

Biotechnologies Terminale STL

Thématique D – Bilan sanguin et urinaire pré-opératoire

AT D8 - Utilisation du logiciel Calc

Vocabulaire: tableur, courbe d'étalonnage, coefficient R², fonction PREVISION

CONTEXTE: Au laboratoire d'analyses médicales, de nombreux dosages reposent sur un principe colorimétrique. Le dosage contre étalon unique est fréquent mais la réalisation de courbes d'étalonnage (avec étalons multiples) reste le moyen le plus sûr de vérifier la linéarité d'une méthode. Plusieurs solutions étalon de concentration croissante et connues sont préparées et traitées par le même réactif. Après transfert en cuves et passage au spectrophotomètre, les indications de mesure peuvent être exploitées dans un tableur.

PARTIE 1: TRACE D'UNE COURBE D'ETALONNAGE

Voici deux séries de résultats obtenues lors de deux dosages différents :

SERIE 1

Réactif : Cholestérol RTU	Gamme : solution étalon de cholestérol					Sérum du Essai 1	patient X Essai 2	
Concentration massique en cholestérol (g.L ⁻¹)	0	0,500	1,000	1,500	2,000	2,500		
Absorbance à 505 nm	0	0,126	0,249	0,371	0,493	0,622	0,336	0,352

SERIE 2

Réactif : Gornall	Tube 0	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Contrôle	Sérum du patient Y
n _{albumine} (µmol)	0	0,100	0,200	0,300	0,400		
A560 nm	0	0,489	0,994	1,473	1,968	1,269	1,006

V prise d'essai contrôle et sérum = 200 μ L; Malbumine = 65 000 g/mol; y_{ref albumine : contrôle} = 83,1 \pm 0,9 g/L.

- T1. Ouvrir un fichier dans le tableur "Calc".
- T2. Créer deux feuilles et les nommer "série 1" et "série 2".
- **T3.** Dans la première feuille, recopier les valeurs numériques du premier tableau et faire de même dans la deuxième feuille avec les valeurs numériques du deuxième tableau.
- **T4.** Enregistrer votre fichier sous le nom "D8 + prénom de l'élève".
- **T5.** Tracer les courbes $A = f(\rho_{cholestérol})$ et $A560 = f(n_{albumine})$ à l'aide du **document 1**.
- Q1. Ecrire sur la copie le titre complet de chacune des courbes.
- Q2. Reproduire et compléter le tableau ci-dessous :

	Série 1	Série 2
Equation de la droite de régression (a = mettre 3 chiffres		
significatifs, b = mettre 4 chiffres significatifs)		
Coefficient de détermination R ² (mettre 5 chiffres significatifs)		

Q3. Préciser si les courbes obtenues sont idéales ou si des points aberrants doivent être retirés.

PARTIE 2: DETERMINATION DE VALEURS INCONNUES

Dans la série 1, les valeurs inconnues sont les concentrations massiques en cholestérol des deux essais ρ_{E1} et ρ_{E2} . Dans la série 2, les valeurs inconnues sont : la quantité d'albumine dans la solution de contrôle $n_{alb\,;\,cont}\,;\,$ la quantité d'albumine dans le sérum du patient Y $n_{alb\,,\,sérum\,Y}.$

T6. Déterminer à l'aide du logiciel les valeurs inconnues pour chaque dosage. Utiliser la fonction «PREVISION» ou les calculer à l'aide de l'équation de la droite (**document 2**).

Q4. Compléter les tableaux ci-dessous :

		Sérum du patient X Essai 1 Essai 2				
Pcholestérol		<mark>ρε1 =</mark>		<mark>ρε2 =</mark>		
(unité)					

	Contrôle	Sérum du patient Y
n _{alb}	n _{alb; cont} =	n _{alb; sérum Y} =
(unité)		

Q5. Poursuivre l'exploitation des résultats à l'aide du **document 3** et en tenant compte des informations du tableau ci-dessous à compléter.

Données : utiliser l'équation aux grandeurs : $\rho = m/V$ pour la série 2.

	SERIE 1	SERIE 2
Acceptabilité	Pas d'étalon de contrôle (validation des résultats par la compatibilité des deux essais)	
Compatibilité	$s_r = 0.08 \text{ g/L}$	Pas de double essai (validation des résultats par l'acceptabilité de l'étalon de contrôle)
Expression du résultat final	Avec $u_c = 0.14 \text{ g/L}$	Avec $u_c = 1.6 \text{ g/L}$
	Avec $u_c = 0.22 \text{ g/L}$	Avec $u_c = 2.4 \text{ g/L}$

PARTIE 3: ELIMINATION DE POINTS ABERRANTS

Prenons une autre série de résultats obtenus avec le dosage du cholestérol (série 1) :

Réactif : Cholestérol RTU	Gamme : solution étalon de cholestérol					
Concentration massique en cholestérol (g.L ⁻¹)	0	0,500	1,000	1,500	2,000	2,500
Absorbance à 505 nm	0	0,109	0,237	0,438	0,491	0,604

- T7. Créer une troisième feuille notée "série 3" et y copier les valeurs du tableau ci-dessus.
- **T8.** Tracer la courbe de tendance associée à la série de points et afficher l'équation de la droite ainsi que le coefficient de détermination.
- **T9.** Eliminer le ou les points aberrants afin de permettre un alignement optimal ($R^2 \ge 0.99$).
- **T10.** Calculer dans le tableur la concentration en cholestérol d'un étalon de contrôle de qualité interne (CIQ) utilisé en laboratoire d'analyses médicales pour valider la méthode de dosage et dont l'absorbance mesurée à 505 nm est de 0,403. Effectuer le calcul avant puis après l'élimination des points aberrants.

Q6. Reproduire le tableau ci-dessous :

	Courbe brute (avant élimination de points aberrants	Après élimination de point(s) aberrant(s)
Équation de la droite de régression		
Valeur du coefficient de détermination (5 chiffres signif.)		
ρ cιQ (g.L ⁻¹)		

Q7. Conclure sachant que l'intervalle d'acceptabilité pour la solution de contrôle CIQ est compris entre 1,63 et 1,67 g.L⁻¹.

Remettre au professeur le compte-rendu avec les questions Q1 à Q7 ainsi que le document Calc ou Excel avec les différentes courbes tracées.

DOCUMENT 1: TUTORIEL LOGICIEL CALC®

- Ouvrir le logiciel Calc (équivalent du logiciel Excel sous openoffice®).
- Ecrire dans un tableau, en respectant la présentation, la série de points obtenue lors du dosage.

C ou ρ ou n ou m				
Absorbance				

- Enregistrer le fichier.
- Sélectionner tous les points du tableau puis dans l'onglet supérieur « insertion », cliquer sur "diagramme" puis dans type de diagramme, sélectionner « XY dispersion », cliquer sur suivant puis sélectionner "série de données en lignes", cliquer sur "terminer" : un graphique apparaît.
- Cliquer droit sur un des points du graphique et choisir « insérer une courbe de tendance », type « linéaire » et cocher parmi les options les deux cases situées en bas du menu déroulant :
 - o Afficher l'équation sur le graphique
 - Afficher le coefficient de détermination (R²).
- Utiliser l'onglet supérieur « insertion » pour mettre un titre au graphique et aux axes.

DOCUMENT 2: FONCTIONS DU LOGICIEL POUR L'EXPLOITATION DES RESULTATS

Il existe sous Calc ou (excel) des fonctions qui permettent :

- De calculer le coefficient directeur de la droite (a) : dans une case vide, écrire « pente », puis dans la case du dessous, écrire la formule =PENTE(y connus; x connus). Arrondir le résultat en utilisant la formule =ARRONDI(valeur; nombre de chiffres après la virgule) de façon à obtenir le même nombre de chiffres significatifs que l'équation figurant sur le graphique.
- <u>De calculer l'ordonnée à l'origine de la droite (b) :</u> dans une case vide, écrire ordonnée origine, puis dans la case du dessous, écrire la formule **=ORDONNEE.ORIGINE(y connus ; x connus).** Arrondir si besoin.

DOCUMENT 3: EXTRAIT DE L'AIDE-MEMOIRE DE METROLOGIE

1.1 Vérification de l'exactitude de mesure à l'aide d'un étalon de contrôle

On dispose d'un étalon de contrôle avec sa valeur conventionnelle (y_{ref}) ainsi que ses limites d'acceptabilité (L_{inf} et L_{sup}). On recherche si la valeur mesurée (y_{EC}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit : $L_{inf} \le y_{EC} \le L_{sup}$

Si la valeur mesurée y_{EC} appartient à l'intervalle d'acceptabilité :

- la valeur mesurée y_{EC} est exacte, donc conforme : l'exécution de la procédure de mesure est satisfaisante dans les conditions du jour;
- en conséquence, les valeurs mesurées obtenues pour les échantillons inconnus dans la même série sont acceptées.

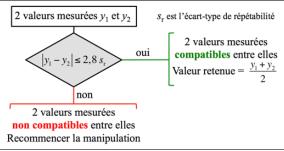


Si la valeur mesurée y_{EC} n'appartient pas à l'intervalle d'acceptabilité :

- la valeur mesurée n'est pas exacte donc non conforme : l'exécution de la procédure de mesure n'est pas satisfaisante dans les conditions du jour;
- en conséquence, les valeurs mesurées de toute la série ne sont pas acceptées; il faut rechercher l'origine de la mauvaise exactitude avant de recommencer la manipulation¹.

Soient deux valeurs mesurées (y_1 et y_2) pour un même échantillon et l'écart-type de répétabilité (s_r) de la procédure de mesure correspondant à cet échantillon. Le logigramme de compatibilité appliquer est le suivant :

Si les deux valeurs mesurées sont compatibles : la valeur retenue est la moyenne. Si les deux valeurs mesurées ne sont pas compatibles : il faut en rechercher la cause et recommencer la manipulation.²



2. Guide pour l'expression du résultat de mesure

L'incertitude élargie (U) est directement donnée avec son niveau de confiance ou calculée en multipliant l'incertitude-type composée (u_c)par le facteur d'élargissement k, par exemple k= 2 pour un niveau de confiance de 95 %.

L'incertitude élargie est ensuite arrondie. Selon les cas :

- si le premier chiffre significatif est 1, 2 ou 3 : garder deux chiffres significatifs ;
- si le premier chiffre significatif est 4 ou plus : garder un chiffre significatif.

La valeur retenue du résultat est arrondie de la façon suivante : le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie.

Expression du résultat de mesure :

Grandeur mesurée_(analyte; système)= (valeur retenue ± U) unité