

4. EXEMPLE N° 4

Essai de répétabilité et de reproductibilité : calculs à effectuer à la main pour comprendre la démarche générale.

4.1. Objectif

Le calcul de la répétabilité et de la reproductibilité implique des définitions claires de ces deux critères.

La **variance de répétabilité** est la plus petite variance que l'on puisse imaginer sur une série de dosages ; c'est donc la variance résiduelle ;

Elle est notée σ_r^2 .

La **variance de reproductibilité** (notée σ_R^2) est la somme de deux variances : la variance interjour (notée σ_j^2) et la variance de répétabilité (σ_r^2) d'où :

$$\sigma_R^2 = \sigma_j^2 + \sigma_r^2$$

Pour estimer ces variances nous allons procéder à une analyse de variance classique à un facteur (avec un facteur fixe qui est le jour).

Pour bien comprendre comment on estime σ_r^2 et σ_R^2 nous allons procéder à des calculs manuels (avec Excel); cela devrait permettre de comprendre (ou au moins sentir) les relations entre les variances que l'on cherche à estimer et les "mean squares" ou "carrés moyens" donnés par le listing de l'ANOVA. c'est à dire le Between Mean Square (BMS) (entre groupe pour Excel) et le Within Mean Square (WMS) (à l'intérieur du groupe pour Excel).

Remarquons dès maintenant que nous faisons une ANOVA, non pas pour savoir si les moyennes entre jours diffèrent de façon significative, (ce qui est l'objectif classique d'une ANOVA), mais uniquement pour estimer des variances dont l'estimation est nécessaire à celle de la répétabilité et de la reproductibilité.

Commençons par un exemple : soit les dosages d'un analyte, 3 jours de suite pour une concentration nominale de 10 µg/ml. Le tableau 4.1 donne les résultats.

Tableau 4.1 : Concentrations mesurées en vue de la mesure de répétabilité et de la reproductibilité d'une technique analytique.

Répétitions	JOURS		
	1	2	3
1	9.70	10.21	9.7
2	8.91	10.30	10.1
3	10.33	11.60	10.5
4	10.02	9.73	9.7
5	10.02	11.85	11.0
X	9.796	10.738	10.20
±SD	±0.54307	0.930897	0.556776
Variance	0.294925	0.866569	0.30999

Faisons l'hypothèse nulle que tous les dosages proviennent de la même population de moyenne μ et de variance σ^2 .

Nous avons trois possibilités pour estimer cette variance :

- (i) à partir de l'ensemble des 15 données.
- (ii) à partir de la moyenne des variances obtenues sur chacun des 3 jours de dosage.
- (iii) en considérant que les valeurs moyennes de la concentration obtenue à chaque dosage (9.796, 10.738, 10.20) peuvent donner une estimation de μ et que leur variance est égale à $\sigma^2/5$ car elles ont été obtenues avec 5 données.

Variance 1 :

Calculons $\bar{X} \pm SD$ des 15 données soit :

$$\bar{X} = 10.24466 \pm 0.76154$$

La variance est donc de $(0.76154)^2 = 0.57995$

Variance 1 = 0.57995

Variance 2 :

La moyenne des 3 variances est de (voir le tableau 4.1) :

$$[0.294925 + 0.86656 + 0.309999] / 3 = 0.49049$$

Variance 2 = 0.49049

Variance3 :

Calculons la $X \pm SD$ des 3 moyennes journalières soit :

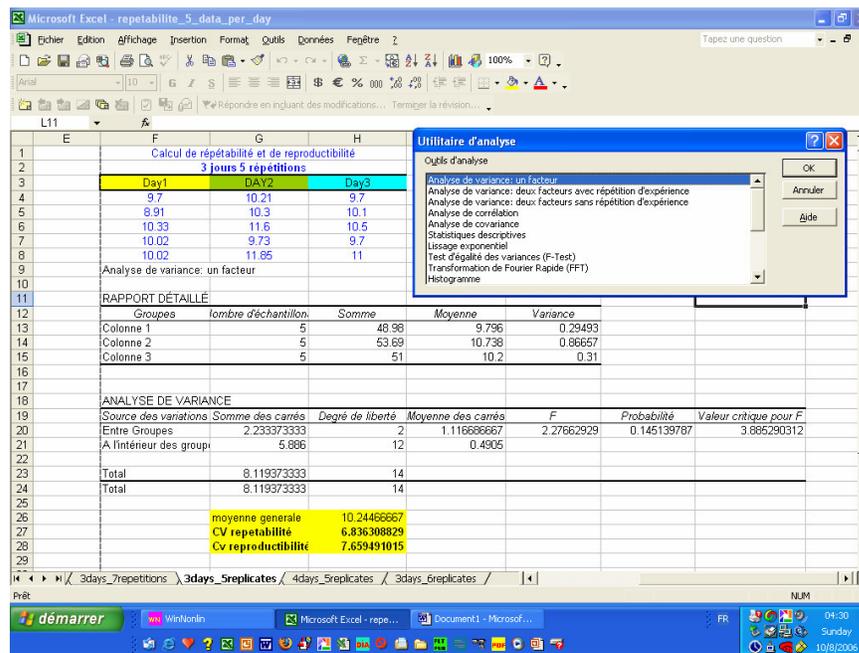
$$10.24466 \pm 0.47258$$

Soit une variance 3 de : $(0.47258)^2 \times 5 = 1.11668$

Variance 3 = 1.11668

Nous allons comparer ces variances à celles données par une ANOVA réalisée par Excel. Pour cela, il faut entrer les données comme indiqué sur la figure 4.1 avec les 3 colonnes de données, puis faire appel à l'élément dans Outil > Utilitaire d'analyse > Analyse de variance à 1 facteur, et faire l'ANOVA (fig. 4.1).

Figure 4.1 ANOVA



L'ANOVA donne une "somme de carré totale" égale à 8.1193. Cette somme des carrés divisée par le nombre de degrés de liberté (df = 14) donne 0.5799 c'est à dire la variance 1.

Le carré moyen à l'intérieur des groupes ou "Within group Mean Square" (WMS) est égal à 0.4905 soit la moyenne des 3 variances calculées sur chacun des 3 jours c'est à dire notre Variance 2.

Le carré moyen entre les groupes ou "Between group Mean Square" est égal à 1.116686, soit notre variance 3. Selon nos hypothèses, la BMS et la WMS estiment la même variance lorsqu'il n'y a pas d'effet jour (voir nos hypothèses).

Voyons maintenant le calcul de la répétabilité.

La répétabilité est l'aptitude à retrouver la même valeur (10 mg/ml) lors des 5 dosages effectués sur chacun des 3 jours. Nous avons eu 3 estimations de cette variance de répétabilité soit 0.294, 0.866 et 0.3099. Ces 3 variances sont homogènes (il conviendrait de faire un test d'homogénéité de variance). On peut donc estimer que la variance de répétabilité commune aux 3 jours de dosage est bien la moyenne de ces 3 variances, c'est à dire la Variance2 soit 0.4905, c'est à dire la WMS.

En pratique, on exprime cette variance de répétabilité par le coefficient de variation qui lui est associé, soit :

$$CV = (\sqrt{0.4905} / 10.244667) \times 100$$

$$CV = 6.836\%$$

La répétabilité évalue donc l'erreur expérimentale inéluctable de cette technique d'analyse.

S'il y avait une hétérogénéité des variances, on aurait à chercher une éventuelle valeur aberrante, avec le test de Dixon ; en absence de valeur aberrante, nous aurions à annoncer la répétabilité pour chacun des 3 jours.

Tableau 4.2. : Analyse avec Excel des données du tableau 4.1 (répétabilité, reproductibilité)

Analysis of variances					
Source of variation	Sum of squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
Between groups	2.2333733	2	1.1166867	2.277	.1451
Within groups	5.8860000	12	.4905000		
Total (corrected)	8.1193733	14			

Table of means

Level	Count	Average	Std.Error (internal)	Std.Error (pooled s)	95 percent intervals	Confidence for mean
1	5	9.796000	.2428703	.3132092	9.113400	10.478600
2	5	10.738000	.4163100	.3132092	10.055400	11.420600
3	5	10.200000	.2489980	.3132092	9.517400	10.882600
Total	15	10.244667	.1808314	.1808314	9.850567	10.638766

D'un jour à l'autre, la moyenne calculée peut varier légèrement mais nous admettons que notre répétabilité intrajour ne varie pas. Cela veut dire qu'il y a un effet jour potentiel sur nos résultats moyens (c'est à dire 9.796. 10.738 et 10.20).

Cette variabilité due à l'effet jour doit être évaluée. Cela peut être réalisé en prenant en compte la BMS = 1.11668.

En effet, ce carré moyen estime une variance qui est la somme de deux composantes indépendantes : une variance liée à la variabilité interjour et une variance liée à la variabilité intrajour, cette dernière ayant déjà été évaluée à partir de la WMS.

Puisque la variance de la moyenne de n observations est 1/n fois la variance des valeurs individuelles, on peut écrire :

$$E(BMS) = n \times \sigma_j^2 + \sigma_r^2$$

C'est à dire que l'espérance de la BMS est la somme de la variance résiduelle (WMS) et de 5 fois la variance interjour. Si il n'y a pas d'effet jour (moyenne j1 = moyenne j2 = moyenne j3), alors E (BMS) est une autre estimation non biaisée de la variance résiduelle (pour plus d'information, voir Winner 3^{ème} éd., page 86 et suivantes).

Pour notre exemple, la variance entre jour est de :

$$(BMS - WMS) / 5$$

$$\text{soit } (1.11668862 - 0.4905) / 5 = 0.12523$$

C'est à dire non nulle.

Nous allons donc la prendre en compte pour le calcul de la variance de reproductibilité : σ_R^2 avec :

$$\sigma_R^2 = \sigma_r^2 + \sigma_j^2 = 0.4905 + 0.12523$$

$$\text{soit } \sigma_R^2 = 0.6157$$

Cette variance est exprimée sous la forme d'un coefficient de variation :

$$CV = \left(\sqrt{\sigma_R^2} / \bar{X} \right) \times 100$$

$$CV = \left(\sqrt{0.6157} / 10.2446 \right) \times 100 = 7.66\%$$

Pour terminer, j'en profite pour rappeler le test de F dont la mise en oeuvre est l'objectif le plus fréquent d'une ANOVA ; s'il n'y a pas d'effet Jour la BMS et la WMS permettent de calculer deux estimations de la même variance dont le rapport doit être égal à 1 (ou peu différent de 1). C'est le principe du test de F. S'il y a un effet jour significatif, la variance issue de la BMS est par définition plus grande que celle de la WMS puisqu'elle inclue l'effet jour plus l'effet résiduel. A ce titre, le rapport des carrés moyens de BMS et WMS sera significativement différent de 1.