tableau 2.1 avec une droite de régression pondérée par  $1/X^2$ . On notera l'alternance de résidus positifs et négatifs ce qui est désirable pour retenir un modèle de régression.

	Dependent	Units	concentration	response	Weight_1	Weight_2	Observed	Predicted	Residual	weighted_residuals	K	L
1	response	(area)	0.1	0.27	10	100	0.27	0.2524002166	-0.01759978341	0.1759978341		
2	response	(area)	0.15	0.41	6.66666667	44.44444444	0.41	0.4640232829	-0.05402328288	-0.3601552194		
3	response	(area)	0.25	0.86	4	16	0.86	0.8872694155	-0.02726941546	-0.1090776618		
4	response	(area)	0.5	2.25	2	4	2.25	1.945384747	0.3046152531	0.6092305052		
5	response	(area)	1.25	5.12	0.8	0.64	5.12	5.119730741	0.0002692587285	0.0002154089828		
6	response	(area)	2.5	9.72	0.4	0.16	9.72	10.4103074	-0.6903073885	-0.2761229584		
7	response	(area)	5	19.67	0.2	0.04	19.67	20.99148071	-1.321480713	-0.2642921426		
8	response	(area)	10	44.32	0.1	0.01	44.32	42.15376734	2.166232658	0.2166232658		
9	response	(area)	20	84.63	0.05	0.0025	84.63	84.4763006	0.1516193999	0.007500362999		

**Figure 2.5** : Inspection des résidus obtenus en ajustant les données du tableau 2.1 avec une droite de régression pondérée par  $1/X^2$ . On notera l'alternance de résidus positifs et négatifs ce qui est désirable pour retenir un modèle de régression.



**Figure 2.6** : concentrations calculées par étalonnage inverse avec la droite obtenue en ajustant les données du tableau 2.1 par une régression pondérée par  $1/X^2$ . On notera que les déviations sont toutes inférieures à 20%. La colonne "back\_calc" correspond aux concentrations recalculées par étalonnage inverse et la colonne *Deviation* aux pourcentages de déviation par rapport aux concentrations nominales.



Le tableau 2.2 donne les concentrations recalculées avec les deux droites. Son inspection montre que la droite non pondérée prévoit des concentrations qui s'éloignent de plus de 15% des valeurs nominales alors que les points recalculés avec la droite pondérée par  $1/X^2$  sont tous acceptables. De plus, l'exactitude est systématiquement meilleure pour tous les points, ce qui démontre l'intérêt de la pondération pour une droite d'étalonnage. Il est à noter que les coefficients de corrélation calculés pour les 2 ajustements sont différents. Ils sont respectivement de  $r=0.995$  pour la droite non-pondérée et  $r=0.9962$  pour la droite pondérée. Cela veut dire que la pondération diminue le coefficient de corrélation montrant bien que de coefficient de corrélation n'est pas à prendre en compte pour juger de la qualité d'un ajustement.

**Tableau 2.2.** : Concentrations de la gamme du tableau 2.1 recalculées par les droites de calibration obtenues sans pondération ou avec une pondération de  $1/X^2$ . On notera que la droite de calibration pondérée a une meilleure capacité à retrouver les concentrations nominales.

Concentrations théoriques	Réponses chromatographiques	Concentrations calculées avec la droite non pondérée	Déviations (%)	Concentrations calculées avec la droite pondérée par $1/X^2$	Déviations (%)
0.10	0.27	0.13	+29.7	0.104	+4.24
0.15	0.41	0.16	+8.3	0.137	-8.5
0.25	0.86	0.27	+7.1	0.244	-2.6
0.50	2.25	0.59	+18.6	0.572	+14.4
1.25	5.12	1.265	+1.2	1.25	0
2.50	9.72	2.34	-6.3	2.34	-6.5
5.0	19.67	4.67	-6.6	4.69	-6.2
10	44.32	10.44	+4.4	10.51	+5.1
20	84.63	19.88	-0.6	20.04	+0.2

### **2.3. Conclusion**

Sur la base d'arguments statistiques usuels (inspection de résidus) et en prenant en compte les valeurs recalculées, la droite pondérée peut être retenue pour réaliser les dosages du jour ; la décision finale de la garder ou de la rejeter se fera sur la base des résultats obtenus avec les QC (quality control) c'est-à-dire les tubes ajoutés à la gamme du jour et pour lesquels les concentrations nominales auront été validées (lors de l'essai de répétabilité/reproductibilité) ; si au moins 4 d'entre eux ont des concentrations prédites par cette droite dans la zone de tolérance ( $\pm 20\%$ ), on accepte la droite.

Elle sera rejetée si 2 des QC pour un niveau de concentration donné, sont en dehors des zones de tolérance.