

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

LIMITES DE DÉCISION POUR LA QUANTIFICATION CONFIRMATOIRE DE SUBSTANCES À SEUIL

Introduction

Ce document technique doit être appliqué à la détermination quantitative d'une Substance à seuil dans un Échantillon avec une attention particulière aux limites de décision (LD) qui doivent être appliquées afin de déterminer si le résultat est un *Résultat d'analyse anormal*. Il décrit aussi comment se servir des données de l'incertitude de mesure (IM) pour établir de telles LD.

La mesure d'une Substance à seuil dans un Échantillon devra être rapportée comme *Résultat d'analyse anormal* quand le niveau (exprimé en tant que concentration ou rapport de valeurs mesurées analytiquement) excède, avec un niveau de confiance approprié (95%), le seuil pour cette Substance interdite (ou rapport de substances) tel qu'il est défini par l'AMA.

Le présent document énonce les conditions pour les points suivants :

1. Niveaux maximaux d'IM;
2. Calcul de la LD pour les Substances à seuil;
3. Rapports.

Un guide supplémentaire se trouve dans l'Annexe 1, y compris :

- Comment estimer l'IM;
- Le développement et la validation des méthodes;
- La vérification de l'IM par un Laboratoire.

1. Niveaux maximaux d'incertitude de mesure

À partir des résultats d'épreuves pertinentes du Système d'évaluation externe de la qualité, des valeurs maximales acceptables d'incertitude standard combinée ($u_{c \text{ Max}}$) pour les résultats de procédures mises en œuvre pour déterminer des Substances à seuil spécifiques ont été établies et la LD à appliquer pour chaque Substance à seuil (Tableau 1) a été calculée.

Sur cette base, l' $u_{c \text{ Max}}$ pour chaque Substance à seuil représente l'exigence minimale à laquelle un Laboratoire doit se conformer pour l'incertitude de mesure, estimée à la concentration seuil (en unités/mL), pour rapporter un résultat à une Substance à seuil. Le but est de fixer les valeurs cibles d'IM de façon à ce qu'un Laboratoire puisse s'attendre à les respecter quand il met en œuvre une procédure pour la détermination de Substances à seuil au cours de son travail de routine.

Les résultats d'épreuves récentes du Système d'évaluation externe de la qualité de l'AMA indiquent que ces exigences minimales sont prudentes. Quand les valeurs cibles sont fixées, on présume que le nombre de degrés de liberté associés avec les données d'IM est élevé.

Les Laboratoires doivent avoir pour chaque Procédure de confirmation de Substances à seuil une incertitude standard combinée (u_c) associée à un résultat au seuil n'excédant pas la valeur de l' $u_{c \text{ Max}}$ indiquée dans le Tableau 1, qui est déterminée en utilisant l'estimation de la reproductibilité de la méthode, calculée à partir des

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

résultats du Système d'évaluation externe de la qualité de l'AMA. L'Annexe 1 décrit différentes approches pour obtenir des estimations adéquates de l'incertitude standard combinée (u_c) associée avec les résultats d'une certaine procédure de mesure.

Tableau 1

Substance à seuil	Seuil (S)	Incertain standard combinée max. ($u_{c\ Max}$) à S		Limite de Décision (LD) ^a
		Absolue	Relative (%)	
19-Norandrostérone	2,0 ng/mL ^b	0,3 ng/mL	15	2,5 ng/mL ^b
Carboxy-THC ^d	15 ng/mL	1,5 ng/mL	10	18 ng/mL
Epitestostérone	200 ng/mL ^b	20 ng/mL	10	240 ng/mL ^b
Salbutamol ^{c,h}	1,0 µg/mL ^f	0,1 µg/mL	10	1,2 µg/mL
Morphine ^{c,g}	1,0 µg/mL ^f	0,1 µg/mL	10	1,2 µg/mL
Cathine ^{c,e}	5,0 µg/mL	0,5 µg/mL	10	6,0 µg/mL
Ephédrine ^c	10 µg/mL	0,5 µg/mL	5	11 µg/mL
Méthyléphédrine ^c	10 µg/mL	0,5 µg/mL	5	11 µg/mL
Pseudoéphédrine ^c	150 µg/mL	7,5 µg/mL	5	170 µg/mL

- La LD rapportée correspond à S plus une bande de garde de $1,645 \cdot u_{c\ Max}$, arrondie au chiffre supérieur avec 2 chiffres significatifs. La bande de garde correspond à une IM élargie correspondant à un intervalle de couverture de $> 95\%$ ($U_{95\%}$) pour un résultat à la concentration seuil sur la base d'une distribution unilatérale.
- Pour les Substances à seuil endogènes, quand la gravité spécifique (GS) de l'*Échantillon* est supérieure à 1,020, la bande de garde (représentée par la différence entre la valeur de la LD et la valeur de S) doit être ajoutée au S ajusté en fonction de la GS afin de déterminer la LD pour un résultat d'analyse individuel.
- Si cette Substance à seuil exogène est détectée à des niveaux inférieurs à la LD en conjonction avec un diurétique ou autre agent masquant interdit (d'après la *Liste des interdictions*), les deux substances doivent être confirmées et rapportées par le Laboratoire comme *Résultat d'analyse anormal*.
- Acide 11-nor-delta 9-tétrahydrocannabinol-9-carboxylique
- La cathine à une concentration urinaire supérieure au seuil constitue un *Résultat d'analyse anormal* sauf s'il a été déterminé que ce résultat est dû à l'administration de la pseudoéphédrine.
- La concentration seuil est basée sur la somme des concentrations du composé glucuroconjugué (exprimée en concentration équivalente de sa forme libre) et de sa forme libre.
- La morphine à une concentration urinaire supérieure à la LD constitue un *Résultat d'analyse anormal*, sauf s'il a été déterminé que ce résultat est dû à l'administration d'une substance autorisée telle que la codéine.
- Le salbutamol doit être rapporté seulement s'il est détecté à une concentration supérieure à la LD.

Note : Pour l'hormone de croissance (hGH), les valeurs applicables de $u_{c\ Max}$ et les limites de décision correspondantes seront spécifiées dans les Lignes directrices de l'AMA pour l'application des immunoessais différentiels des isoformes pour la détection de l'hormone de croissance (hGH) dans les analyses de dopage.

Comme il a été signalé ci-dessus, les valeurs IM maximales exigées sont considérées comme étant prudentes et sont calculées à partir de résultats récents du Système d'évaluation externe de la qualité. Des valeurs d'IM plus faibles peuvent être rapportées par les Laboratoires.

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

Le *Standard international* pour les Laboratoires (SIL)¹ exige que les résultats quantitatifs des Procédures de confirmation soient basés sur la moyenne de trois déterminations indépendantes. L'écart type relatif qui en découle doit être compatible avec les données de validation. L'incertitude de mesure de la procédure du Laboratoire pour la mesure doit assurer un *Résultat d'analyse anormal* dans les cas où la moyenne des données obtenues est supérieure à la LD correspondante dans le Tableau 1.

2. Calcul des limites de décision pour les Substances à seuil

Quand un seuil (S) a été établi pour une *Substance interdite*, la limite de décision (LD) est la valeur du résultat pour cette *Substance interdite* dans un *Échantillon* donné, obtenue par une procédure de mesure validée, valeur au-dessus de laquelle on peut décider que S a été excédé avec une confiance statistique d'au moins 95%, et donc qu'un *Résultat d'analyse anormal* est justifié. Ceci est illustré dans la Figure 1.

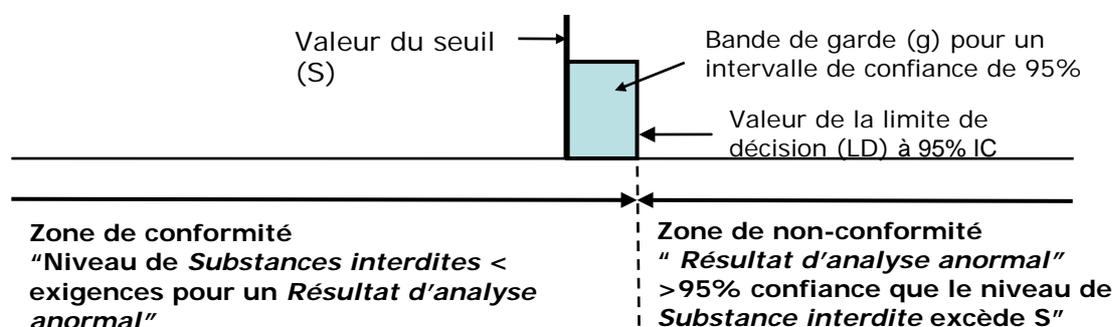


Figure 1 : Emploi de la bande de garde (g) pour établir une limite de décision par rapport au seuil et pour différencier les zones de conformité et de non-conformité.

La valeur LD doit être calculée comme étant la somme de la valeur de S et de la bande de garde (g), avec (g) calculée sur la base de la valeur pertinente (en unités/mL) maximale acceptable pour l'AMA de l'incertitude standard combinée ($u_{c\ Max}$) indiquée dans le Tableau 1, avec un facteur de couverture k de 1,645 (intervalle de couverture 95%, distribution unilatérale).

$$LD = S + g, \text{ et}$$

$$g = k \times u_{c\ Max}, \text{ avec } k = 1,645$$

$$\text{Résultat d'analyse anormal} > LD$$

Quand la valeur déterminée pour un *Échantillon* est supérieure à S, mais inférieure à la LD, ceci peut être rapporté (par exemple pour information dans la section opinion du rapport d'analyse) mais ceci ne constitue pas un *Résultat d'analyse anormal* quel que soit le niveau d'IM que le Laboratoire rapporte pour le résultat.

Note: La règle concernant la décision de conformité, qui est applicable aux analyses mises en œuvre pour la quantification des Substances à seuil endogènes, pour lesquelles la ou les Limites de décision ont été établies sur la base de statistiques obtenues pour une population de référence (par exemple par immunoessais différentiels pour la détection de l'hGH), ne requièrent pas l'inclusion d'une bande de garde puisque l'incertitude a déjà été incorporée dans le seuil.

¹ Code mondial antidopage Standard international pour les Laboratoires ver. 6.0 – Agence mondiale antidopage

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

3. Rapports

3.1 Rapport d'analyse

Dans le rapport d'analyse pour un *Résultat d'analyse anormal*, sont exigés au minimum la concentration (avec unités) déterminée par la procédure de mesure de confirmation validée et accréditée du Laboratoire, et l'incertitude standard combinée (u_c) associée avec un résultat au seuil obtenu par cette procédure. Le rapport d'analyse doit également comprendre la LD pour la Substance à seuil.

Pour être conforme aux exigences de l'AMA pour rapporter un *Résultat d'analyse anormal* pour une Substance à seuil, il suffit de fournir les informations décrites ci-dessus. Toutefois, il est reconnu qu'une pratique courante est aussi de rapporter le résultat en tant que valeur observée avec l'incertitude de mesure élargie qui lui est associée, obtenue en multipliant l'incertitude standard combinée (u_c) du résultat par un facteur de couverture (k) de 2. Cette incertitude élargie ($U_{95\%}$) est équivalente à l'intervalle de couverture de 95% pour la valeur vraie de l'analyte dans l'*Échantillon*, basée sur une distribution normale bilatérale.

Exemple de rapport d'analyse:

L'analyse de l'*Échantillon* identifié ci-dessus a montré la présence d'une *Substance interdite W* à une concentration de X (unités), qui est supérieure à la LD de Y (unités). L'incertitude standard combinée (u_c) estimée par le Laboratoire au seuil est de 'a' (unités). Ceci constitue un *Résultat d'analyse anormal*.

3.2 Documentation du Laboratoire

La Documentation du Laboratoire devra comprendre les éléments d'information suivants :

- La concentration/le rapport à laquelle/auquel la *Substance interdite* a été détectée dans l'*Échantillon* (avec unités);
- Les S et LD applicables de l'AMA, indiqués dans le Tableau 1. Si un ajustement en fonction de la GS est nécessaire, la GS de l'*Échantillon*, le S ajusté et la LD qui en résulte doivent être spécifiés;
- L'incertitude standard combinée (u_c) estimée par le Laboratoire au S (avec unités) et l' $u_{c\ Max}$ correspondante, indiquée dans le Tableau 1;
- L'incertitude de mesure élargie ($U_{95\%}$) équivalente à l'intervalle de couverture de 95% ($k = 2$) pour la valeur vraie de l'analyte.

Exemple de rapport pour la Documentation du Laboratoire :

La Substance interdite W est présente à X (unités), ce qui excède la limite de décision Y (unités) pour W fixée par l'AMA, déterminée par une méthode pour laquelle l'incertitude de mesure standard combinée (u_c) d'un résultat au seuil pour W (Z unités) est de 'a' (unités) $\leq u_{c\ Max}$ ('b' unités). Ceci respecte les conditions pour un *Résultat d'analyse anormal* tel qu'il est défini par l'AMA.

L'incertitude de mesure élargie ($U_{95\%}$) équivalente à un intervalle de couverture de 95% ($k = 2$) pour la valeur vraie de l'analyte est de 'c' (unités).

Exemple d'interprétation :

L'éphédrine est détectée dans un *Échantillon* à une concentration de 11,2 µg/mL par une procédure de mesure qui a été validée comme ayant une incertitude standard combinée de 0,36 µg/mL (3,6% relative) pour un résultat au seuil de 10 µg/mL. La concentration d'éphédrine observée est supérieure à la LD pertinente de 11 µg/mL et a été déterminée par une méthode pour laquelle $u_c \leq u_{c\ Max}$ pour l'éphédrine ($u_{c\ Max} = 0,5$ µg/mL pour un *Échantillon* contenant de l'éphédrine à 10 µg/mL). Ceci constitue un *Résultat d'analyse anormal*.

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

Dans l'exemple ci-dessus, l'incertitude de mesure standard combinée relative (u_c) d'un résultat individuel est supposée être constante pour des résultats proches du seuil, et l' u_c pour un résultat observé de 11,2 µg/mL équivalent à une incertitude standard combinée relative of 3,6% est de 0,4 µg/mL et donc l'incertitude de mesure élargie ($U_{95\%}$) est de 0,8 µg/mL avec $k = 2$. L'éphédrine présente dans l'*Échantillon* est donc rapportée à 11,2 ± 0,8 µg/mL, ce qui indique avec un niveau de confiance de 95% que la valeur vraie pour l'éphédrine dans l'*Échantillon* est dans l'intervalle de 10,4 – 12,0 µg/mL.

Il est possible que le niveau d'une *Substance interdite* dans un *Échantillon*, déterminé par une méthode dont l'incertitude standard combinée relative des résultats individuels est équivalente au maximum permis dans le Tableau 1, quand le résultat observé dépasse modérément la LD, puisse conduire à rapporter une incertitude élargie, basée sur un intervalle de confiance de 95% et une distribution bilatérale ($U_{95\%}$, $k = 2$) pour la *Substance interdite*, qui s'étend légèrement en dessous du seuil. Il est important de noter que même dans cette situation, le résultat ne doit pas invalider un *Résultat d'analyse anormal*. Une analyse statistique unilatérale appropriée confirme que dans ce cas, le résultat observé est concordant, avec un niveau de confiance supérieur à 95%, avec une quantité de *Substance interdite* dans l'*Échantillon* qui dépasse le seuil.

ANNEXE 1

1. Estimation de l'incertitude de mesure (IM)

L'International Vocabulary of Metrology (ISO/IEC Guide 99:2007)² définit formellement l'IM comme un paramètre caractérisant la dispersion des valeurs quantitatives attribuées à un mesurande.

En termes plus simples, l'incertitude de mesure standard combinée d'un résultat [$u_c(y)$] est équivalente à une estimation de l'écart type associé avec le résultat (y) obtenu pour l'*Échantillon* analysé. La multiplication de $u_c(y)$ par un facteur de couverture (k) donne l'incertitude de mesure élargie (U) associée au résultat (y). Pour un *Échantillon* donné, la combinaison du résultat (y) et de son U associée donne un intervalle de couverture dans lequel on s'attend à trouver la valeur vraie pour l'échantillon, au niveau de couverture indiqué. Pour la plupart des applications des analyses de dopage, une *valeur de U* correspondant à un intervalle de couverture de 95% représente l'exigence minimale pour rapporter des résultats.

Pour être accrédités au ISO/CEI 17025³, ainsi que conformes au SIL², les Laboratoires doivent évaluer l'IM associée avec leurs résultats et rapporter l'incertitude où cela est indiqué. La recommandation du standard ISO/CEI 17025 est d'estimer l'IM par une approche concordante avec les principes décrits dans le ISO/IEC Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM)⁴.

² ISO/IEC Guide 99:2007 International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM) (<http://www.bipm.org/en/publications/guides/vim.html>)

³ ISO/IEC 17025:2005 *General Requirements for the competence of testing and calibration Laboratories*

⁴ ISO/IEC Guide 98-3:2008 *Evaluation of Measurement Data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)* (<http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>)

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

Les exigences minimales applicables à toute approche pour estimer l'IM pour des résultats d'analyse quantitatifs sont les suivantes :

- une évaluation complète de l'incertitude prenant en compte toutes les sources pertinentes d'erreur de mesure;
- les incertitudes dues à des effets aléatoires et systématiques doivent être traitées de la même façon, c'est-à-dire exprimées et combinées en tant que variances des distributions de probabilité associées;
- l'évaluation de l'incertitude effectuée par analyse statistique de résultats de mesure (Type A) ou par d'autres techniques, basées sur d'autres éléments d'information (Type B), sont reconnues comme étant aussi valide l'une que l'autre; et
- les incertitudes associées avec les résultats finaux doivent être exprimées soit en tant qu'écart types (incertitude standard, u_c) ou en tant que multiple d'écart types (incertitude élargie, U) avec un facteur numérique spécifié (facteur de couverture).

Les exemples cités dans le GUM se concentrent sur une méthode, appelée ailleurs approche « analytique », « modélisation » ou « ascendante » (« bottom-up »), pour l'évaluation de l'incertitude. Les principes de base du GUM permettent aussi des approches plus globales pour estimer les sources d'IM, approches qu'on appelle généralement descendantes (« top-down ») ou « empiriques », et qui exploitent des résultats de validation de méthode intra- ou interlaboratoires, de contrôles internes de qualité ou du Système d'évaluation externe de la qualité. Ces approches sont toutes éventuellement conformes aux principes du GUM pourvu que les exigences minimales indiquées ci-dessus soient adéquatement envisagées (mais pas nécessairement d'une façon exhaustive) et que l'estimation de l'IM soit appropriée pour le but de la mesure. Diverses références sont disponibles qui contiennent des exemples détaillés des deux approches, ascendante (« bottom-up ») et descendante (« top-down »), pour l'estimation de l'IM⁵⁻⁶.

Quatre approches séparées, applicables à l'estimation de l'incertitude de mesure standard combinée $u_c(y)$ associée avec un résultat individuel (y) sont décrites en détail ci-après. Elles utilisent, respectivement :

- A. une modélisation basée sur les principes décrits dans le GUM;
- B. des données de validation de méthode intralaboratoire combinées avec des données de contrôle de qualité;
- C. des données provenant de comparaisons interlaboratoires;
- D. des données provenant du Système d'évaluation externe de la qualité.

⁵ Eurolab Technical Report No. 1/2007 Measurement Uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation.
(http://www.eurolab.org/docs/technical%20report/Technical_Report_Measurement_Uncertainty_2007.pdf)

⁶ NORDTEST Technical Report 537 (2004) Handbook for calculation of incertitude de mesure in Environmental Laboratoires (<http://www.dach-gmbh.de/DACHDok/Messunsicherheit/Nordtest%20Messunsicherheit.pdf>)

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

Il n'est pas obligatoire que la stratégie mise en œuvre pour estimer l'incertitude suive exclusivement un modèle et en pratique on peut combiner des données obtenues par deux ou plus de deux approches différentes.

Toutes ces approches sont conformes au GUM et sont considérées comme acceptables. Un Laboratoire peut mettre en œuvre n'importe laquelle de ces approches pour estimer l'IM associée avec ses résultats de mesures, pourvu que l'estimation du Laboratoire n'excède pas les niveaux (cibles) maximaux acceptables d'IM associés avec la détermination de Substances à seuil spécifiques qui ont été établis par l'AMA. Ces niveaux maximaux acceptables d'IM sont des estimations prudentes basées sur les données du Système d'évaluation externe de la qualité performance.

A. Approche « modélisation »

Dans ce cas, le laboratoire développe une équation pour la mesure ou le modèle dans lequel le résultat (y) est une fonction de paramètres d'entrée indépendants $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ qui influencent tous les résultats de la mesure.

Si le modèle mathématique est une combinaison d'opérations d'addition/soustraction et de multiplication/division, une combinaison quadratique appropriée est utilisée pour calculer l'incertitude de mesure standard combinée $u_c(y)$. Cette approche s'appelle aussi approche ascendante (« bottom-up ») ou « GUM ».

Si l'équation est de la forme :

$$y = x_1 \pm x_2 \dots \pm x_n$$

l' $u_c(y)$ associée au résultat est :

$$u_c(y) = \sqrt{u(x_1)^2 + u(x_2)^2 \dots + u(x_n)^2}$$

Si l'équation est de la forme :

$$y = x_1 * x_2 * x_3 \dots * x_n \quad \text{ou} \quad y = \frac{x_1}{x_2 * x_3 \dots * x_n}$$

l' $u_c(y)$ associée au résultat est :

$$u_c(y) = y * \sqrt{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^2 + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^2 \dots + \left(\frac{u(x_n)}{x_n}\right)^2}$$

NOTE : Le budget d'incertitude déduit par cette approche indique la grandeur relative des diverses sources d'incertitude, mais on risque de ne pas remarquer un facteur qui pourrait contribuer à l'estimation globale de l'IM et l'affecter d'une façon importante. Toutefois, c'est une démarche utile pour trouver les sources majeures d'incertitude dans une procédure analytique et pour voir où concentrer les efforts pour réduire l'IM globale des résultats obtenus par la méthode.

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

B. Approche basée sur les données intralaboratoire

Cette approche présume que la méthode a été validée au sein du Laboratoire, y compris une estimation de la reproductibilité intralaboratoire (qui s'appelle aussi précision intermédiaire ou imprécision). Elle est basée sur un modèle de mesure à trois composantes :

$$y = m + B + e$$

Le résultat (y) est la somme dans des conditions de répétabilité de la moyenne (m) de la méthode de mesure, d'une estimation du biais de la méthode (B) et de la contribution d'erreurs aléatoires (e), et l'incertitude de mesure standard combinée $u_c(y)$ associée avec le résultat est la suivante :

$$u_c(y) = \sqrt{u(m)^2 + u(B)^2 + u(e)^2}$$

L'estimation de la reproductibilité intralaboratoire ou précision intermédiaire des résultats, normalement obtenue à partir de résultats de contrôles internes de qualité et de données de validation de la méthode, peut être exprimée en tant qu'écart type (s_w). Ceci donne une estimation adéquate de la contribution à l'incertitude des termes $u(m)$ et $u(e)$ et des composantes visibles (« internally visible ») du biais (B_{Int}).

$$(s_w \cong \sqrt{u(m)^2 + u(e)^2 + u(B_{Int})^2})$$

Si (y) est le résultat d'une seule analyse, l'équation pour calculer l'incertitude standard associée avec le résultat se simplifie pour donner :

$$u_c(y) = \sqrt{s_w^2 + u(B_{Ext})^2}$$

où B_{Ext} est une estimation du biais qui n'a pas été prise en compte par les études intralaboratoires.

(y) est la moyenne des analyses de n parties aliquotes :

$$u_c(y) = \sqrt{\frac{s_w^2}{n} + u(B_{Ext})^2}$$

Note : Quand cette approche est mise en œuvre d'une façon appropriée, tout comme les autres approches empiriques, elle est aussi valide que l'approche par modélisation, et devrait fournir une estimation prudente, mais pragmatique de l'IM.

C. Approche « performance de la méthode » basée sur une comparaison interlaboratoire

Quand un Laboratoire a participé à une comparaison interlaboratoires pour tester une méthode standard, ou a démontré une mise en œuvre appropriée d'une méthode publiée et validée par une telle approche, l'écart type interlaboratoire de la méthode (s_R) calculé à partir des résultats de la comparaison peut être utilisé pour estimer l'incertitude standard combinée d'un résultat individuel obtenu par la méthode :

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

$$u_c(y) = \frac{s_R}{\sqrt{n}} \quad (y \text{ est la moyenne des analyses de } n \text{ répétées})$$

Cette approche est applicable, en pratique, seulement quand une étude de validation comprend une comparaison multicentre, interlaboratoire effectuée en suivant un protocole expérimental défini à l'avance.

Note : Les sources majeures de variabilité peuvent être évaluées par des comparaisons interlaboratoires et elles peuvent fournir des estimations d'écart type (s_r) de répétabilité, reproductibilité (s_R) et biais (b) de la méthode (par rapport à une valeur de référence connue). La reproductibilité peut servir d'estimation de l'incertitude standard combinée (u_c) associée avec un résultat de mesure individuel obtenu par cette méthode.

D. Approche basée sur le Système d'évaluation externe de la qualité

Les résultats d'épreuves d'un Système d'évaluation externe de la qualité permettent, dans certains cas, de calculer une caractéristique de la performance de l'ensemble des méthodes mises en œuvre par les participants qui peut servir, en l'absence de comparaison interlaboratoire correctement constituée, d'estimation prudente de la reproductibilité (s_R) de la méthode employée par un Laboratoire individuel. C'est surtout dans ce dernier sens que le terme s_R est employé dans le présent document. Cette estimation est valide seulement si :

- les valeurs rapportées par les participants de l'épreuve du Système d'évaluation externe de la qualité (après avoir exclus les valeurs aberrantes) sont comprises dans une distribution normale de Gauss;
- la répétabilité intralaboratoire (s_r) pour la méthode est faible par rapport à la variation des résultats des participants;
- les contributions à l'incertitude de la part de l'instabilité ou de l'hétérogénéité de l'échantillon du Système d'évaluation externe de la qualité sont négligeables;
- les matrices utilisées correspondent de près à celles rencontrées dans les conditions d'analyse de routine (autrement dit, des matrices « représentatives » sont utilisées pour préparer les matériels du Système d'évaluation externe de la qualité).

Dans ce cas, l'écart type des résultats des participants après avoir exclu les valeurs aberrantes peut servir d'estimation de l'incertitude de mesure standard combinée (u_c) associée avec un résultat *obtenu* par la méthode⁵. Cette valeur peut alors être appliquée de la façon décrite pour l'estimation du s_R dans la section 1.C ci-dessus.

Note : Comme il est noté dans la section 1.C, l'estimation de la reproductibilité (s_R) peut servir d'estimation prudente de l'IM standard combinée associée avec un résultat ($s_R \approx u_c$). De plus, un Laboratoire peut, grâce à sa participation au Système d'évaluation externe de la qualité de l'AMA, vérifier et démontrer la validité de l'approche qu'il choisit pour évaluer l'incertitude (voir Section 3).

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

2. DÉVELOPPEMENT DE MÉTHODES ET VALIDATION

Les Laboratoires doivent mettre en œuvre une procédure validée, qui, lorsque l'IM à un niveau de couverture de 95% (calculée à la concentration ou au rapport seuil) est prise en compte, assure un *Résultat d'analyse anormal* ou *atypique* quand la concentration moyenne/le rapport moyen est égal(e) ou supérieur(e) à la concentration/au rapport seuil².

Au cours du développement de la méthode, avant de la valider, un Laboratoire devrait considérer tous les aspects de la procédure et identifier les caractéristiques critiques de performance qui doivent être optimisées pour assurer que l'incertitude d'un résultat obtenu par la méthode va respecter les critères énoncés par l'AMA.

La validation est essentielle pour l'application d'une procédure analytique et pour l'accréditation ISO/CEI 17025 (2005) du Laboratoire. Les caractéristiques de performance établies au cours du processus de validation peuvent servir de base pour estimer l'IM associée avec les résultats obtenus par la méthode.

Des descriptions plus détaillées des principes généraux concernant la validation des méthodes sont disponibles dans divers guides⁷ et ne seront pas décrites en détail. Les caractéristiques indiquées ci-après (Tableau 2, Colonne 1) sont présentées comme exemple des aspects minimaux extraits des données de validation qui devraient être pris en compte au cours de tout processus de validation de méthode pour estimer l'incertitude standard combinée. Le besoin d'entreprendre une estimation de l'IM en mettant en œuvre l'approche composante-par-composante de l'ISO n'est pas nécessaire si les autres types de données sont disponibles et utilisées pour estimer l'incertitude. Puisque les méthodes employées doivent être validées, l'approche suivante est préconisée.

Caractéristique de la méthode	- Source des données
Calibration	<ul style="list-style-type: none"> - De 50% à au moins 200% de la concentration seuil dans l'urine (au moins 5 points de calibration sur la gamme linéaire étudiée et l'analyse d'au moins quatre parties aliquotes par point de calibration sont recommandés) - 2 solutions-mères préparées individuellement et 2 séries de dilutions à partir de chacune - Régression par la méthode des moindres carrés de la réponse en fonction de la concentration pour calculer le coefficient de régression de la méthode sur cette gamme
Répétabilité	- Au moins 10 répétitions d'un ou de plusieurs échantillons appropriés de MRC/CQ ou d'urine/sang (sérum, plasma) « dopés » à une concentration ou un rapport connus au seuil ou près du seuil. Les

⁷ Eurachem Guide (1998) Fitness for Purpose of Analytical Methods
<http://www.eurachem.org/guides/mval.htm>

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

	solutions doivent être analysées par le même opérateur et équipement, dans le même <u>Laboratoire</u> au cours d'une période brève. L'écart type des résultats est la répétabilité de la méthode (s_r) à cette concentration.
Précision intermédiaire	<ul style="list-style-type: none"> - Au moins 10 solutions d'essai préparées individuellement, préférablement à partir d'urine/sang (sérum, plasma) témoin, ou un ou plusieurs échantillons de MRC ou de CQ à une concentration ou un rapport proche du seuil. Analysés dans le même <u>Laboratoire</u> des jours différents, (si possible) par différents opérateurs et différents équipements. L'écart type des résultats est l'estimation de la précision intermédiaire (s_w) pour la méthode à cette concentration.
Taux de récupération	<ul style="list-style-type: none"> - Déterminer la différence ou biais de la méthode (Δ_i) entre la valeur mesurée moyenne pour les résultats obtenus en analysant un échantillon pertinent de MRC, CQ ou matrice dopée et les valeurs de référence pour ces échantillons. - Si des données provenant de n déterminations séparées du biais sont disponibles, calculer la valeur moyenne quadratique du biais (RMS_{bias}). - Si le RMS_{bias} sert à estimer l'incertitude standard de mesure des résultats obtenus par la méthode, une contribution due à l'incertitude associée aux valeurs de référence utilisées pour établir le biais de la méthode doit également être comprise.^{5,6}
Robustesse	<ul style="list-style-type: none"> - Le cas échéant, estimer l'influence de paramètres (surtout les variations de matrice) qui sont difficiles à étudier au cours d'études de validation de base.

Dans les cas où l'on considère que le processus de validation de la méthode a pris en compte les effets de tous les paramètres pertinents, une estimation adéquate de l'incertitude standard combinée $u_c(y)$ pour un résultat individuel (y) peut normalement être obtenue par combinaison quadratique de la valeur de la précision intermédiaire (s_w) et l'estimation de l'incertitude du biais.

Incertaince combinée	$u_c = \sqrt{s_w^2 + RMS_{bias}^2}$
Incertaince élargie	$U_{95\%} = k \times u_c \text{ (k=2)}^*$

* L'AMA a déterminé que l'emploi d'un facteur de couverture de $k=2$ (pour une distribution bilatérale) qui établit une incertitude élargie U associée avec un résultat (y) à un niveau de couverture d'environ 95% est approprié pour les contrôles de dopage.

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

Si la procédure va être employée sur une large gamme de concentration, ce qui n'est typiquement pas le cas pour les analyses de dopage, l'incertitude des résultats obtenus par la méthode devrait être déterminée à trois niveaux de concentration (bas, moyen et haut). Pour les larges gammes de concentration il n'est pas inhabituel de trouver que les incertitudes relatives pour les résultats individuels décroissent à mesure que la concentration de l'analyte dans l'échantillon augmente ; toutefois, pour évaluer une violation des règles antidopage, il suffit de se concentrer sur l'incertitude associée avec la performance de la méthode à la concentration seuil.

Un exemple d'estimation de l'incertitude d'une procédure pour la détermination du carboxy-THC est décrit dans l'Annexe 2.

Après avoir établi l'incertitude élargie U associée avec les résultats obtenus par sa méthode, un Laboratoire doit régulièrement (c'est-à-dire pour chaque analyse pour une Substance à seuil) analyser un échantillon témoin à une concentration égale au seuil ou proche du seuil (contenant de préférence l'analyte considéré à une concentration égale au seuil ou proche du seuil, si possible) et enregistrer les valeurs obtenues, de préférence sur une carte de contrôle¹¹ montrant les limites d'acceptabilité basées sur les données de validation, afin d'assurer la validité des valeurs obtenues et de suivre les tendances.

Un exemple du processus, tel qu'il est appliqué à une analyse pour l'environnement, a été publié⁶, et il illustre comment se servir de la combinaison de la validation intralaboratoire, des données de contrôle de qualité et d'une estimation du biais obtenue à partir d'une participation régulière à un Système d'évaluation externe de la qualité pour estimer l'IM associée avec des résultats à des concentrations définies.

3. VÉRIFICATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE

Pour certains rapports, une approche similaire à celle décrite ci-dessus est applicable mais il faut prendre en compte les incertitudes combinées des valeurs obtenues pour les deux analytes dans le calcul de l'incertitude élargie, U .

Quelle que soit l'approche utilisée par un Laboratoire pour estimer l'IM pour les résultats qu'il obtient par une certaine procédure analytique, il est important de valider cette estimation de l'IM et de suivre sa véracité en continu. Ceci peut se faire par comparaison régulière avec un échantillon témoin approprié, de préférence un Matériel de référence certifié (MRC), si possible, et/ou par évaluation de la performance de la méthode sur la base de données du Système d'évaluation externe de la qualité.

L'IM estimée par un Laboratoire pour une certaine procédure analytique peut aussi être vérifiée par comparaison avec les résultats d'un Système d'évaluation externe de la qualité approprié en se servant de E_n ⁵.

$$E_n = \frac{x - x_a}{\sqrt{U(x)^2 + U(x_a)^2}}$$

où x_a est la valeur fixée pour l'épreuve du Système d'évaluation externe de la qualité, x est le résultat du Laboratoire, et $U(x_a)$ et $U(x)$ sont les incertitudes élargies associées avec chaque résultat, respectivement. On considère que quand $|E_n|$ est :

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

- Proche de un (1) : l'IM est estimée correctement pourvu qu'elle soit inférieure à l'IM maximale acceptable exigée par l'AMA;
- Inférieure à un (1) d'une façon répétée : l'IM est alors probablement surestimée. Ceci pourrait demeurer acceptable pourvu que l'IM rapportée soit inférieure à l'IM cible (incertitude maximale permise). Toutefois, l'IM pour cette procédure analytique en particulier devrait être ré-évaluée;
- Supérieure à one (1) d'une façon répétée : l'IM est probablement sous-estimée et dans ce cas la raison pour laquelle la valeur E_n est élevée devrait être ré-évaluée. Si nécessaire, des mesures devraient être prises pour ré-évaluer l'IM.

Chaque fois qu'il y a un changement dans la procédure analytique (étape d'extraction, conditions de dérivatisation, étalon interne, etc.) il faut re-valider la procédure et ré-évaluer l'IM des résultats obtenus par la procédure modifiée.

Il faut vérifier que la procédure analytique demeure adéquate (par exemple, vérifier que l'IM estimée par le Laboratoire pour une certaine procédure analytique est inférieure à l'IM maximale acceptable indiquée dans le Tableau 1 ci-dessus).

4. Références

1. TD2009MRPL World Anti-doping Agency
2. The World Anti-Doping Code International Standard Laboratories ver. 6.0 - World Anti-Doping Agency – Montreal, Canada – 2009
3. ISO/IEC Guide 99:2007 *International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM)*
(<http://www.bipm.org/en/publications/guides/vim.html>)
4. ISO/IEC 17025:2005 *General Requirements for the competence of testing and calibration Laboratoires*
5. ISO/IEC Guide 98-3:2008 *Evaluation of Measurement Data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*
(<http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>)
6. Eurolab Technical Report No. 1/2007 Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation.
(http://www.eurolab.org/docs/technical%20report/Technical_Report_Measurement_Uncertainty_2007.pdf)
7. NORDTEST Technical Report 537 (2004) Handbook for calculation of measurement uncertainty in Environmental Laboratories (<http://www.dach-gmbh.de/DACHDok/Messunsicherheit/Nordtest%20Messunsicherheit.pdf>)
8. Eurachem Guide (1998) Fitness for Purpose of Analytical Methods
(<http://www.eurachem.org/guides/mval.htm>)
9. ISO/TS 21748:2004 *Guide to the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation*
10. Eurachem/CITAC CG 4 (2000) Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement
(<http://www.eurachem.org/guides/quam.htm>)
11. Eurachem/CITAC (2007) Use of uncertainty information in compliance assessment
(<http://www.eurachem.org/guides/compliance.htm>).

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

ANNEXE 2

Exemple : Incertitude de la détermination du carboxy-THC dans l'urine à la concentration seuil

1. Détermination de l'incertitude de mesure

Description	Valeur	Incertitude standard $u(x)$	Incertitude standard relative $u(x)$ %
Précision intermédiaire	1,0	0,0659	6,59
Taux de récupération (biais)	0,98	0,0374	3,82
Autres sources - Homogénéité - Étalon de référence		sans objet négligeable	

- Incertitude standard combinée

$$= \sqrt{6,592^2 + 3,82^2}$$

$$= 7,6 \%$$

- Incertitude élargie ($k=2$)

$$= 15,2 \% \text{ or } 2,3 \text{ ng/mL}$$

2. AUTRES SOURCES D'INCERTITUDE

Toutes les balances et dispositifs de mesure volumétriques sont sous contrôle régulier de routine. Des études de précision et de taux de récupération tiennent compte de l'influence de la calibration des différents dispositifs de mesure volumétriques. La pureté de l'étalon de référence est grande et l'incertitude associée est si faible par rapport à la précision qu'elle est négligeable.

3. RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE

- Solution étalon : Carboxy-THC 100 µg/ml dans le méthanol;
- Références de calibration : préparées à partir de la solution étalon aux concentrations suivantes 5, 10, 20, 30, 45 et 60 ng/mL dans l'urine;
- Échantillon témoin : préparé à partir de la solution étalon pour donner une concentration finale de 15 ng/mL dans l'urine;
- Solution d'étalon interne : acide 11-nor- Δ^9 -tétrahydrocannabinol-9-carboxylique à une concentration de 0,5 µg/mL.

Document technique de l'AMA– TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

A. Préparation d'échantillons témoins, d'étalons de calibration et d'Echantillons

2,0 mL urine à pH 7



50 µL β-glucuronidase (*E. coli*) 55 °C pour 1 h

20 µL (androstérone-D₄-glucuronide / D₅-étiocholanolone)



100 µL solution étalon interne

3 mL hexane:éthylacetate (9:1 v/v); mélanger 5 minutes

Extraire 2x

Recueillir portion organique. Évaporer à sec



50 µL réactif de dérivation à 65 °C pour 30 minutes



CPG/SM

B. - Séquence d'injections

Blanc réactif

Urine négative

Échantillon – 1^{ère} aliquote

Échantillon – 2^e aliquote

Échantillon – 3^e aliquote

Urine négative

Calibration 5 ng/mL

Calibration 10 ng/mL

Calibration 20 ng/mL

Urine négative

Calibration 30 ng/mL

Calibration 45 ng/mL

Calibration 60 ng/mL

Urine négative

Échantillon témoin – 1st aliquote

Échantillon témoin – 2nd aliquote

Échantillon témoin – 3rd aliquote

C. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

- Coefficient de corrélation supérieur à 0,99;
- Au niveau de confiance de 95%, l'ordonnée du point correspondant à une concentration nulle, extrapolée sur le graphe de calibration, ne doit pas être significativement différente de zéro;
- Le facteur « F » de l'analyse de régression linéaire doit être supérieur à la valeur la plus basse obtenue au cours de la validation;

Document technique de l'AMA – TD2010LD-FR

Document n° :	TD2010LD-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Comité Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	8 mai 2010	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} septembre 2010

- Le résultat pour l'échantillon témoin doit être compris dans l'intervalle défini pour la valeur théorique ($\pm 2,3$ ng/mL) et l'écart type relatif doit être inférieur à 5 pour cent;
- La répétabilité de la moyenne du résultat ($n = 3$) pour les échantillons est inférieure à 5 pour cent (RSD).