

5. EXEMPLE N°5

Essai de répétabilité et de reproductibilité. Analyse d'un essai avec trois niveaux de concentrations.

5.1. Généralités

La précision ou fidélité mesure le degré d'homogénéité des quantités trouvées.

Le plan expérimental classique pour une mesure de répétabilité et de reproductibilité fait appel à la mesure de 3 niveaux de concentrations (bas, moyen, élevé), et pour 3 jours différents.

Les concentrations mesurées seront celles des QC qui ont été préparés pour l'ensemble de l'essai de routine.

Si un seul analyste doit participer aux essais de routine, la reproductibilité se limitera à évaluer l'effet jour. Si plusieurs analystes doivent intervenir dans les dosages de routine, il faudra évaluer également l'effet analyste.

Le tableau 5.1 présente une série de données obtenues dans un essai de répétabilité/reproductibilité.

L'analyse de répétabilité se réalise par niveau de concentration.

Commençons par le niveau 0.5 µg/ml. On réalise une ANOVA à 1 facteur (facteur jour) pour les 3 séries de concentrations à 0.5 µg/ml.

Le tableau 5.2 précise les résultats de l'ANOVA avec un carré moyen résiduel (within group) de 0.0004764 et un carré moyen "between groups" de 0.0052475.

La variance de répétabilité (σ^2_r) est estimée par la résiduelle.

Le test de Cochran indiquant que les variances sont homogènes ($p = 0.10$) ; cela permet de calculer l'écart-type de répétabilité pour la concentration 0.5 µg/ml à partir du carré moyen résiduel :

$$Sr = \sqrt{0.0004764} = 0.021826 \mu\text{g} / \text{ml}$$

Tableau 5.1. : Concentrations obtenues lors d'un essai de répétabilité / reproductibilité. Les concentrations nominales testées sont de 0.5, 5 et 20 µg/mL.

Répétitions	JOURS								
	1			2			3		
	0.5	5	20	0.5	5	20	0.5	5	20
1	0.5012	5.174	21.65	0.4100	5.120	19.773	0.5080	4.750	17.960
2	0.5012	5.105	20.20	0.4760	5.186	22.860	0.5230	5.115	19.099
3	0.5150	5.118	20.75	0.4980	5.223	20.640	0.5450	5.212	20.216
4	0.5012	4.904	20.78	0.4690	5.326	21.823	0.5230	5.189	20.216
5	0.5150	4.973	21.03	0.4830	5.253	21.654	0.493	5.122	20.357
6	0.4943	5.001	19.71	0.4540	5.495	22.588	0.5450	5.137	19.479
\bar{X}	0.5046	5.046	20.69	0.4650	5.267	21.556	0.5228	5.087	19.554
SD	0.0084	0.102	0.671	0.0306	0.131	1.172	0.02046	0.1698	0.9246
CV(%)	1.675	2.03	3.25	6.59	2.48	5.43	3.91	3.34	4.73
Exactitude (%)	101.0	100.9	103.4	93.0	105.3	107.8	104.6	100.2	97.8

Tableau 5.2 : impression correspondante au tableau 5.1. de l'essai de répétabilité / reproductibilité

Jour 1

Level	Sample size	Average	Std deviation	CV
0.5	6	0.50465	0.00845	1.67457
5	6	5.04583	0.10253	2.03207
20	6	20.6867	0.67072	3.24229

Jour 2

Level	Sample size	Average	Std deviation	CV
0.5	6	0.46500	0.03065	6.59062
5	6	5.26717	0.13097	2.48655
20	6	21.5563	1.17171	5.43555

Jour 3

Level	Sample size	Average	Std deviation	CV
0.5	6	0.52283	0.02046	3.91308
5	6	5.08750	0.16977	3.33696
20	6	19.5545	0.92464	4.72852

Tableau 5.3 : ANOVA pour la concentration nominale de 0.5 µg/mL de l'essai de répétabilité / reproductibilité

Analysis of variances					
Source of variation	Sum of squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
Between groups	.0104949	2	.0052475	11.015	.0011
Within groups	.0071459	15	.0004764		
Total (corrected)	.0176408	17			

Table of means

Level	Count	Average	Std.Error (internal)	Std.Error (pooled s)	95 percent intervals	Confidence for mean
1	6	.5046500	.0034500	.0089106	.4856527	.5236473
2	6	.4650000	.0125113	.0089106	.4460027	.4839973
3	6	.5228333	.0083523	.0089106	.5038361	.5418306
Total	18	.4974944	.0051445	.0051445	.4865264	.5084625

et le coefficient de variation (CV) de répétabilité :

$$CV = (0.0218 / 0.497) \times 100 = 4.39\%$$

La "Between Mean Square" donne une estimation de la somme de la variance interjour (σ_j^2) et de la variance intrajour (σ_r^2). Cette dernière est également estimée par la "within group" ; en conséquence, la variance interjour peut être estimée à :

$$S_j^2 = (0.0052475 - 0.0004764) / 6 = 0.000795$$

Par définition, la variance de reproductibilité (σ_R^2) est de :

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

Elle est estimée à :

$$\sigma_R^2 = 0.000795 + 0.0004764 = 0.001271$$

et l'écart type de reproductibilité de S_R .

$$S_R = \sqrt{0.001271} = 0.03566 \mu\text{g} / \text{ml}$$

et le coefficient de variation de reproductibilité

$$CV \text{ reproductibilité} = (0.03566 / 0.49749) \times 100 = 7.17 \%$$

Le tableau 5.4 récapitule les résultats pour les 3 niveaux de concentration.

Tableau 5.4 : Répétabilité et reproductibilité calculées à partir des données du tableau 5.1

	Concentrations nominales ($\mu\text{g/mL}$)		
	0.5	5	20
Ecart-type de répétabilité (S_r)	0.021826	0.1372	0.9447
CV de répétabilité (%)	4.39	2.67	4.386
Ecart-type de reproductibilité (S_R)	0.03566	0.17182	1.3234
CV de reproductibilité (%)	7.17	3.347	6.425

On ne manquera pas de remarquer qu'à l'issue de l'ANOVA, un test de comparaison multiple indique le caractère significatif des différences interjour.

Ex : pour la concentration 0.5 µg/mL, le jour 2 (0.465 ng/ml) est significativement différent des jours 1 (0.504) et 3 (0.5228). Cela n'a aucune importance biologique et la décision finale sera faite sur la base des CV de répétabilité et de reproductibilité.

Au cas où les variances seraient hétérogènes, il conviendrait de rechercher une éventuelle valeur aberrante (test de Dixon). De même si les effectifs (ici $n = 6$) différaient d'un jour à l'autre, les calculs pour la variance inter-jour seraient différents il faudrait se rapporter à la norme ISO 5725.