

ZV 050 1106

Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 1962, 2 (3), 251-263.

**CALCUL D'ERREURS DANS L'INTERPRÉTATION
QUANTITATIVE DES ÉLECTROPHORÈSES DE SÉRUM
DES BOVIDÉS DOMESTIQUES**

Cl. LABOUCHE

*Institut d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux,
Laboratoire national de Recherches vétérinaires, Dakar (Sénégal)*

CALCUL D'ERREURS DANS L'INTERPRÉTATION QUANTITATIVE DES ÉLECTROPHORÈSES DE SÉRUM DES BOVIDÉS DOMESTIQUES

Cl. LABOUCHE

*Institut d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux,
Laboratoire national de Recherches vétérinaires, Dakar (Sénégal).*

SOMMAIRE

En vue d'évaluer la précision avec laquelle on peut interpréter les électrophorèses de sérum de ruminants pour lesquels les séparations sont en général très incomplètes, une étude mathématique est conduite sur des électrophorégrammes artificiels reconstitués en faisant plus ou moins chevaucher des courbes de Gauss, mathématiquement définies.

Il en ressort que les renseignements chiffrés fournis par l'électrophorèse de sérum de bovidés ne sont que des ordres de grandeur, en particulier en ce qui concerne les fractions intermédiaires.

Malgré la variété des tampons utilisés, et les modifications apportées à leur composition, leur pH et leur force ionique, nous n'avons pu obtenir jusqu'à maintenant des séparations convenables des protéines sériclues des ruminants domestiques tropicaux. (LABOUCHE, 1962 a ; Rapport sur l'activité du Laboratoire national de Recherches vétérinaires, Dakar, 1959-60.)

Un examen attentif de la littérature ayant trait à ce domaine nous a montré que les différents auteurs se sont heurtés aux mêmes difficultés et que les électrophorégrammes publiés sont, dans l'ensemble, de la même veine que les nôtres. Ils ont cependant fait l'objet de nombreuses interprétations quantitatives. Il nous a donc paru souhaitable d'évaluer l'erreur liée aux séparations imparfaites lorsque la mesure des surfaces est effectuée par une des méthodes suivantes :

- a) tracé à la main levée des contours et mesure planimétrique ;
- b) méthode mathématique de tracé et de détermination des surfaces (LABOUCHE, 1962 b) ;
- c) utilisation des intégrateurs automatiques.

I. -- MÉTHODE

Quatre courbes gaussiennes de types différents ont servi à reconstituer des électrophorogrammes. Les courbes répondent à la formule générale :

$$y = \frac{kn}{\sqrt{2\pi}} e^{-n^2 x^2 / 2k^2}.$$

La signification des paramètres k et n a été précisée dans un travail antérieur (LABOUCHE, 1962 *b*). Leur valeur est consignée dans le tableau ci-après :

Courbe de type	Symbole	k	n
Albumine	Λ	39,83	6,10
α globuline	α	28,14	2,13
β globuline	β	31,14	3,62
γ globuline	γ	47,85	2,83

Au niveau des zones de chevauchement, le tracé de l'électrophorogramme est obtenu en faisant la somme des ordonnées pour chaque point de l'axe de base (fig. 1 et 3).

Les positions respectives suivantes ont été retenues :

- 1^o les courbes sont isolées les unes des autres ;
- 2^o les courbes empiètent les unes sur les autres, mais la hauteur des sommets n'est pas modifiée par cette interférence (fig. 1);
- 3^o empiètement des courbes avec perturbation de l'ordonnée des sommets (fig. 3).

Dans chaque cas, la surface des courbes a été déterminée à partir de l'électrophorogramme et les chiffres obtenus ont été comparés aux valeurs réelles des courbes isolées. Nous avons obtenu les résultats ci-après :

II. -- RÉSULTATS

A. -- LES COURBES NE SE CHEVAUCHENT PAS

Cette disposition toute théorique, est envisagée ici pour situer la précision avec laquelle on détermine la surface des courbes, par planimétrie ou mathématiquement.

I. -- Détermination planimétrique des surfaces

Nous avons disposé, dans ces mesures d'un planimètre OTT, dont chaque division correspondait à une surface de 4 mm². Les surfaces de chacune des courbes, ainsi que celle d'un carré de 1 cm de côté, ont été déterminées. La moyenne et l'écart type des résultats sont consignés dans le tableau ci-contre. Les chiffres correspondent aux divisions du planimètre.

On remarquera que σ est presque constant et que la détermination des surfaces se fait avec une erreur de 15 mm², environ. L'erreur relative sera d'autant plus faible que les surfaces seront plus grandes.

	Carré de 1 cm × 1 cm	Courbe A	Courbe α	Courbe β	Courbe γ
	25	398	201	245	575
	21	395	200	244	573
	27	395	197	245	576
	25	392	197	244	576
	25	398	200	241	575
	24	396	197	244	575
	25	397	197	244	578
	25	394	197	243	577
	27	397	200	249	572
		395	198	245	576
		398	196	244	578
Moyenne $\pm \sigma$. .	24,9 \pm 1,8	395,9 \pm 1,9	198,2 \pm 1,7	244,4 \pm 1,9	575,5 \pm 1,9
Surface, mm ² . .	99,6	1 583,6	792,8	977,6	2 302
$\pm 2 \sigma$, mm ² . . .	14	15	14	15	15

2. Détermination mathématique

La précision de la méthode a déjà été exposée (ABOUCHE, 1962 b). Rappelons simplement que l'erreur relative est d'autant plus faible que la hauteur du sommet de la courbe mesurée est plus élevée et que le deuxième point choisi pour le calcul est d'autant plus éloigné de ce sommet. Pour des courbes aplaties (n faible), l'erreur peut être importante si on suppose que les ordonnées sont mesurées à 0,5 mm près.

B. — LES COURBES SE CHEVAUCHENT SANS QUE LES ORDONNÉES DES SOMMETS EN SOIENT MODIFIÉES (fig. 1)

I. — Modification entraînée sur le tracé de la courbe

Il est pratiquement impossible d'envisager les aléas du tracé à main levée. Aussi admettons-nous qu'il est identique à celui fourni par la méthode mathématique, ce qui revient à supposer que, dans tous les cas, l'opérateur dessinera bien une courbe de Gauss rigoureuse.

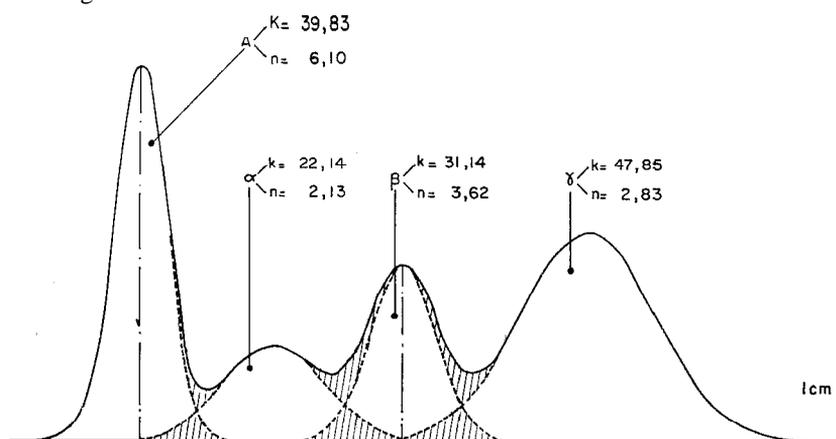


FIG. 1. — Reconstitution d'un électrophorégramme à partir de courbes de Gauss mathématiquement définies. Les courbes empiètent les unes sur les autres mais la hauteur des sommets n'est pas modifiée.

La précision dépendra alors du choix des points de l'électrophorégramme, servant de base au calcul de la courbe. Celle-ci s'éloignera plus ou moins de la courbe réelle suivant que le deuxième point sera compris ou non dans une zone intéressée par l'empiétement.

Si ce point est situé en zone « saine »; l'ordonnée des points calculés sera connue à $\pm \varepsilon$ près, en appelant ε l'erreur de mesure effectuée dans la détermination de l'ordonnée du sommet et du deuxième point (LABOUCHE, 1962 6).

Par contre, si ce point se trouve en zone « perturbée », l'erreur de mesure portant sur le sommet restera égale à ε , tandis que l'on notera une augmentation ρ de l'ordonnée du 2^e point. Si Z_n est l'abscisse d'un point de la courbe dont on veut connaître l'ordonnée U_n , celle-ci sera entachée d'une erreur par excès ATT., dont on peut démontrer qu'elle est égale à :

$$\Delta U_n = \frac{Z_n (\rho - \varepsilon)}{Z} + \varepsilon$$

(Z, abscisse du 2^e point de référence).

AU, sera d'autant plus faible que Z_n sera plus petit (donc que ce point sera plus près du sommet) et que Z sera plus grand (pour ρ constant). La courbe calculée sera plus évasée que la courbe réelle et la valeur de AU, dépendra, pour Z_n donné, de la valeur du rapport k/n , qui est essentiellement variable d'une courbe à une autre.

AU, est donc susceptible de prendre des valeurs extrêmement variées, que l'on peut cependant normaliser, en simplifiant la fraction ci-dessus par k/n . Il vient alors :

$$\Delta U_n = \frac{x_n (\rho - \varepsilon)}{x} + \varepsilon$$

x_n et x représentent les abscisses des points de la courbe normale qui correspondent aux points d'abscisse Z_n et Z.

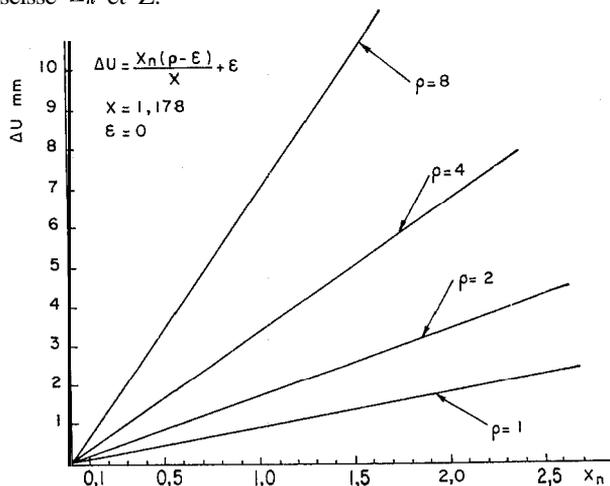


FIG. 2. — Erreur dans le calcul de l'ordonnée d'un point lorsque les courbes constitutives de l'électrophorégramme se chevauchent sans que la hauteur des sommets en soit modifiée

Les points servant au calcul de la courbe sont le sommet et le point dont l'ordonnée est égale à la moitié de l'ordonnée du sommet.

- AU mm = erreur absolue portant sur l'ordonnée d'un point ;
 x_n = abscisse du point de la courbe normale homologue du point calculé ;
 x = abscisse du point de la courbe normale homologue du deuxième point de référence servant au calcul de la courbe (le premier point est le sommet) ;
 ρ = augmentation en mm de l'ordonnée du point x , provoqué par le chevauchement ;
 ε = augmentation de l'ordonnée du sommet provoquée par le chevauchement.

AU, a été calculé pour des valeurs positives de x_n , en supposant x fixe et égal à 1,178 (ce qui revient à admettre que l'ordonnée Z est égale à la moitié de l'ordonnée du sommet), l'erreur ε nulle et la déformation ρ prenant des valeurs comprises entre 1 et 10 mm (fig. 2).

En pratique l'erreur AU, sera à affecter au point d'abscisse $Z_n = x_n \cdot k/n$.

2. — Modifications entraînées sur l'estimation des surfaces des courbes

a) Détermination planimétrique.

Nous venons de voir que le tracé des courbes peut être sensiblement déformé lorsque les fractions commencent à empiéter les unes sur les autres. Il s'ensuivra obligatoirement des erreurs sensibles dans la mesure planimétrique.

Les déterminations directes effectuées sur notre modèle (fig. 1) nous ont montré cependant que la surface totale de l'« électrophorégramme » était égale à la somme des surfaces des courbes constitutives et que les surfaces d'empiètement sont égales aux surfaces de l'électrophorégramme laissées en dehors de ces courbes.

b) Détermination mathématique.

Erreur sur la mesure de la surface d'une fraction. — Nous avons montré ailleurs (LABOUCHE, 1962 b) que pour une courbe de Gauss, de paramètre k et n , la surface S est égale à :

$$S = (k.n.) \left(\frac{k}{n}\right) = k^2$$

expression que l'on peut écrire encore :

$$S = \frac{Zac^2 U_2}{U - bc U_s}$$

et dans laquelle U_s est l'ordonnée du sommet, U et Z sont les coordonnées du deuxième point de référence, a et b sont les paramètres de la forme linéaire approchée de la courbe normale (1) et c est une constante égale à 2,507 (2).

En remarquant que bc , d'une part, et ac^2 d'autre part, sont des valeurs proches de 1, l'expression donnant S peut se simplifier et s'écrire :

$$S \simeq \frac{ZU_s^2}{U - U_s}$$

S apparaît donc comme une fonction simultanée de trois variables indépendantes,

$$s = f(Z, U, U_s).$$

Nous voulons savoir de combien varie S , lorsque U subit une variation dU . En fait, nous calculerons la formule générale donnant la variation dS pour des varia-

(1) On peut, pour des calculs approchés, et pour des valeurs de x comprises entre $-1,4$ et $+1,4$, confondre la courbe en cloche avec deux droites symétriques par rapport à l'axe des y :

$y = + 0,181\ 105\ x + 0,426\ 427\ \quad x < 0 \quad a = 0,181\ 105$

$y = - 0,181\ 105\ x + 0,426\ 427\ \quad x > 0 \quad b = 0,426\ 427$

(2) $c = 1/y_s$: y_s ordonnée du sommet de la courbe normale $\simeq 0,398\ 942\ 3$.

tions concomitantes de trois variables ; cette formule nous servira, en effet, pour la suite de l'exposé. On sait que :

$$dS = f'_z dZ + f'_U dU + f'_{U_s} dU_s$$

dS est la différentielle totale de la fonction.

dZ, dU, dU_s , les variations des variables ;

f'_z, f'_U, f'_{U_s} sont, respectivement, les dérivés de S par rapport à Z , à U , à U_s , dans chaque cas le calcul de la dérivée s'effectuant en considérant les autres variables comme des constantes.

Sans entrer dans le détail des calculs, sachons que :

$$f'_z = \frac{U_s^2}{U - U_s} \quad f'_U = \frac{-ZU_s^2}{(U - U_s)^2} \quad f'_{U_s} = \frac{ZU_s(2U - U_s)}{(U - U_s)^2}$$

La formule générale de l'erreur absolue dS sera :

$$dS = \frac{U_s^2}{U - U_s} dZ + \frac{ZU_s^2}{(U - U_s)^2} dU + \frac{2U_s(ZU - U_s)}{(U - U_s)^2} dU_s. \quad (1)$$

Si on limite le problème aux variations dU , l'erreur absolue sur la surface sera :

$$dS = \frac{ZU_s^2}{(U - U_s)^2} dU.$$

L'erreur relative possède une portée plus générale et on peut écrire :

$$\frac{dS}{S} = \frac{dU}{U - U_s}.$$

Pour une courbe donnée, l'erreur relative est directement proportionnelle à la déformation dU , subie par le deuxième point de référence, et inversement proportionnelle à $u - u_s$; ce qui revient à dire que l'erreur relative augmente lorsque le 2^e point se rapproche du sommet. En fait, dans ce mouvement dU diminue et la connaissance de la variation exacte de l'erreur relative nécessiterait une étude spéciale qui ne s'impose pas absolument. Car, en pratique, la valeur exacte S est moins utile que le rapport $S/\Sigma S$, ΣS représentant la somme des surfaces des différentes courbes constituant l'électrophorégramme.

Nous nous bornerons à signaler la forme simplifiée prise par dS/S , dans le cas où l'ordonnée du deuxième point de référence est égale à la moitié de U_s .

$$\frac{dS}{S} = \frac{2 dU}{U_s}.$$

Erreur dans la détermination du rapport $S/\Sigma S$. — A la suite de l'analyse électrophorétique d'un sérum, on exprime la concentration relative des différentes fractions séparées par le rapport $S/\Sigma S$, de la surface de la courbe correspondant à la fraction considérée, à la surface totale de l'électrophorégramme.

(1) Le calcul de $f'_U dU$ ne présage pas du signe de dU , $f'_U dU$ peut, donc prendre des valeurs positives ou négatives. Comme nous calculons ici une erreur maxima, nous devons nous placer dans le cas le plus défavorable c'est-à-dire celui où l'erreur liée à dU s'ajoute à celles provoquées par les autres variables. Ceci revient à envisager la valeur absolue des erreurs et non leur valeur algébrique.

Si S_f est la surface d'une courbe de Gauss quelconque, ΣS_f la somme des surfaces des courbes, on aura :

$$P = \frac{S_f}{\Sigma S_f}$$

Lorsque, à la suite des empiétements, les courbes tracées sont différentes des courbes réelles, S_f est devenue S'_f , ΣS_f est égale à $\Sigma S'_f$ et on aura :

$$P' = \frac{S'_f}{\Sigma S'_f}$$

d'où :

$$P' - P = \frac{S'_f}{\Sigma S'_f} - \frac{S_f}{\Sigma S_f}$$

En appelant $P' - P = dP$, l'erreur relative sur les pourcentages sera :

$$\frac{dP}{P} = \left(\frac{S'_f}{\Sigma S'_f} - \frac{S_f}{\Sigma S_f} \right) \times \frac{\Sigma S_f}{S_f} = \left(\frac{S'_f}{\Sigma S'_f} \cdot \frac{\Sigma S_f}{S_f} \right) - 1$$

d'où :

$$\frac{dP}{P} = \left(\frac{S_f + dS_f}{S_f} \cdot \frac{\Sigma S_f}{\Sigma S_f + \Sigma dS_f} \right) - 1$$

et :

$$\frac{dP}{P} = \frac{1 + (dS_f/S_f)}{1 + (\Sigma dS_f/\Sigma S_f)} - 1$$

$$\frac{dP}{P} = \frac{(dS_f/S_f) - (\Sigma dS_f/\Sigma S_f)}{1 + (\Sigma dS_f/\Sigma S_f)}$$

Pour simplifier les calculs, nous supposons ici que $dS_f = \Sigma dS_f$ (l'erreur ne porte que sur une courbe à l'exclusion de toutes les autres). L'égalité précédente devient alors :

$$\frac{dP}{P} = \frac{(dS_f/S_f) - (dS_f/\Sigma S_f)}{1 + (dS_f/\Sigma S_f)}$$

$$\frac{dP}{P} = \frac{dS_f [(1/S_f) - (1/\Sigma S_f)]}{1 + (dS_f/\Sigma S_f)}$$

On peut, dans cette expression faire disparaître ΣS_f et faire apparaître P :

$$\frac{dP}{P} = \frac{dS_f [(1/S_f) - (S_f/\Sigma S_f \times S_f)]}{1 + (S_f dS_f/S_f \Sigma S_f)}$$

$$\frac{dP}{P} = \frac{dS_f [(1/S_f) - (P/S_f)]}{1 + (P dS_f/S_f)} = \frac{(dS_f/S_f)(1 - P)}{(dS_f/S_f)[P + (S_f/dS_f)]}$$

d'où

$$\frac{dP}{P} = \frac{1 - P}{P + \frac{S_f}{dS_f}}$$

Nous avons vu que dS_f/S_f est une fonction de dU , terme que l'on peut faire apparaître à son tour dans l'égalité ci-dessus. Il nous sera alors possible de déterminer quelle sera la valeur maxima tolérable de dU pour une erreur relative dP/P , donnée à l'avance.

L'équation exacte $dP/P = f(dU)$ est compliquée. Nous la simplifierons en nous plaçant dans le cas particulier où le deuxième point ayant servi au calcul de la courbe possède une ordonnée égale à la moitié de l'ordonnée U_s du sommet. Dans ces conditions :

$$\frac{dS_f}{S_f} = \frac{2dU}{U_s}$$

Or, en partant de l'équation donnant dP/P , on peut écrire :

$$\frac{dS_f}{S_f} = \frac{dP/P}{1 - P \left[1 + \frac{dP}{P} \right]}$$

On en déduira

$$dU = \frac{(dP/P)(U_s/2)}{1 - P[1 + (dP/P)]}$$

Nous avons calculé dU pour chacune de nos courbes et pour des erreurs relatives sur les pourcentages variant de 5 à 20 p. 100. Les résultats en mm sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Courbes	U_s mm	P	dP/P		
			0,05 (11111)	0,10 (mm)	0,20 (mm)
A	97	0,28	3,5	7	14,5
α	24	0,14	0,7	1,4	2,9
β	45	0,17	1,4	2,8	5,6
Y	54	0,41	2,4	4,9	10,5

On remarquera que dU diminue avec U_s . Pour les fractions à sommet élevé, une déformation relativement large peut être tolérée. Il n'en est pas de même pour les fractions intermédiaires, beaucoup plus défavorisées et dont les versants, dans la pratique, peuvent être simultanément perturbés par les fractions voisines.

Il faudra donc exploiter avec circonspection ces diagrammes, bien que la perturbation n'intéresse pas ici la hauteur des sommets. Dans la pratique, au demeurant, il est difficile a priori, de savoir si cette condition particulière est réalisée. C'est pourquoi nous avons calculé une formule générale donnant la distance séparant dans cette configuration, deux sommets successifs.

Détermination de la distance séparant deux sommets successifs. — Lorsque deux courbes se chevauchent sans que les sommets y soient intéressés, la distance séparant les sommets sera au moins égale à l'abscisse z du point de la courbe la plus évasée (celle pour laquelle k/n est le plus élevé), dont l'ordonnée sera égale à une valeur limite faible, ε (1).

On aura donc :

$$\varepsilon = \frac{kn}{\sqrt{2\pi}} e^{-n^2 z^2 / 2k^2} = U_s e^{-n^2 z^2 / 2k^2}$$

(1) On ne peut en effet calculer l'abscisse pour $y = 0$, cette valeur n'étant obtenue que pour $x = \pm \infty$

Ce que l'on peut encore écrire :

$$\text{Log } \varepsilon = - \frac{n^2 z^2}{2k^2} + \text{Log } U_s$$

d'où :

$$z^2 = \frac{2k^2}{n^2} (\text{Log } U_s - \text{Log } \varepsilon) .$$

Soit, en convertissant en logarithmes décimaux

$$z = \pm 2,145 \frac{k}{n} \sqrt{\log \frac{U_s}{\varepsilon}}$$

Nous avons calculé z dans le cas de nos courbes, en posant $\varepsilon = 0,1$ mm, valeur correspondant à l'erreur que l'on peut commettre en mesurant les ordonnées.

L'examen des rapports k/n montre, en fait, que les risques d'empiétement résident au niveau de la courbe α , aux dépens de A et de β et au niveau de y aux dépens de β . L'application de la formule précédente nous indique que le sommet d' α doit se trouver au moins à 34 mm des sommets de A et de β et que celui de y doit être distant du sommet de β d'au moins 48 mm (fig. 1). On notera l'aspect très étalé de l'électrophorégramme, aspect assez inhabituel lorsqu'il s'agit des sérums de bovidés pour lesquels le diagramme est beaucoup plus compact.

Quoi qu'il en soit, après avoir mesuré dU , nous avons apprécié les erreurs relatives dP/P entraînées par les perturbations réciproques A et α , α et β , β et α , β et y .

Chevauchement	dU au point $U_s/2$ mm	Pourcentage perturbé	$(dP/P) \times 100$
A \rightarrow α	1,5	P_α	10
$\alpha \rightarrow \beta$	3,5	P_β	15
$\beta \rightarrow \alpha$	4	P_α	30
$\gamma \rightarrow \beta$	4,5	P_β	15

L'erreur dP/P n'a pas été calculée pour A et pour y , étant donné qu'il est possible de déterminer ces courbes en dehors de tout empiétement en choisissant le deuxième point sur les versants extérieurs de ces courbes.

Pour les courbes intermédiaires, on voit que dans les meilleures conditions l'erreur ne saurait être inférieure à 10-15 p. 100.

c) Détermination par les intégrateurs automatiques.

La précision de la mesure même n'est pas ici en cause. Nous voulons seulement rappeler que ces mécanismes apprécient, pour chaque fraction, non pas la surface exacte de la courbe de Gauss, mais une surface approchée qui est celle délimitée par le tracé de l'électrophorégramme et les verticales menées par les points d'inflexion (fig. 3).

Les résultats obtenus par planimétrie, pour ces surfaces, dans notre modèle sont les suivants :

Courbe	Surface en mm ²	P
A	1 680	29,4
α	640	11,2
β	1 100	19,2
γ	2 300	40,2

Les pourcentages exacts sont respectivement de 28, 14, 17 et 41 p. 100. L'erreur maxima se rencontre à nouveau dans les fractions intermédiaires (près de 30 p. 100 pour α , et 10 p. 100 pour β).

En conclusion, lorsque les courbes se chevauchent sans que le niveau des sommets en soit modifié, la détermination des surfaces en pourcentage de la surface totale est déjà entachée d'erreur. Celle-ci peut atteindre 15 à 20 p. 100, quelle que soit la méthode utilisée. Elle est surtout sensible au niveau des fractions intermédiaires. Au demeurant, l'application pratique de ces résultats reste réduite, car cette disposition respective des courbes ne se rencontre pour ainsi dire pas avec le sérum des bovins. Dans ce cas, on assiste à un regroupement des fractions lentes avec formation d'un massif protéinique compact.

C. — LES COURBES SE CHEVAUCHENT ET LA HAUTEUR DES SOMMETS EST MODIFIÉE (fig. 3)

1. — Détermination planimétrique des surfaces

Les sources d'erreur sont multiples dont la principale réside dans le fait que le tracé de la courbe s'appuie sur un sommet d'altitude erronée.

De plus, nous allons voir que la neutralisation des surfaces de chevauchement est inopérante et que la somme des surfaces des courbes est différente de la surface de l'électrophorogramme reconstitué.

Nous avons, à cet effet, réalisé la disposition suivante de nos courbes.

Courbe chevauchante	Courbe chevauchée	dU_{β} , mm
α	A	5
α	β	1,5
γ	β	6,5

Les sommets α et γ ne sont pas perturbés. Celui de β subit une légère translation vers γ en raison de l'intervention simultanée de α et γ .

En nous fixant sur les nouveaux sommets, sur les versants non perturbés de A et γ et sur le versant de β tourné vers α , les courbes de Gauss ont été construites mathéma-

tiquement (nous nous sommes placés dans le cas où l'opérateur tracerait à main levée une courbe exacte). Ces surfaces de chevauchement et les surfaces extérieures aux courbes ont été mesurées au planimètre.

Type de l'empiètement	Surface de chevauchement (mm ²)	Surface extérieure (mm ²)
A → ← α	188	128
α → ← β	173	56
β → ← γ	402	104

Il est facile de voir que les surfaces de chevauchement sont très largement supérieures aux surfaces extérieures (3 à 4 fois pour α → ← β et β → ← γ).

Par conséquent l'opérateur se trouve dans l'alternative suivante : tracer des courbes de Gauss en négligeant les neutralisations ou bien neutraliser les surfaces en renonçant à dessiner des courbes exactes. Dans les deux cas, il tombe dans l'erreur.

De plus les courbes calculées ou dessinées ne sont plus les courbes vraies puisque basées sur des points de référence dont les coordonnées ont été falsifiées.

2. — Détermination mathématique

Erreur sur la mesure de la surface S. — L'erreur relative est donnée par la formule générale déjà calculée, en annulant dZ .

$$dS = \frac{ZU_s^2}{(U - U_s)^2} dU + \frac{ZU_s(2U - U_s)}{(U - U_s)^2} dU_s$$

et :

$$\frac{dS}{S} = \frac{dU}{U - U_s} + \frac{(2U - U_s) \cdot dU_s}{U_s(U - U_s)}$$

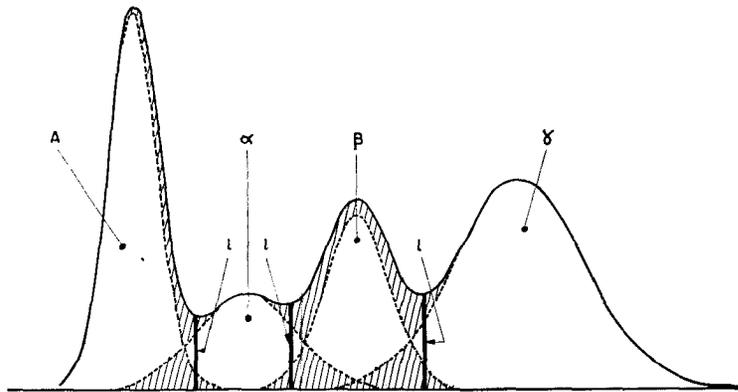


FIG. 3. — Reconstitution d'un électrophorégramme avec modification de la hauteur de certains sommets
l : limites verticales des surfaces déterminées par intégration automatique.

Pour $U = U_s/2$, le 2^e terme de cette expression s'annule et la formule de l'erreur est identique à celle que nous avons déjà rencontrée, en absence de perturbation du sommet. L'erreur est ici minimale, mais, en pratique, elle ne saurait être atteinte que

fortuitement, car U_s est inconnu, ainsi par conséquent, que $U_s/2$. Par ailleurs, cette **valeur minimale sera inéluctablement supérieure** à celle rencontrée auparavant car la valeur de dU est forcément plus importante que dans le cas précédent.

Erreur dans la détermination de $S/\Sigma S$. -- La valeur de dP/P est donnée pour $U = U_s/2$ par une formule identique à celle que nous avons rencontrée, à la différence près que la valeur de dU est ici plus forte.

$$\frac{dP}{P} = \frac{1 - P}{P + \frac{U_s}{2dU}}$$

Pour avoir une idée de l'erreur relative susceptible d'intervenir dans ces conditions, nos courbes ont été rapprochées de 5 mm les unes des autres, à partir de la position précédente pour laquelle la hauteur des sommets restait intouchée (fig. 3).

L'ordonnée des points $U_s/2$ a été augmentée de 8 mm pour α et de 7,5 mm pour β . Ceci entraîne une **erreur relative sur le pourcentage de plus de 50 p. 100** pour α et de **plus de 25 p. 100** pour β .

Ces données numériques sont sans doute inférieures à la réalité de la pratique dans laquelle, en particulier le chevauchement des γ et β est tel que le sommet β ne constitue le plus souvent qu'un ressaut du massif des globulines. On peut concevoir avec quelle piètre précision les concentrations relatives peuvent être déterminées.

3. -- Détermination par les intégrateurs automatiques

La mesure des surfaces effectuée dans les conditions précisées au chapitre précédent sur le modèle dont nous venons de fixer les caractéristiques en (2), a fourni les résultats ci-après :

Courbe	Surface		$(S/\Sigma S) \times 100$		$\frac{dP}{P} \times 100$
	mesurée	réelle	mesuré	réel	
Λ	1 750	1 584	31	28	9
α	544	793	10	14	31
β	1 212	978	21	17,3	23
γ	2 480	2 302	38	40,7	6

Ici à nouveau l'erreur porte sur les fractions intermédiaires pour atteindre des valeurs telles qu'il devient déraisonnable de fixer un chiffre au pourcentage de ces fractions. A et γ paraissent épargnés, mais ce n'est qu'une illusion **due** à la disposition favorable des courbes que nous avons réalisée, afin de conserver une certaine individualisation des sommets.

III. -- CONCLUSION

Nous avons cherché à donner un ordre de grandeur de la précision avec laquelle peut être connue la concentration relative des fractions protéiques des sérums de Bovidés domestiques soumis à l'électrophorèse. Pour ce faire, nous avons utilisé des

courbes de Gauss, mathématiquement définies et proches de celles que l'on peut réellement observer. Des électrophorogrammes artificiels ont été reconstitués en faisant plus ou moins chevaucher ces courbes les unes sur les autres. On a pu voir ainsi que :

1^o lorsque l'empiétement des courbes s'effectue sans modification de l'ordonnée des sommets, une erreur s'introduit au niveau des fractions intermédiaires, α et β , pouvant atteindre 30 p. 100.

2^o lorsque la hauteur des sommets est modifiée, la méthode manuelle est systématiquement fautive. L'erreur liée à l'utilisation de la méthode mathématique s'amplifie tandis que l'intégration automatique fournit des données très approximatives.

Dans tous nos modèles, les sommets sont restés cependant individualisés. Or, sur les électrophorogrammes de sérum de Ruminants, le sommet α est le plus souvent inapparent tandis que celui de la fraction β ne se traduit que par un ressaut plus ou moins bien délimité du versant des γ globulines. On peut donc se demander, dans ces conditions quelle confiance on peut accorder aux déterminations quantitatives correspondantes.

Par conséquent, en attendant la mise en jeu de techniques plus précises, il serait sage de n'accorder aux renseignements chiffrés fournis par l'électrophorèse du sérum des Bovidés que la valeur d'ordres de grandeur et plus particulièrement en ce qui concerne les fractions intermédiaires.

Reçu pour publication en avril 1962.

SUMMARY

THE CALCULATION OF ERRORS IN THE QUANTITATIVE INTERPRETATION OF THE ELECTROPHORESIS OF THE SERUM OF DOMESTIC BOVINES

The proteins of the blood of the domestic ruminants are only imperfectly separated by electrophoresis. Very often the peak of the α -globulins is not clearly visible and the β -globulins are not distinctly isolated from the γ -globulins (LABOUCHE, 1962 a ; Rapport sur l'activité du Laboratoire national de Recherches vétérinaires, Dakar, 1959-1960).

An effort was made to determine the precision with which, under these conditions, the relative concentration of each fraction could be estimated when the following methods were used for measuring the surfaces :

- a) free-hand sketches of the contours and manual planimetry ;
- b) mathematical (LABOUCHE, 1962, b) ;
- c) automatic integrators.

In pursuance of this object the electrophoretic diagrams were reconstituted by more or less overlapping the Gauss curves after mathematical definition. The following results were obtained :

1. When the encroachment does not modify the height of the peaks, the **error in** the case of α - and β -globulins may reach 30 p. 100 ;

2. When the peaks are disturbed the hand method gives systematically incorrect results, while the mathematical and automatic integration methods yield only approximate figures.

Hence the quantitative interpretation of the electrophoresis of bovid serum will indicate only orders of magnitude, especially in so far as the intermediate fractions are concerned.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LABOUCHE Cl., 1962 a. Méthode d'appréciation de la séparation des fractions obtenues par micro-électrophorèse en milieu liquide. *Ann. Inst. Pasteur*, 102, 555-560.

LABOUCHE Cl., 1962 b. Méthode mathématique d'interprétation quantitative des électrophorèses sur papier. *Ann. Inst. Pasteur*, 102, 561-566.

Rapport sur l'activité du Laboratoire national de Recherches vétérinaires de Dakar-Hann, 1959-1960.

Annales de Biologie animale. — 1962.