

**Anne Vassault**

Biologiste des Hôpitaux

# Vérification/validation des méthodes (NF/EN/ISO 15 189)

# Plan de la présentation

## 1- INTRODUCTION - OBJECTIFS

## 2- EXIGENCES DE LA NORME NF EN ISO 15189

## 3- LIMITES D'ACCEPTABILITE

## 4- PROTOCOLE D'ÉVALUATION DES PERFORMANCES (méthodes quantitatives)

- Fidélité
- Justesse (échantillons de contrôle et échantillons de patients)
- Erreur totale
- Domaine de mesures (limites de linéarité)
- Limite de détection et limite de quantification
- Interférences (spécificité)
- Contamination
- Intervalle de référence ou limites de décision
- Incertitude de mesure

## 5- CONCLUSIONS

# INTRODUCTION

- La validation des méthodes d'analyses fait partie des exigences de la norme NF EN ISO 15189, à satisfaire pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale.
- C'est un outil de maîtrise de la fiabilité des résultats.
- L'exigence prévoit que cette opération se déroule avant l'utilisation des méthodes pour l'obtention de résultats des patients (validation initiale). Les performances sont ensuite suivies en continu en exploitant les résultats des contrôles de qualité.
- Elle peut se limiter à une simple vérification des performances attendues pour les méthodes « normalisées » ou commercialisées en suivant les règles de l'union européenne.

<b>5.5</b>	<b>Procédures analytiques</b>	<b>Processus analytiques</b>
	<b>5.5.1 à 5.5.7</b>	<b>5.5.1 Sélection, vérification et validation des procédures analytiques</b> 5.5.1.1 Généralités 5.5.1.2 Vérification des procédures analytiques 5.5.1.3 Validation des procédures analytiques 5.5.1.4 Incertitude de mesure et grandeurs mesurées
		<b>5.5.2 Intervalles de référence biologique ou valeurs de décision clinique</b>
		<b>5.5.3 Documentation des procédures analytiques</b>

# Vérification/validation des méthodes

## 5.5.1.2 Vérification des procédures analytiques

Les méthodes validées utilisées sans modification doivent faire l'objet d'une vérification indépendante par le laboratoire avant d'être utilisées.

## 5.5.1.3 Validation des procédures analytiques

Le laboratoire doit valider les procédures analytiques suivantes :

- les méthodes non normalisées ;
- les méthodes conçues ou développées par le laboratoire ;
- les méthodes normalisées utilisées en dehors de leur domaine d'application prévu ; et
- les méthodes validées, puis modifiées.

# Vérification/validation des méthodes

## 5.5.1.2 Vérification des procédures analytiques

- Le laboratoire doit obtenir des informations auprès du fabricant/développeur de méthodes pour confirmer les caractéristiques de performances de la méthode.
- La vérification indépendante doit confirmer, par l'obtention de preuves tangibles que les performances annoncées sont satisfaites.
- Les performances annoncées confirmées pendant le processus de vérification doivent être appropriées à l'utilisation prévue des résultats d'examen.
- Le laboratoire doit documenter la procédure de vérification et enregistrer les résultats obtenus et enregistrer la revue.

## 5.5.1.3 Validation des procédures analytiques

- La validation doit être aussi étendue que nécessaire et confirmer, (preuves tangibles) que les exigences spécifiques sont satisfaites.
- Le laboratoire doit documenter la procédure utilisée pour la validation et enregistrer les résultats obtenus. Le personnel compétent doit examiner les résultats et les enregistrer
- En cas de modification d'une méthode validée, l'influence de ces modifications doit être documentée et, le cas échéant, une nouvelle validation doit être réalisée.

# Validation des méthodes

## 2012

**NOTE : caractéristiques de performance : justesse, exactitude de mesure, fidélité de mesure (répétabilité et fidélité intermédiaire), l'incertitude de mesure, spécificité analytique (y compris les substances interférentes), sensibilité analytique, limite de détection et limite de quantification, intervalle de mesure, spécificité et de la sensibilité de diagnostic.**

## 5-5-3 Procédures analytiques (2007)

*NOTE : certains éléments peuvent ne pas s'appliquer à l'ensemble des disciplines*

Il convient que la documentation comprenne, *lorsque cela est applicable* :

- **Objet de l'examen**
- **Principe de la méthode et la procédure utilisés pour effectuer l'examen**
- **Spécifications des performances (limites de linéarité, reproductibilité..)**
- **Type de spécimen biologique**
- **Type de récipients et additifs**
- **Matériels et réactifs nécessaires**
- **Mode d'étalonnage (traçabilité métrologique)**
- **Etapas du mode opératoire**
- **Procédures de contrôle de qualité**
- **Interférences (par exemple, trouble, hémolyse, ictère) et réactions croisées**
- **Principe de la méthode de calcul des résultats**
- **Intervalles de référence biologiques**
- **Etendue des valeurs susceptibles d'être observées**
- **Valeurs d'alerte ou critiques, si nécessaire**
- **Interprétation du laboratoire**
- **Précautions de sécurité**
- **Sources potentielles de variation des résultats.**



- Le laboratoire **doit utiliser des techniques validées** (y compris celles développées au laboratoire) pour confirmer qu'elles satisfont les objectifs recherchés
- Les résultats de la validation **doivent être conservés** ainsi que le protocole utilisé
- Les techniques doivent avoir subi cette épreuve **avant** d'être utilisées pour les analyses de routine.



**GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION  
DE VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION  
(PORTEE B) DES METHODES EN BIOLOGIE  
MEDICALE**

SH GTA 04

Révision 00 – Avril 2011

**GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION DE  
VERIFICATION (PORTEE A) /  
VALIDATION (PORTEE B) DES METHODES  
EN BIOLOGIE MEDICALE**

Document SH GTA 04  
Révision 01

Vérification/validation de méthode : Ce qui est attendu



1- Utilisation d'un système analytique commercialisé (marquage CE) ou normalisé : **PORTEE A**

 VERIFICATION

A - NOUVEL EQUIPEMENT : qualification

B - EQUIPEMENT EXISTANT : suivi de performance

2- Utilisation d'un système analytique CE modifié ou adapté :  
(réactif, étalon, conditions de mesure...) : **PORTEE B**

 Validation de la modification

3- Utilisation d'une méthode non CE, normalisée (développée en interne) :  
**PORTEE B**

 Validation de la méthode

# Définitions

## → Méthode qualitative

Méthode générant un résultat n'apportant pas d'information sur la quantité de l'analyte, mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif), voire sur une présence ou une activité supérieure à celle d'un témoin donné [4].

Elle peut également résulter d'une observation par un opérateur. On classe dans cette catégorie toutes les méthodes pour lesquelles aucune mesure d'une donnée quantifiable n'est disponible.

## → Méthode quantitative

Méthode fournissant un résultat chiffré, sur une échelle continue, dont les limites basses et hautes sont connues, en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte à mesurer [4].

## → Méthode semi-quantitative

Méthode fournissant un résultat de type qualitatif (positif/négatif) extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (signal continu) [4]. Ce type de méthode est assimilable à une méthode quantitative.

# Liste des essais a programmer (SH GTA 04- 2015)



Tableau résumé des performances à évaluer lors d'une vérification/validation de méthode quantitative ou qualitative (selon NATA note n°17 – juin 2012) :

CRITERES A EVALUER	Vérification (portée A)		Validation (portée B)	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
<b>Fidélité</b> (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai	Essai	Essai
<b>Justesse/exactitude</b> (approche)	Essai	Essai	Essai	Essai
<b>Incertitudes/facteurs de variabilité</b> et évaluation	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité
<b>Comparaison</b> avec méthode déjà utilisée au laboratoire ou autre méthode du laboratoire (appareil en miroir <sup>9</sup> , EBMD) et analyse des discordances <sup>10</sup>	Essai	Essai	Essai	Essai
Intervalle de mesure ( <b>Limite de quantification et limites de linéarité</b> )	Bibliographie	/	Essai	/
<b>Interférences</b> (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments, ...)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Contamination</b> entre échantillons (s'il y a lieu)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Robustesse</b>	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Stabilité réactifs</b> (après ouverture, embarqués)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Intervalle de référence</b> (valeurs usuelles)	Bibliographie (fournisseur ou autre, s'assurer de la cohérence avec l'état de l'art)	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Limite de détection</b>	/	Bibliographie	/	Essai
<b>Spécificité/sensibilité analytique</b>	/	Bibliographie	/	Essai
<b>Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude<sup>11</sup> de la méthode ou du système analytique.</b>				

# SH FORM 43 2015



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Note : le laboratoire se référera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera une fiche par examen de biologie médicale

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) ↘ .....
Processus simple <input type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : .....

DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Sous-processus 1	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation : <input type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input type="checkbox"/> 5. Exactitude <input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input type="checkbox"/> 10. Interférences <input type="checkbox"/> 11. Contamination <input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

## Procédure générale :

- Portée A, portée B,
- Méthodes quantitatives, qualitatives, semi quantitative,
- Processus d'évaluation
- Définition des responsabilités
- Principe de rédaction d'un plan expérimental
- Enregistrement, archivage
- Lien avec la procédure de gestion de la portée flexible

# Démarche de la vérification/validation de méthode (1)

- Revue Bibliographique
- Choix de la méthode à mettre en place
  - Rédaction du cahier des charges :
    - définition des besoins
    - définition des performances attendues
  - Conseils, renseignements, informations
- Description de la méthode (processus analytique) Cf document fournisseur
- Identifier les ressources nécessaires et besoins en formation pour adapter ou adopter la méthode aux spécifications du LBM et des clients.



## Démarche de la vérification/validation de méthode (2)

- Habilitier le personnel (le faire figurer sur les fiches correspondantes).
- Définir et **réaliser le** plan d'expérimentation pour l'évaluation des performances de la méthode
  - ✓ Définir les étapes de vérification/validation
  - ✓ Définir les objectifs de performance
  - ✓ Etablir un échéancier
  - ✓ Réaliser les étapes de vérification/validation
- **identifier** les étapes critiques : analyse des risques

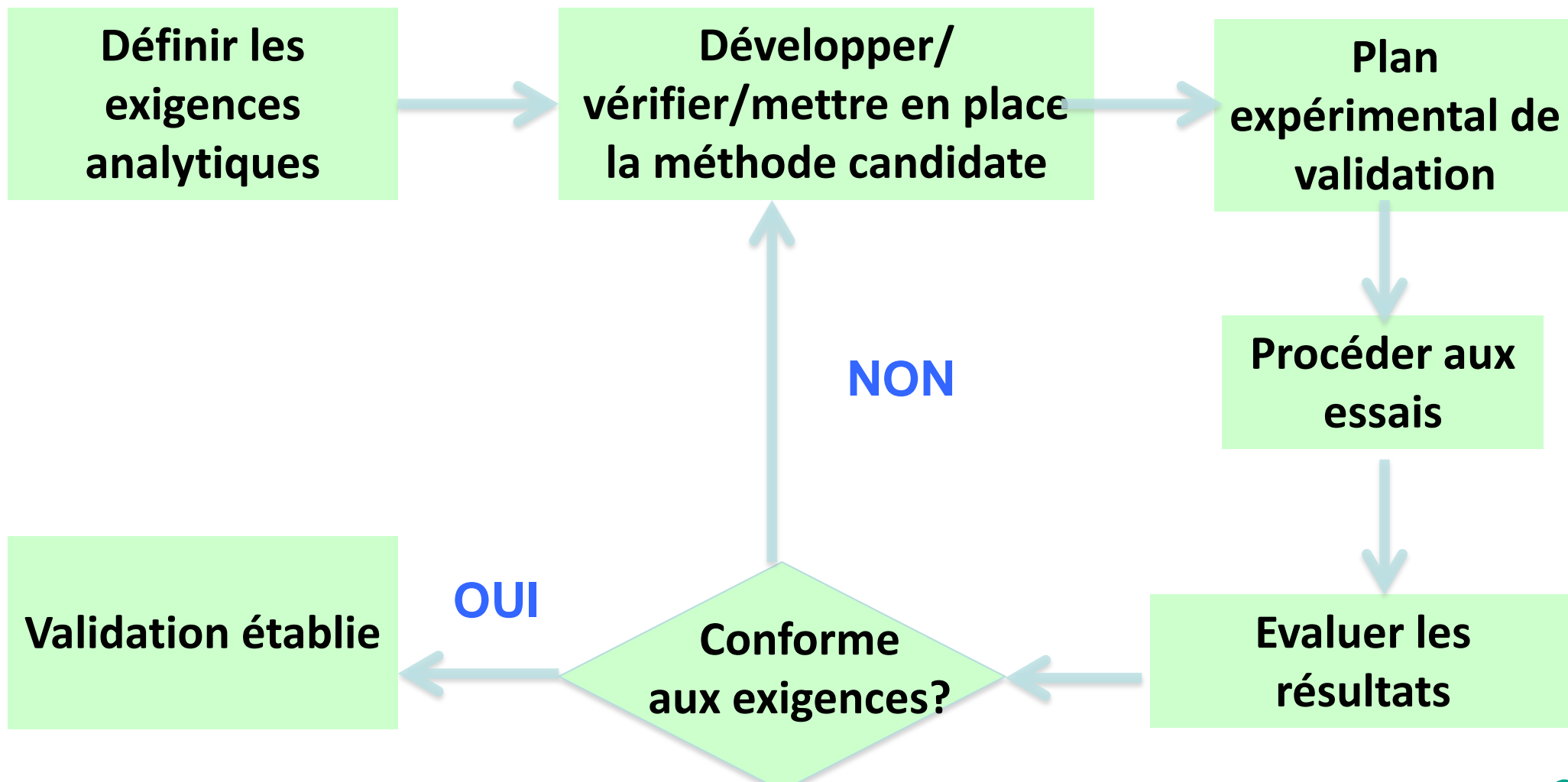


## Démarche de la vérification/validation de méthode (3)

- Evaluer les performances et interpréter : démontrer que la méthode « fonctionne » correctement dans les conditions opératoires du laboratoire et qu'elle fournit des résultats fiables pour les patients = validation des performances avant mise en application (conformité aux performances attendues).
- **Formaliser** et clôturer le dossier de validation initiale
- Mettre en service : rédiger les modes opératoires d'application en routine



# Comment valider une méthode : les étapes clés



# Différents modules d'évaluation

- **Evaluation de la fidélité :**
  - répétabilité
  - Reproductibilité intra-laboratoire (fidélité intermédiaire)
- **Domaine de mesure :**
  - limite de détection, seuil de positivité
  - limites de linéarité, limite de quantification
- **Justesse :**
  - matériels de référence (spécimens de contrôle)
  - échantillons de patients : comparaison de techniques
- **Evaluation de la contamination**
- **Susceptibilité aux interférences :**
  - endogènes : hémolyse, turbidité, ictère
  - exogènes : médicaments, toxiques

# COFRAC SH FORM 043



DESCRIPTIF DE LA METHODE	COFRAC SH FORM 043
Examen (mesurande, analyte, recherche...)	Antigène spécifique de la prostate
Méthode - principe	Immunoanalyse
Analyseur	Trombone* (TARTAMPION)
Milieu biologique (sang, sérum, plasma, urine...)	plasma
Additifs, type de récipient	Héparinate de Na
Prétraitement (centrifugation, déprotéinisation...)	Centrifugation 2500 g
Unité	µg/l
Matériau d' étalonnage, raccordement	Étalon international IFCC
Référence du réactif (fournisseur et génération)	PSA plus (TARTAMPION)
Type d'étalonnage	6 points. Etalonnage non linéaire.



<b>MISE EN ŒUVRE de la validation/vérification</b>	
<b>OPERATEUR (habilitation)</b>	
<b>Procédure de validation</b>	
<b>Date d'évaluation</b>	
<b>Date de mise en service</b>	

# Analyse de risques

- Identifier les facteurs pouvant influencer la qualité des résultats
- Comment les facteurs d'influence sont maîtrisés

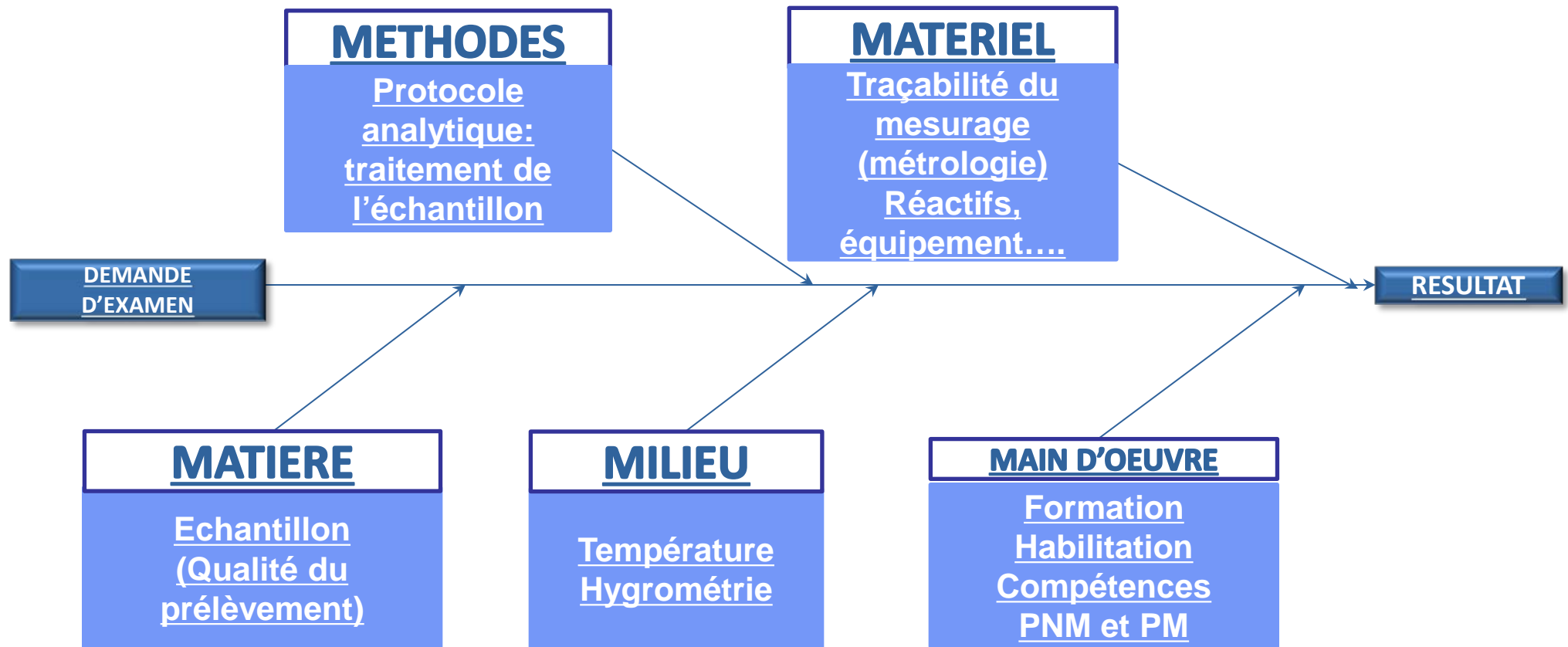
# Maîtrise 5M

- **Matières** (prélèvement, échantillon...) : sérum, urines, LCR, LBA
- **Matériels** : équipements contrôlés , réactif commercialisé
- **Méthodes** : Mode opératoire, procédures révisées périodiquement
- **Main d'œuvre** : techniciens (habilitation dossier HA 13)
- **Milieu** (environnement) maîtrisé pour éviter les faux positifs

# VERIFICATION/VALIDATION DES METHODES

**ANALYSE DES CAUSES/MAITRISE DES RISQUES = ANALYSE DES 5 M**

- Analyse des risques sur les résultats (identification des étapes critiques)
- Pré analytique, Analytique, Post analytique



## MAITRISE DES RISQUES

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<p><b>MATIERE</b>  <b>Type d'échantillon primaire (urine, sang, récipient (tubes, ...), Additifs</b></p>	<p>Identification  Sérum recommandé  Plasma hépariné acceptable  Non acceptable : EDTA</p>	<p>Identito-vigilance  Vérification à réception  Procédure de réception des échantillons : COMB-PRORG 2</p>
<p><b>Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution...</b></p>	<p>centrifugation</p>	<p>Mode opératoire centrifugeuse  COM-D- MOPE 08</p>
<p><b>MAIN D'OEUVRE</b></p>	<p>compétence</p>	<p><b>Préciser les références des procédures et enregistrements.</b>  COMB-B-PRORG 02  BIO-B-FORE-01-hab  Habilitation</p>
<p><b>MILIEU</b>  <b>Conditions ambiantes requises (ex : température, organisation des locaux, éclairage,...)</b></p>	<p>Température ambiante : &lt; 30° C  Pas de lumière directe</p>	<p>Filtres sur les vitres  climatisation  Mesure température ambiante</p>

## MAITRISE DES RISQUES - MATERIELS

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>MATERIELS</b> Référence du réactif (référence fournisseur, lot)	Conservation et Reconstitution des réactifs. Agitation	Vérification date de péremption et date limite d'utilisation après ouverture
Matériaux de référence	stabilité étalons 1 à 5 prêts à l'emploi	Vérification date de péremption et date limite d'utilisation après ouverture
Equipements Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques)	Température de conservation du réactif et calibrants : 2 -10 ° C	Vérification stabilité pendant la période de conservation à la température spécifiée Qualification des enceintes thermostatées

# Exemples de facteurs d'influence

## *Pré-analytique :*

- **Moyens** : tube sous vide, seringue, cathéter
- **Milieu** : types de tubes, condition et durée de transport des échantillons prélevés, conditionnement avant analyse (centrifugation, mode de conservation ...)
- **Méthode de prélèvement** : pli du coude, ordre des tubes, durée garrot
- **Main d'œuvre** : préleveurs, formation, qualification, expérience
- **Matière** : identification, qualité de l'échantillon (lipémique, ictérique, hémolysé, médicaments, ...).

## *Analytique :*

- **Moyens** : réactifs (stabilité, changement de lots...), pipette, automate, (contrôle, maintenance...), informatique (validation ... )
- **Milieu** : conditions ambiantes (température, PA, ...), stress, surcharge de travail, contamination, condition de stockage des échantillons, conditions de stockage des réactifs,
- **Méthode** : mode opératoire de l'analyse, procédure, contrôle de qualité, validation de la méthode, EEQ, robustesse ...
- **Main d'œuvre** : technicien, formation, qualification, expérience, validation des résultats, concentration, acuité visuelle
- **Matière** : échantillons (stabilité, particularités...)

# Exemples de facteurs d'influence

## *Post-analytique :*

- **Matériels** : informatique, maîtrise des systèmes informatiques, serveurs, qualification des logiciels experts,.
- **Milieu** : communication avec les services de soins, conditions de travail, surcharge de travail
- **Méthode** : procédure de validation des résultats, CAT en cas de panne, procédures pour CAT en cas de résultat erroné déjà communiqué, CAT en cas d'anomalie CIQ, en cas d'anomalie EEQ, étude d'impact.
- **Main d'œuvre** : habilitation des biologistes signataires, harmonisation des pratiques de prestation de conseils, formation, qualification, expérience
- **Matière** : prestations de conseils en cas d'anomalie relative aux échantillons

<b>POINTS CRITIQUES MATIERES</b>	<b>Echelle de criticité</b>	<b>Eléments à maîtriser</b>	<b>Moyens de maîtrise</b>
<b>Identification</b>	<b>5</b>	<b>Formation du personnel</b>	PR H : formation/habilitation Organisation, identitovigilance
<b>Préparation du patient</b>	<b>3</b>	<b>Information des patients et des /préleveurs</b>	Instructions, manuel de prélèvement
<b>Type de container</b>	<b>3</b>	<b>Formation des préleveurs</b>	Instructions Manuel de prélèvement
<b>Nature et volume échantillon</b>	<b>3</b>	<b>Vérification à réception</b>	PR HP formation/habilitation des personnels Critères de refus et d'acceptation
<b>Délai et T° avant analyse</b>	<b>4</b>	<b>Maîtrise logistique (navettes, enceintes de transport)</b>	Essais à produire Contrôle des températures
<b>Prétraitement</b>	<b>1</b>	<b>Conditions, contrôles</b>	PR HP formation/habilitation des personnels Vérifications centrifugeurs
<b>Détection des défauts (caillot, contamination)</b>	<b>2</b>	<b>Choix et maîtrise des analyseurs</b>	Instructions d'utilisation
<b>Conservation après analyse</b>	<b>4</b>	<b>Instructions délais et température</b>	Instructions, audits Manuel de prélèvement PR HP formation/habilitation des personnels
<b>Interférences</b>	<b>2</b>	<b>Formation des préleveurs Vérification à réception</b>	Instructions, critères PR HP formation/habilitation des personnels

# MAIN D'OEUVRE

**Préleveurs** : formation, qualification, expérience, définition des tâches, des compétences, habilitation.

Enregistrements des preuves

Procédure de réhabilitation en cas d'absence prolongée

**Techniciens** : formation, qualification, expérience, concentration, acuité visuelle, définition des compétences, habilitation

Enregistrements des preuves

Procédure de réhabilitation en cas d'absence prolongée

**Biologistes** : formation, qualification, expérience, définition des compétences, habilitation, validation des résultats

Enregistrements des preuves

Procédure de réhabilitation en cas d'absence prolongée

# MATERIELS - METROLOGIE

- Nature des matériels utilisés pour les prélèvements
- Inventaire, cahier de vie
- Procédures d'achat, réception
- Mode opératoire de l'appareil et maintenances
- Enregistrements
- Procédure et appareil de remplacement
- Réactifs (stabilité, changement de lots...), pipette, automate, (maintenance...), informatique (validation ... )
- Evaluation des fournisseurs
- Contrôle des lots de réactifs
- Fréquence du CIQ
- Souches de référence, matériels de référence
- EEQ

# VERIFICATION/VALIDATION DES METHODES

## Exigences normatives et réglementaires (1)

ISO 15189

SH REF 02

SH GTA 01

Anne VASSAULT

- Dans le cas de méthodes reconnues → validation = vérification sur site
- Accréditation portée de type A → changement d'analyseur/réactifs sans nouvelle évaluation spécifique du COFRAC : procédure de gestion de la Portée flexible (le principe de la méthode est semblable à celui de la portée d'accréditation).
- Utilisation d'un équipement biomédical depuis plusieurs mois /années) : il est possible d'établir un dossier de validation de méthodes à partir des données disponibles accumulées.
- Connaissance de l'IM → aide d'orientation diagnostique / thérapeutique

validation des méthodes

# VERIFICATION/VALIDATION DES METHODES

## Exigences normatives et réglementaires (2)

ISO 15189

SH REF 02

SH GTA 01

Anne VASSAULT

- Cas de l'utilisation de plusieurs équipements → comparabilité à assurer (initialement + intervalle défini)  
Critères de validation technique (critères de cohérence/similitude = règle du 2,8 x ET répétabilité).
- Cas de changement des équipements → comparaison (transfert des méthodes)
- Cas d'incapacité ponctuelle → CAT pour fournir les résultats dans délais convenus : procédure dégradée
- Nécessité d'assurer le maintien des compétences pour des examens réalisés rarement
- Conservation des dossiers de vérification/validation pendant la durée de l'utilisation de la méthode + 18 mois.
- Conservation DVM : durée de l'utilisation de la méthode + 18 mois
- Procédure rappel résultat erroné ?

# REFERENTIELS DE VALIDATION / VERIFICATION DE METHODES

## Textes normatifs, réglementaires et recommandations

- Normes NF EN ISO : 5725, 17025, **15189**
- COFRAC SH REF 02, SH GTA 04/FORM 43, SH GTA 06, SH GTA 14
- SFBC : recommandations pour l'accréditation

## Particularités de la Biologie moléculaire :

**Norme AFNOR XP V03-020-1** : Lignes directrices et exigences pour les méthodes basées sur la détection des acides nucléiques

**NF EN ISO 21569** : Méthodes qualitatives basées sur l'utilisation des acides nucléiques

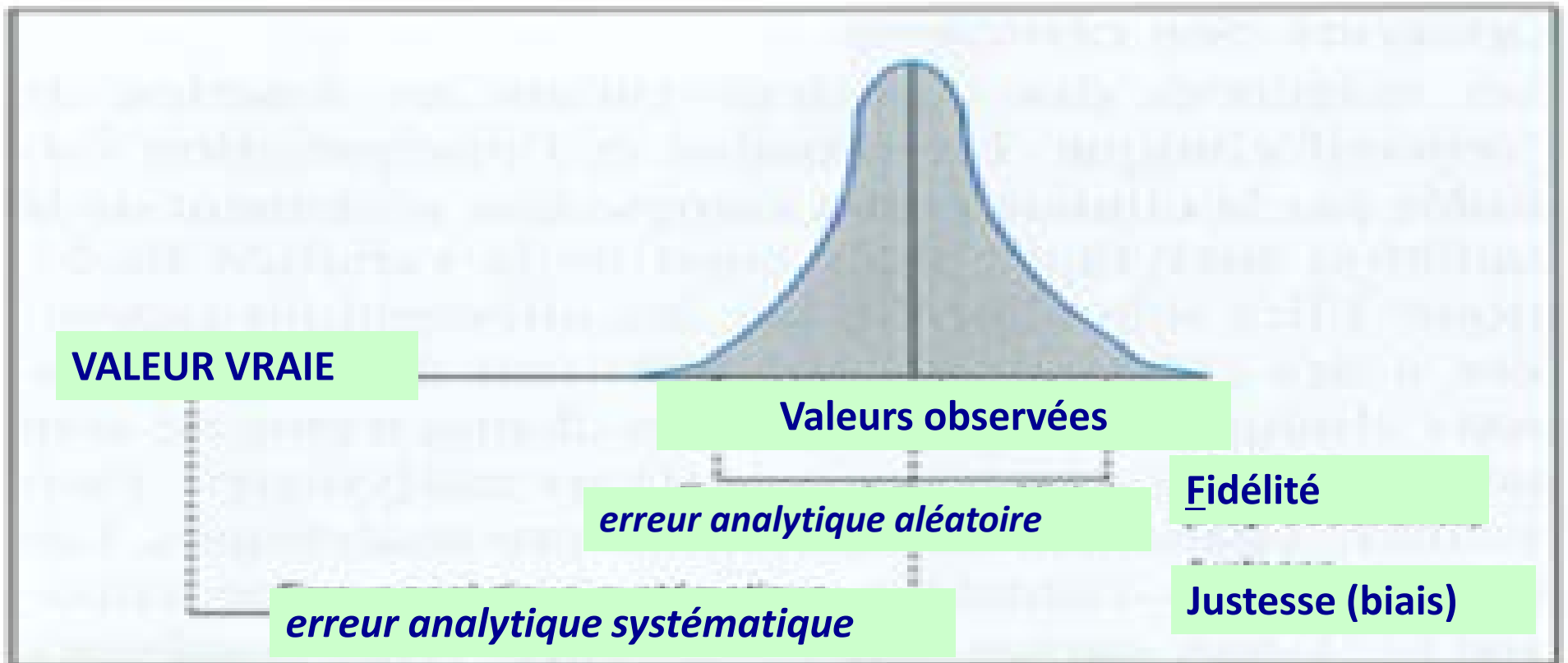
**Norme NF EN ISO 21570** : Méthodes quantitatives basées sur l'utilisation des acides nucléiques

## •Revue bibliographique, consensus des sociétés savantes etc.

**-Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. Groupe de travail SFBC. A. Vassault, D. Grafmeyer et les membres de la commission Validation de la SFBC. *Ann Biol Clin* 1999. 57: 685-95**

**-Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse. Qualité et accréditation en biologie médicale. A. Vassault, A. Hulin, E. Chapuzet, J. Arnaud, C. Giroud et les membres du sous-groupe 2 analytique de la SFBC\* *Ann Biol Clin* 2010 ; 68 (Hors série no 1) : 247-294. Recommandations pour l'accréditation. SFBC coordonné par M. Vaubourdolle**

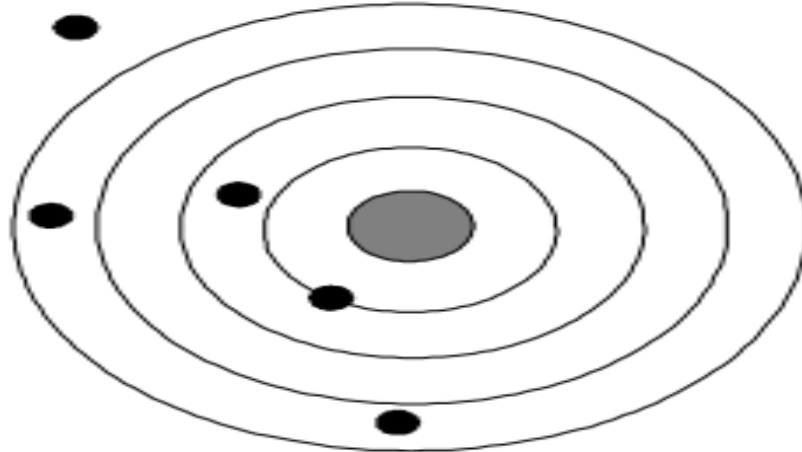
# Fiabilité d'une méthode : fidélité et justesse



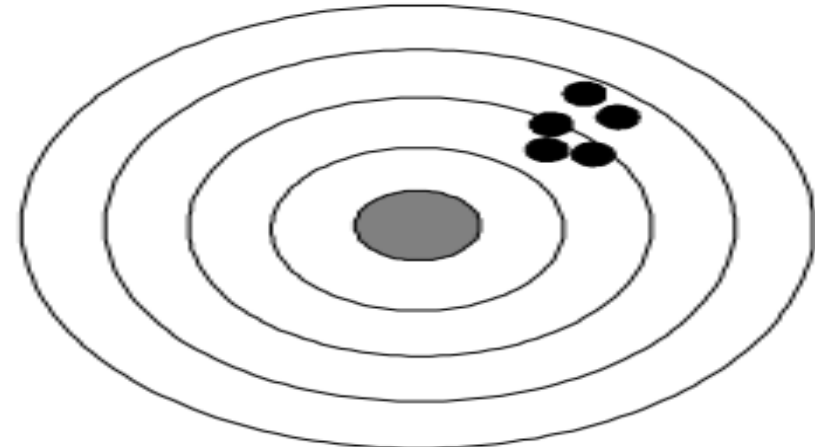
# VERIFICATION/VALIDATION DES METHODES

- EVALUER LES PERFORMANCES DE LA METHODE : LA JUSTESSE ET LA FIDELITE

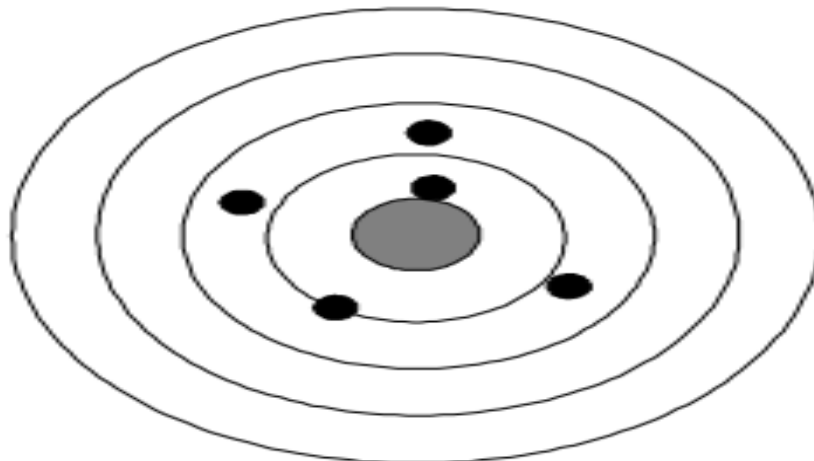
OBJE



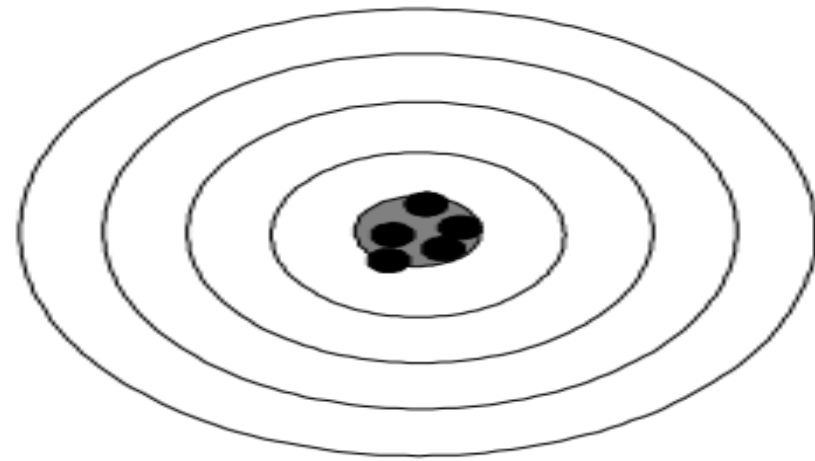
**Ni juste, ni fidèle :**  
Erreurs systématique et aléatoire importantes.



**Fidèle mais pas juste :**  
Erreur aléatoire (incertitude) faible  
Erreur systématique importante



**Juste mais pas fidèle :**  
Erreur systématique négligeable devant une  
Erreur aléatoire importante (grande incertitude)



**Juste et fidèle (exact) :**  
Erreur systématique négligeable  
Erreur aléatoire (incertitude) faible



# Fidélité

Qualité de l'accord entre des mesures répétées du même spécimen dans des conditions précisées

- dans une même série : reproductibilité intra-série (répétabilité)
- des jours différents : fidélité intermédiaire. Reproductibilité intralaboratoire

*Évaluation : écart type et CV*

# Fidélité - répétabilité

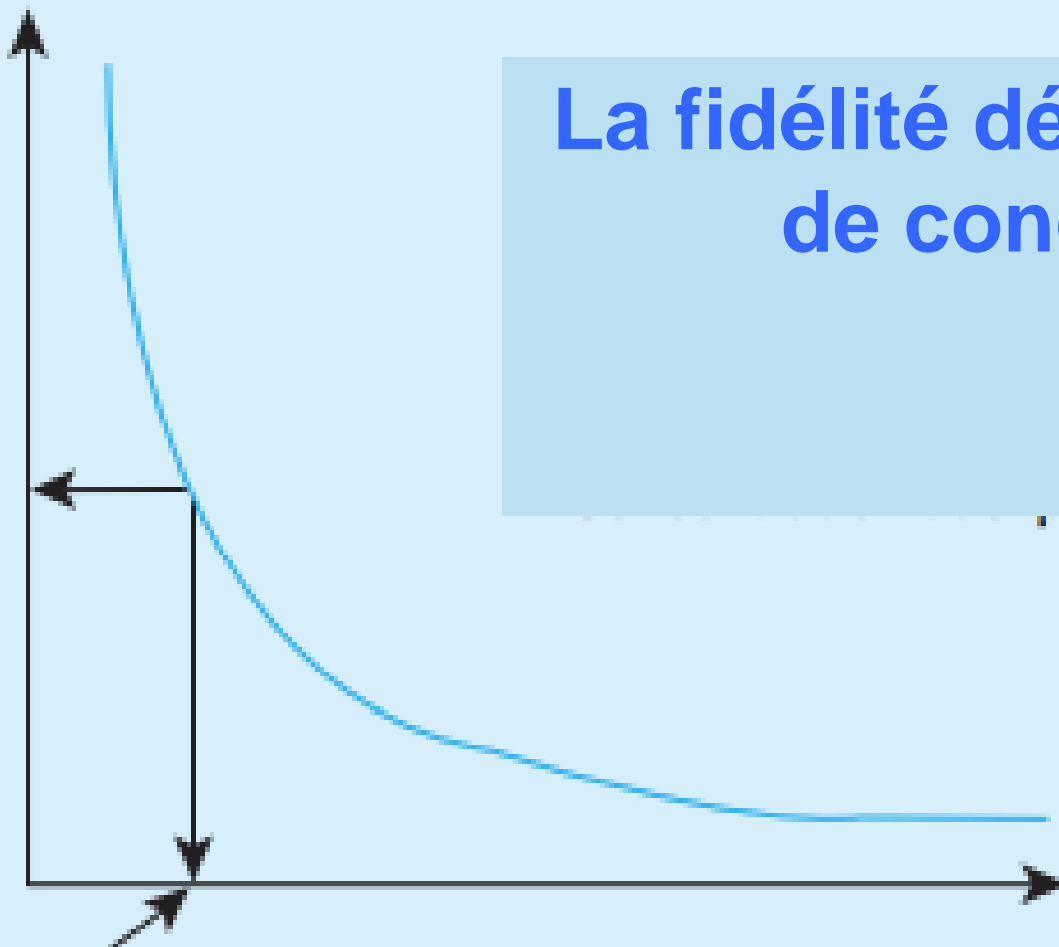
Echantillon	Nombre (n)	Moyenne (m) µg/l	Ecart type (ET) µg/l	CV %	Spécifications Fournisseur (CV %)	Limites acceptables* (CV %)	Conclusion
Niveau 1	30	0,8	0,08	10	< 15	< 15	V
Niveau 2	30	5,5	0,02	3,6	< 6	< 5,3	V

Exemple : PSA

\*SFBC, Ann Biol Clin, 1999, 57, 685-695



Fidélité (CV%)



La fidélité dépend du niveau de concentration

Limite de quantification

Concentration

# Choix des limites acceptables

établies :

- pour chaque analyse
- en terme de fidélité, de justesse, d'exactitude
- pour différents niveaux de concentration
- en tenant compte :
  - de l'état de l'art
  - des variations intra/inter-individuelles

# Quels sont les critères d'acceptabilité à retenir?

## Dépendent

- ✓ du type d'analyses
- ✓ du niveau de concentration
- ✓ du niveau des seuils de décision médicale

## Différentes limites d'acceptabilité :

- ✓ Fidélité
- ✓ Justesse
- ✓ Erreur totale

## Prise en compte

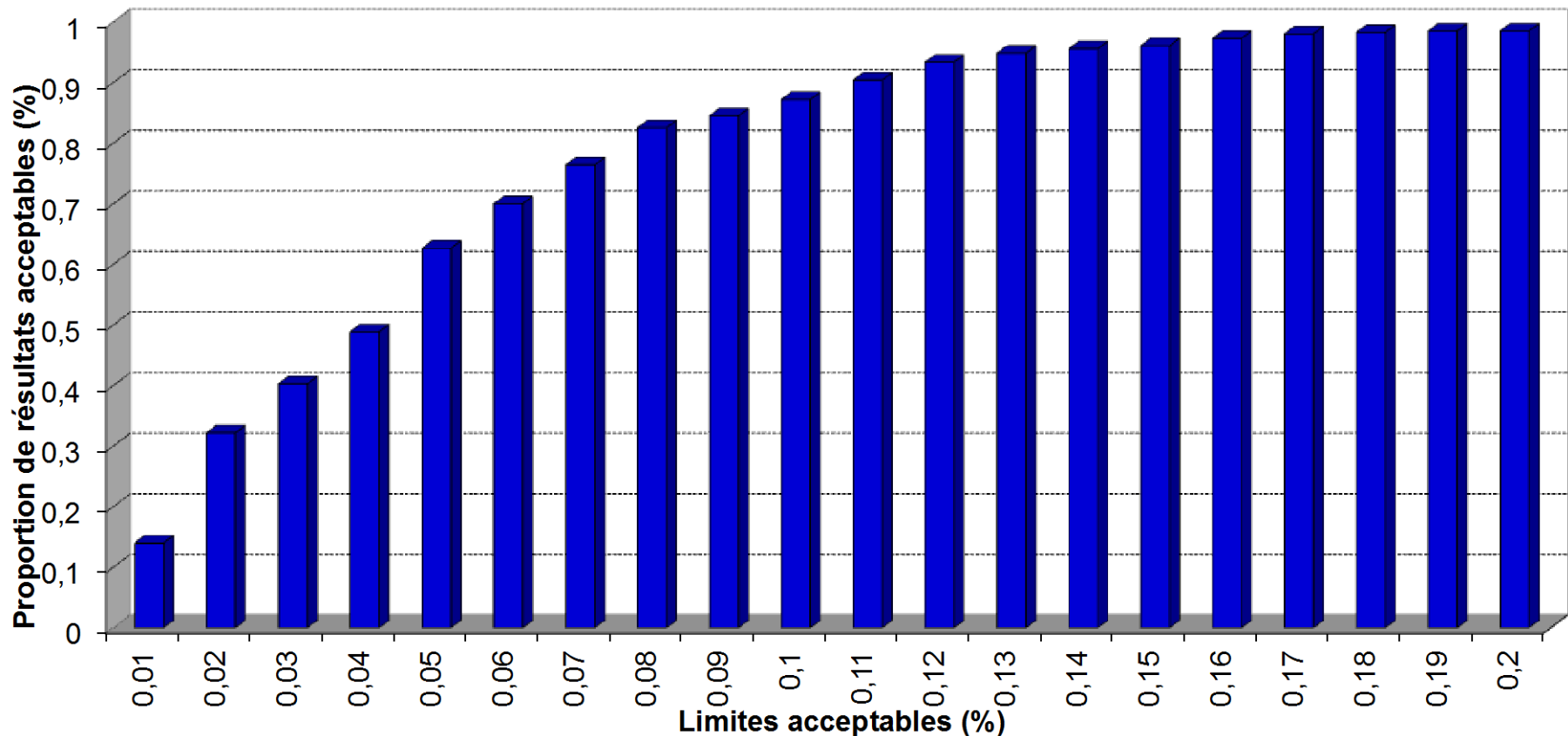
- ✓ Etat de l'art
- ✓ Variations biologiques (intra-individuelles et inter-individuelles)

# État de l'art :

- Performances analytiques obtenues, à un moment donné, dans un certain nombre de laboratoires (20 à 50 % des laboratoires les plus performants)
- Résultats des enquêtes de contrôle de qualité intra et/ou inter-laboratoires.
- Approche pragmatique et facile à définir
- Comportement des spécimens de contrôle par rapport aux spécimens biologiques.

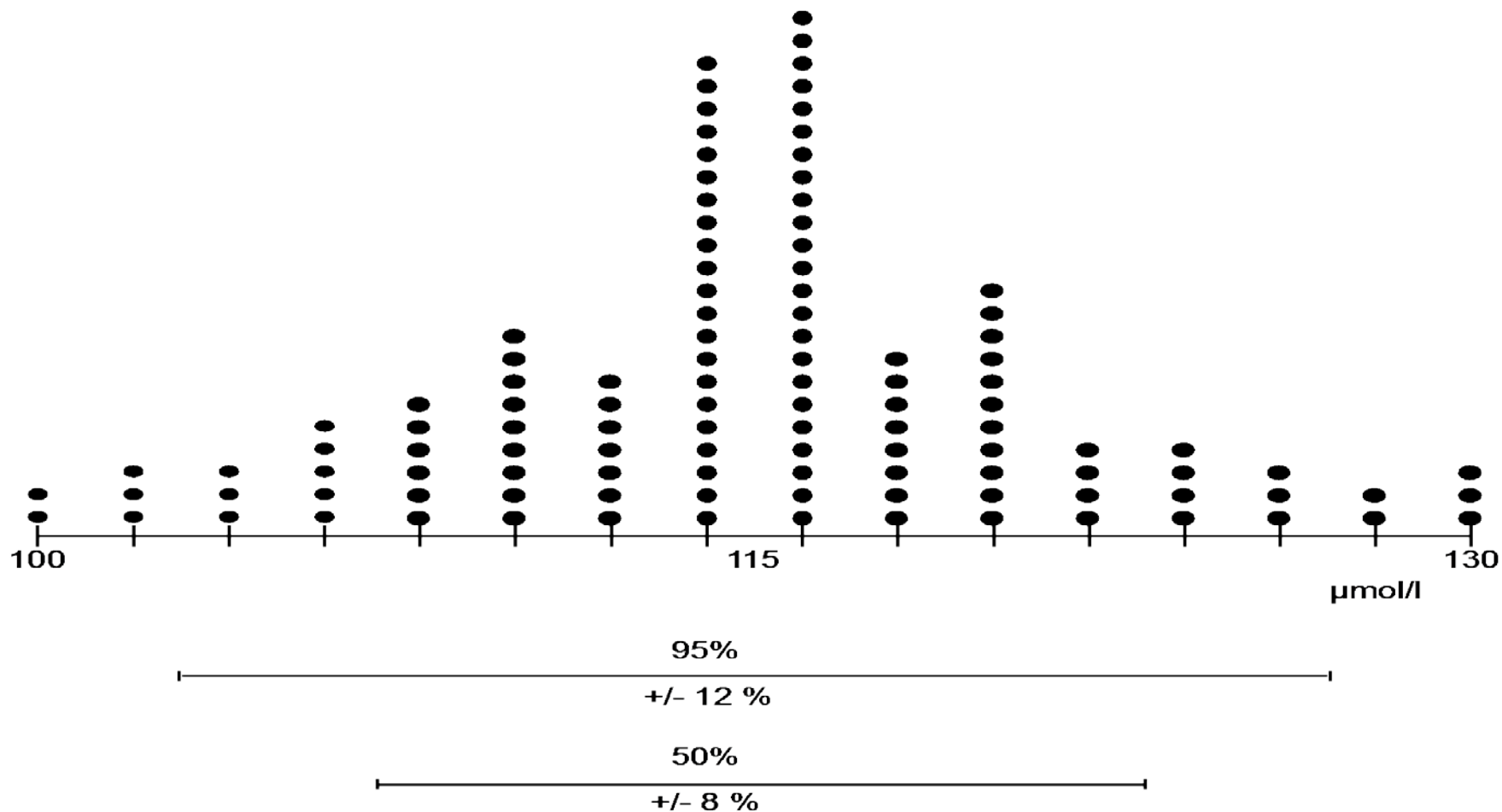
# Limites acceptables d'exactitude - créatinine

**ASQUALAB : C.Q. ponctuels 20122 - Créatinine - Lot BD2**  
(nombre de participants : 141, moyenne générale 167  $\mu\text{mol/l}$ )  
**Variation du nombre de résultats acceptables en fonction de la L.A.**



**CREATININE : CRITERES D'ACCEPTABILITE JUSTESSE**  
**BIAIS INTERLABORATOIRE :**  
**Différences (%)**

(n = 102 laboratoires)



# DEFINIR LES OBJECTIFS DE PERFORMANCE (1)

- Par rapport aux données « fournisseurs » (spécifications) pour les méthodes CE
- Par rapport aux données de l'état de l'art si existantes :
  - SFBC **Généralement : CV répétabilité = 0,75 x CV reproductibilité**

Tableau 3. Limites d'acceptabilité proposées

1	2	3	4	5			6	7			8			9			10			11						12		
				Niveaux				Inter- valle %	Répétabilité CV %			Reproductibilité CV %			Justesse %			Inexactitude %			Comparaison de techniques							
				Bas	Moyen	Élevé			Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen
<b>Dosages plasmatiques</b>																												
Acide urique	µmol/l	10-1 000	150-500	150	300	450	15	2,7	2,4	2,1	3,6	3,2	2,8	7,1	6,2	5,3	8,0	7,0	6,0	23	41	53	21	37	48			
Ammonium	µmol/l	1-1 000	10-50	50	100	200	20	5,3	4,5	3,8	7,0	6,0	5,0	7,1	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	15	25	42	7	13	25			
Bicarbonates	mmol/l	5-50	20-29	10	20	30	15	7,5	6,0	4,5	10,0	8,0	6,0	5,6	6	5,3	12	10,0	8,0	4,2	6,8	7,6	1,3	2,4	3,2			
Bilirubine	µmol/l	5-400	5-17	15	50	150	15	5,1	4,2	3,2	6,8	5,6	4,2	13,4	10,6	11,2	15,0	12,0	12,0	4,3	11,9	26,7	4,0	10,6	23,7			
Calcium total	mmol/l	0,50-5,00	2,25-2,60	1,80	2,40	3,40	4	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7	2,3	2,3	2,3	0,04	0,07	0,10	0,03	0,05	0,07			



# DEFINIR LES OBJECTIFS DE PERFORMANCE (2)

Variations intra intra individuelles / inter individuelles (C. RICOS)

Note on abbreviations:

CV<sub>w</sub> = within-subject biologic variation

CV<sub>g</sub> = between-subject biologic variation

I = desirable specification for imprecision

B = desirable specification for inaccuracy

TE = desirable specification for allowable total error

$$\underline{I} = \text{Imprécision} = \text{CV repro} = 0,5 \text{ CV}_w$$

$$\text{B\%} = \text{biais justesse} = 1,96 (\text{CV}_w^2 + \text{CV}_g^2)^{0,5}$$

$$\text{TE\%} = \text{erreur totale} = 1.65 (\text{imprecision}) + \text{bias}$$

	Analyte	Biological Variation		Desirable specification		
		CV <sub>w</sub>	CV <sub>g</sub>	I(%)	B (%)	TE (%)
S-	Albumin	3.1	4.2	1.6	1.3	3.9



# OBJECTIFS DE PERFORMANCE

Variations intra intra individuelles / inter individuelles (C. RICOS)

Note on abbreviations:

CVw = within-subject biologic variation

CVg = between-subject biologic variation

I = desirable specification for imprecision

B = desirable specification for inaccuracy

TE = desirable specification for allowable total error

$$I = \text{Imprécision} = \text{CV repro} = 0,5 \text{ CV}_w$$

$$B\% = \text{biais justesse} = 1,96 (\text{CV}_w^2 + \text{CV}_g^2)^{0,5}$$

$$\text{TE}\% = \text{erreur totale} = 1.65 (\text{imprecision}) + \text{bias}$$

HBA1c	Variations biologiques		Désirable		
	CVw	CVg	I (%)	B (%)	TE (%)
	1.9	5.7	0.9	1.5	3.0

Qualité optimale	$I < 0,25 \text{ CV}_w$	Biais $< 0,125 (\text{CV}_w^2 + \text{CV}_g^2)^{0,5}$
Qualité souhaitable	$I < 0,50 \text{ CV}_w$	Biais $< 0,250 (\text{CV}_w^2 + \text{CV}_g^2)^{0,5}$
Qualité minimale	$I < 0,75 \text{ CV}_w$	Biais $< 0,375 (\text{CV}_w^2 + \text{CV}_g^2)^{0,5}$



# DEFINIR LES OBJECTIFS DE PERFORMANCE (3)

- GEHT ( voir site [www.GEHT.org](http://www.GEHT.org))
- Recommandations des autorités sanitaires (HAS, ANSM...)
- Recommandations des sociétés savantes (conférences de consensus)
- Autres : bibliographie, publications, revues, référentiels de validation de méthodes etc.



# Evaluation des performances de la méthode

## **OBJECTIF**

**Démontrer/apporter la preuve que la méthode employée au laboratoire depuis mois/années (la formalisation du dossier de vérification/validation était souvent insuffisante) présente des performances analytiques satisfaisantes justifiant son utilisation pour le diagnostic, la surveillance, la prévention des maladies pour des patients.**

- Pour chaque étape, préciser comment les résultats ont été obtenus**
- Donner une conclusion : « conforme aux objectifs recherchés »**
- Décision de mise en service de la méthode (date et signature)**

<b>Criteria</b>	<b>VERIFICATION</b>		<b>VALIDATION</b>	
<b>METHODE</b>	<b>QUANTITATIVE</b>	<b>QUALITATIVE</b>	<b>QUANTITATIVE</b>	<b>QUALITATIVE</b>
<b>FIDELITE</b>	A évaluer	A évaluer?	A évaluer	A évaluer?
<b>JUSTESSE/EXACTITUDE</b>	A évaluer	A évaluer?	A évaluer	A évaluer?
<b>ANALYSE des risques et moyens de maitrise</b>	Maitrise des risques	Maitrise des risques	Maitrise des risques	Maitrise des risques
<b>METHOD COMPARISON</b>	A évaluer	A évaluer	A évaluer	A évaluer
<b>DOMAINE DE MESURE</b> Limite de quantification et limite de détection	A évaluer	-	A évaluer	-
<b>Contamination Inter-échantillon</b>	-	-	A évaluer si nécessaire	A évaluer si nécessaire
<b>Intervalle de référence</b>	BIBLIOGRAPHIE	BIBLIOGRAPHIE	A évaluer	-
<b>ROBUSTESSE</b>	-	-	A évaluer	A évaluer
<b>STABILITE des réactifs</b>	-	-	A évaluer	A évaluer
<b>Sensibilité et spécificité diagnostique</b>	BIBLIOGRAPHIE	BIBLIOGRAPHIE	A évaluer	A évaluer

- **PORTEE A - Vérification des méthodes**

# Fidélité intermédiaire (ex : reproductibilité jour à jour)

Echantillon	Nombre (n)	Moyenne (m) mg/l	Ecart type (ET) mg/l	CV %	Spécifications Fournisseur (CV %)	Limites acceptables* (CV %)	Conclusion
Niveau 1	30	0,8	0,10	12,5	< 15	20	V
Niveau 2	30	5,5	0,30	5,4	< 10	7	V

Exemple : PSA

\* SFBC, Ann Biol Clin, 1999, 57, 685-695



**Justesse** : Qualité de l'accord entre la moyenne d'une série de mesures et la valeur vraie. Permet une évaluation de l'erreur systématique (VIM 2012).

*Évaluation : biais*

**Exactitude** : Qualité de l'accord entre la valeur observée et la valeur vraie (VIM 2012)

*Évaluation : biais (exprimé en valeur absolue ou en pourcentage)*

# Justesse

Echantillon	Nombre (n)	Moyenne observée mg/l	Valeur cible mg/l	Biais mg/l	Biais (%)	Limites acceptables* (Biais) %	Conclusion
Niveau 1	8	0,8	0,7	+0,1	14	< 22	V
Niveau 2	8	5,5	5,0	+0,5	10	< 13	V

Exemple : PSA

\*SFBC, Ann Biol Clin, 1999, 57, 685-695



# Evaluation de la contamination d'un échantillon à l'autre

Protocole : **EEE BBB EEE BBB EEE BBB**

Calculer moyenne et écart type des échantillons **susceptibles d'être contaminés** et ceux des échantillons **non contaminés**.

Ex : hCG

Moyenne B = 24 (ET : 1,2)

Moyenne B = 45 (ET : 3,6) (test t significatif)

Moyenne E = 150 000

Calcul de la contamination :  $B-B/E-B = 0,014 \%$

# VERIFICATION/VALIDATION INITIALE DES METHODES

## ETUDE DE LA CONTAMINATION (INTER-ECHANTILLON) – (A/B)

**Principe** : Evaluer l'importance de l'éventuelle contamination d'un échantillon par un autre et évaluer la capacité de décontamination du système analytique. Cette évaluation permet de prendre les mesures correctives appropriées.

Pour des examens pour lesquels il existe des variations physiopathologiques importantes (ex : hCG) en portée A/B

**Moyens mis en œuvre** : **EEE BBB EEE BBB EEE BBB**

- Dans une même série, mesurer 3 fois un échantillon « très élevé E » et 3 fois un échantillon « BAS »
- Répéter cette séquence au moins 3 fois
- Faire la moyenne des x B1 (mB1) et des x B3 (mB3) et des x E (mE)
- Pratiquer un test t de Student entre les valeurs des échantillons B1 et B3
- S'il est significatif, calculer le % de contamination

$$\text{Contamination \%} = \frac{(B3-B1)}{(E-B)} \times 100 \text{ contamination}$$



## Exemple d'évaluation de la contamination d'un échantillon à l'autre

- **Remarque** : Si la contamination est avérée il est intéressant de savoir à partir de quelle concentration il y a un risque de contamination ? Sur combien d'échantillon(s), le transfert persiste?
- Attention, ce phénomène peut varier dans le temps en fonction des maintenances.
- **Ex : hCG**

Protocole : EEE BBB EEE BBB EEE BBB

Calculer moyenne et écart type des échantillons susceptibles d'être contaminés et ceux des échantillons non contaminés.

Moyenne B = 24 (ET : 1,2)

Moyenne B = 45 (ET : 3,6) (test t significatif)

Moyenne E = 150 000

Calcul de la contamination :  $(B-B)/(E-B) \times 100 = 0,014 \%$

# Comparaison de techniques

- Comparer les résultats de 2 techniques est une opération fréquente en biologie clinique
- Si l'une des 2 techniques est une technique de référence (à ce titre elle fournit des résultats exacts), la technique à tester peut être calibrée par rapport à elle, en utilisant une analyse de régression.
- L'utilisation fréquente du coefficient de corrélation dans ce domaine ne correspond en aucun cas à une mesure d'agrément des résultats :

## Comparaison de techniques modalités opératoires

- mesure simultanée par les deux techniques
- mesure en simple (ou en double)
- relevé des résultats sur les feuilles de recueil prévues
- détection immédiate des discordances
- vérifications immédiates le cas échéant

# Comparaison de techniques : choix des spécimens

- **Représentatifs des spécimens à analyser**
- **Stabilité : conditions à respecter :**
- **Répartition des niveaux de concentration dans la gamme de mesure en fonction des valeurs rencontrées en physiopathologie**
- **Effectif : minimum 40**
- **Spécimens particuliers : troubles, hémolysés, ictériques, médicaments**

# Comparaison de techniques : exploitation des résultats

- **Analyse des résultats individuels :**

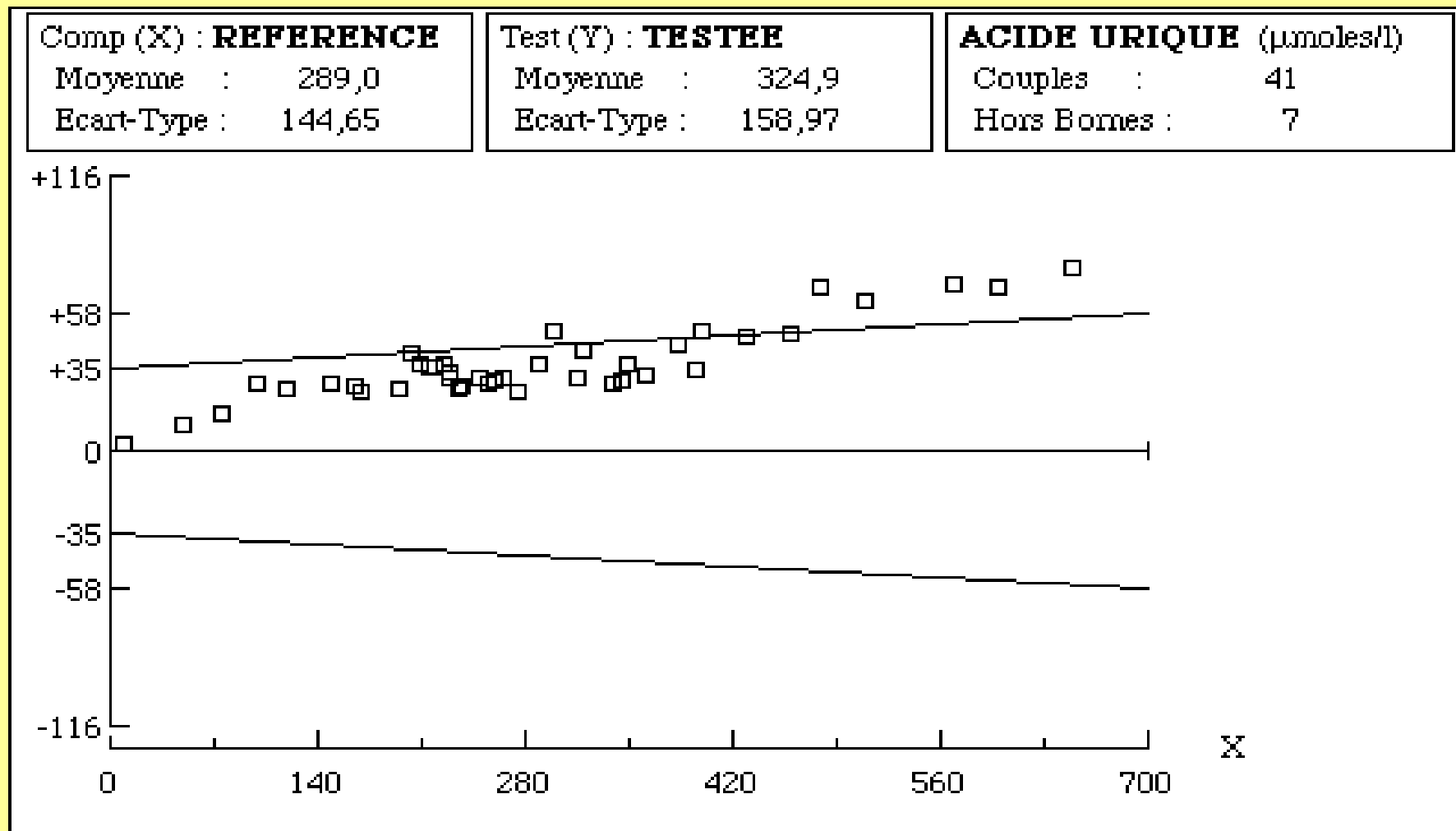
- graphe des différences :  $\square \neq y_i - x_i$
- graphes des rapports :  $y_i/x_i$

*par rapport à des limites acceptables*

- **Analyse des résultats globaux :**

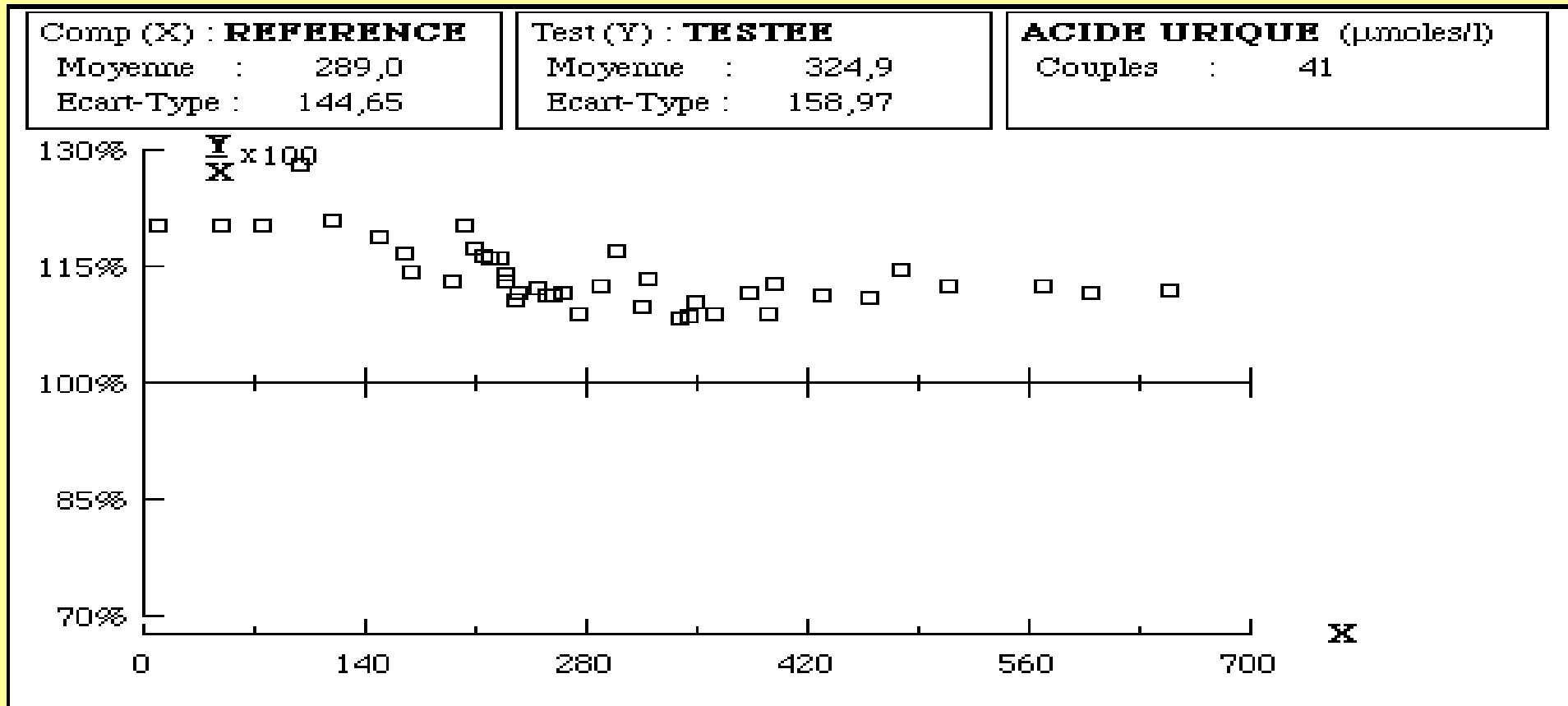
- diagramme de dispersion des valeurs
- calcul de la droite de régression adaptée :
  - prise en compte de l'imprécision des 2 techniques
  - robuste par rapport aux imperfections de la répartition
  - étude de plusieurs zones de concentrations, le cas échéant

# Comparaison de techniques : graphe des différences



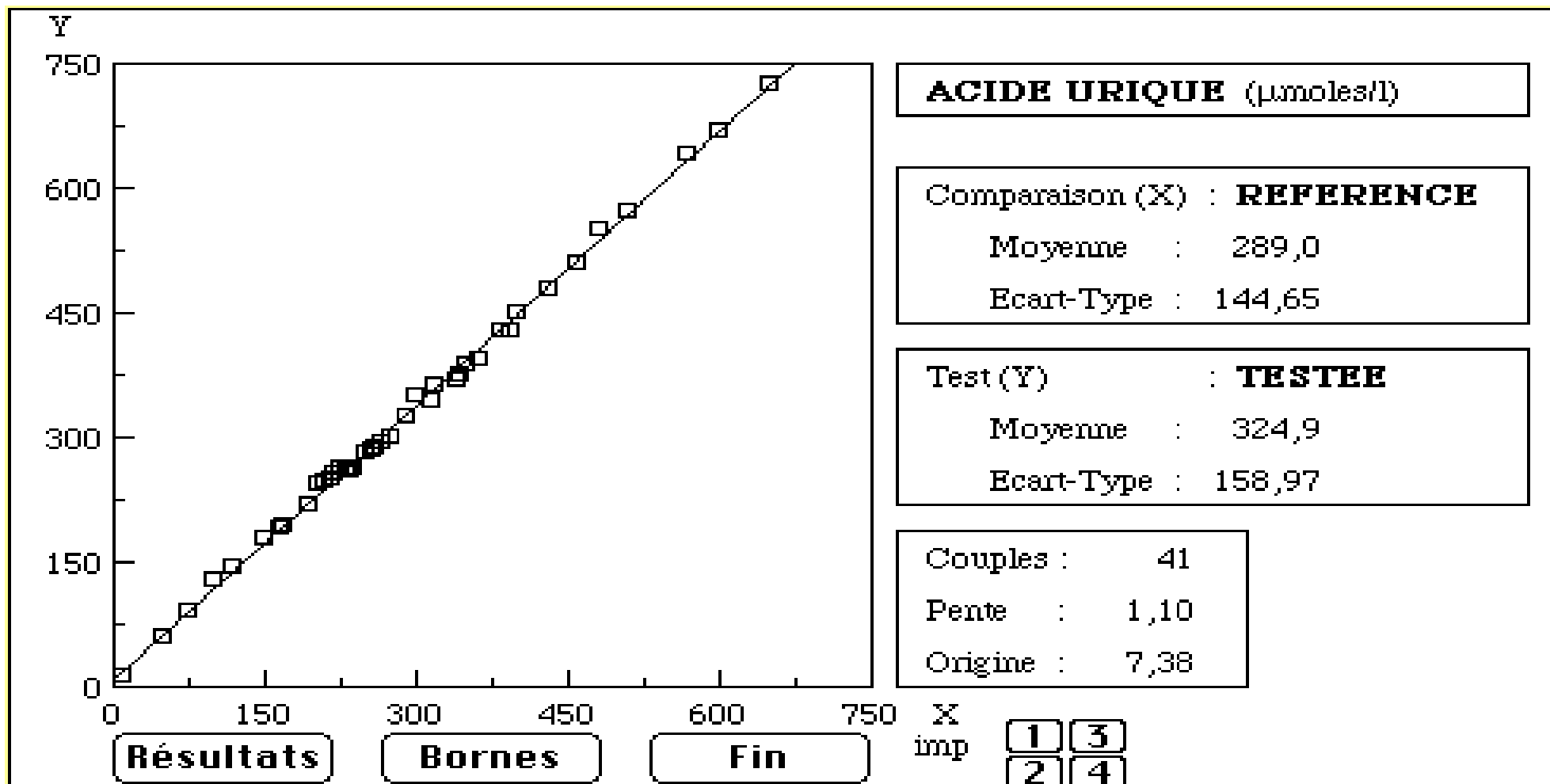
# Comparaison de techniques : graphe des rapports

Ex : dosage de l'acide urique



# Comparaison de techniques : droite de régression

- Dosage de l'acide urique

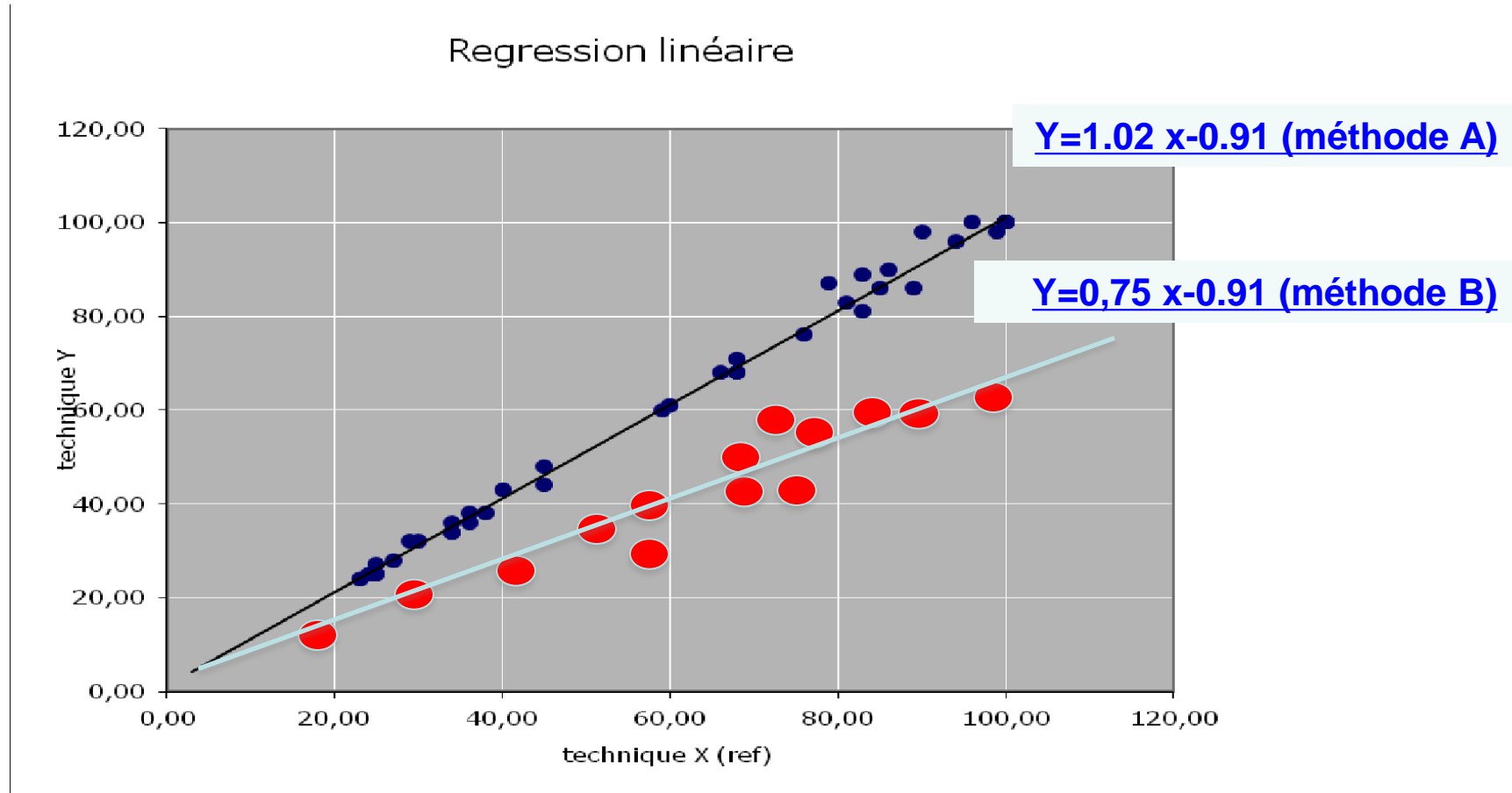


# Comparaison STA R Evolution/STA Satellite

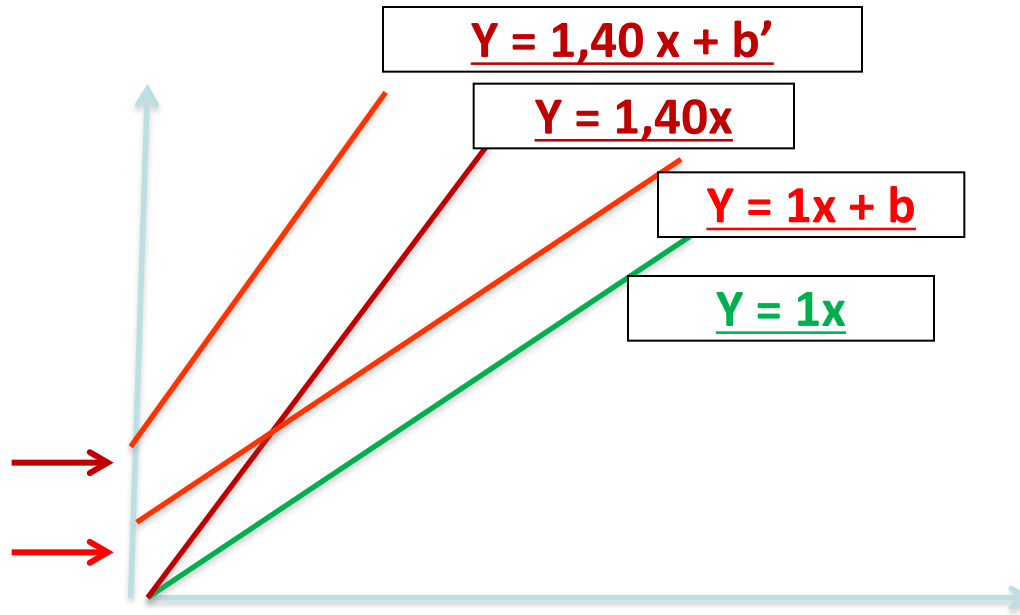
Automate X = STA Satellite

Automate A = STA-R Evolution

Automate B = STA-R Evolution



# Interprétation droite de régression



# Régression linéaire

- Rend compte des différences systématiques, proportionnelles ou constantes
- Différentes droites peuvent être calculées :
  - la variable  $y$  est mesurée avec une certaine erreur, mais la variable  $x$  (indépendante) est mesurée et connue sans erreur. Ceci conduit à deux droites dépendantes de la variable choisie (droite de régression des moindres carré). Ceci peut être éliminé si l'on utilise une méthode prenant en compte les erreurs des deux variables (droite de régression selon Deming)
- Un compromis : droite de régression des moindres rectangles (simple, mais répartition critique) :

$$y = bx + a$$

$$a = my - b.mx$$

$$b = S_y/S_x$$

*Droite de régression selon Passing Bablock*

# Détection immédiate et identification d'éventuelles erreurs pour définir des actions correctives

**Erreur systématique** : *estimée par le biais.*

- résultats anormalement abaissés ou augmentés
- affecte tous les spécimens d'une valeur du même ordre de grandeur
  - soit proportionnelle à la concentration de l'analyte à doser : *erreur systématique proportionnelle*
  - soit indépendante de la concentration de l'analyte à doser : *erreur systématique constante*

**Erreur aléatoire** : *estimée par le calcul de l'écart type.*

- résultats anormalement abaissés ou augmentés fortuitement
- sans affecter tous les spécimens analysés d'une valeur de même signe et du même ordre de grandeur.

# Erreur systématique proportionnelle à la concentration

UNITES	Méthode A	Méthode B	(A-B) Différence (biais) En unité	(A-B) Biais en pourcentage	Commentaires
	5	5,5	- 0,5	- 10 %	
	7	7,7	- 0,7	- 10%	Hémolysé
	15	16,5	- 1,5	- 10%	

# Erreur systématique constante

UNITES	Méthode A	Méthode B	(A-B) Différence (biais) En unité	(A-B) Biais en pourcentage	Commentaires
	5	5,5	- 0,5	- 10 %	
	7	7,5	- 0,5	- 7%	Hémolysé
	15	15,5	- 0,5	- 4%	

# Comparaison des résultats des méthodes

<b>Données bibliographiques</b>	
<b>Méthode précédemment utilisée ou utilisée en parallèle, EMBD</b>	Préciser sa nature et son mode étalonnage (traçabilité)
<b>Nombre de valeurs étudiées</b>	N = 30 ou autre
<b>Intervalle des valeurs étudiées</b>	Valeurs min et max observées
<b>Méthode d'exploitation des résultats</b>	
<b>Diagramme des différences Diagramme des rapports Equation de la droite de régression</b>	Inclure les figures et les conclusions
<b>Conclusion et dispositions</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Si il existe des différences, décrire les dispositions prises</li><li>- Si les différences observées sont comprises dans des limites compatibles avec une interprétation appropriée des résultats, la nouvelle méthode peut se substituer à la précédente sans disposition particulière.</li></ul>

# Method comparison.

## Semi-quantitative method

### IGG TOXOPLASMOSE n = 40

	NOUVELLE METHODE CANDIDATE	Positifs	Négatifs
METHODE A REMPLACER			
Positifs		20 (50 %)	1 (2,5 %)
Négatifs		2 (5 %)	17 (42,5 %)



# Antigène aspergillaire comparaison méthode mode automatique/mode manuel

**TOTAL : 78 échantillons évalués avec les 2 méthodes.**

**-NEGATIFS avec les 2 méthodes mode automatique /manuel :**

**n= 49 soi  $49/78 = 63\%$**

**-POSITIFS avec les 2 méthodes mode automatique /manuel**

**n = 24 avec les 2 soit  $24/78= 31\%$**

**- 5 discordances dans le même sens : 5 négatifs en automatique sont positifs en manuel = 6 %**

<b>N=78</b>	<b>NEGATIF</b>	<b>POSITIF</b>
Méthode manuelle	<b>49 (63%)</b>	29 (37 %)
Méthode automatisée	54 ( 69%)	<b>24 (31 %)</b>

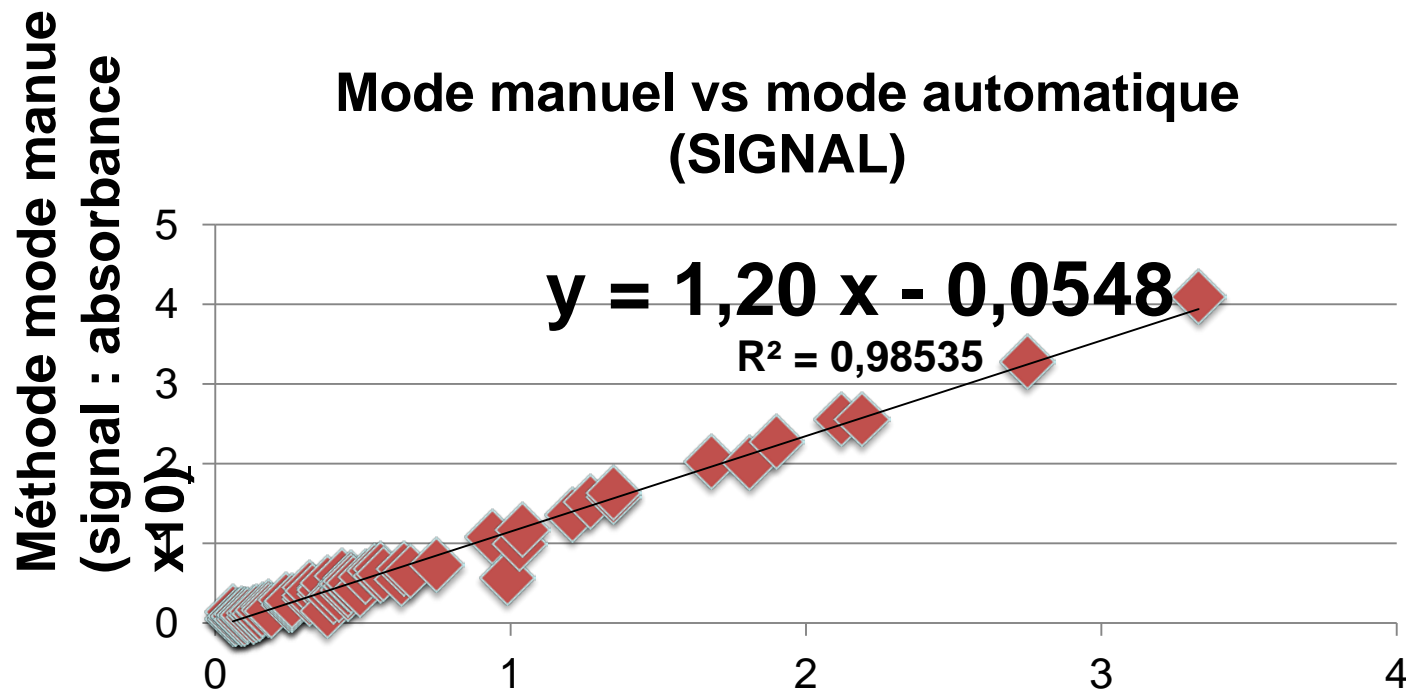
# Antigène aspergillaire (n = 78)

	MODE AUTOMATISE	POSITIF	NEGATIF
MODE MANUEL			
POSITIF		24	5
NEGATIF		0	40



# Antigène aspergillaire : comparaison des signaux observés en méthode mode automatisé/mode manuel

L'équation de la droite de régression définissant la relation entre les signaux (absorbance) des 2 techniques confirme qu'il existe une différence systématique proportionnelle à la concentration de 20 % entre les résultats des signaux fournis par les 2 méthodes. La méthode automatique fournit des signaux plus bas de 20%.



# Antigène aspergillaire comparaison des résultats méthode mode automatisé/mode manuel

- L'équation de la droite de régression définissant la relation entre les signaux (absorbance) des 2 techniques confirme qu'il existe une différence systématique proportionnelle à la concentration de 20 % entre les résultats des signaux fournis par les 2 méthodes. La méthode automatique fournit des signaux plus bas de 20%.
- Les signaux sont plus faibles avec la méthode automatisée de 20%, le seuil de positivité ne peut donc pas être le même
- 2 solutions :
  - soit modifier la méthode en modifiant le rapport sérum/réactif,
  - soit modifier le seuil de positivité.
  - S'il est de 0,5 en méthode manuelle, il faut choisir 20% de moins pour la méthode automatique soit 0,40
- Si l'on modifie le seuil de détection de 20%, soit 0,4 au lieu de 0,5 unités
- Avec ce seuil, il n'y a plus de discordance entre les POSITIFS et les NEGATIFS quelle que soit la méthode.

- **PORTEE B - Validation des méthodes**

# Domaine de mesure

- **Limites de linéarité :**

limites de validité de la relation linéaire existant entre les concentrations observées et les concentrations théoriques des dilutions d'un spécimen.

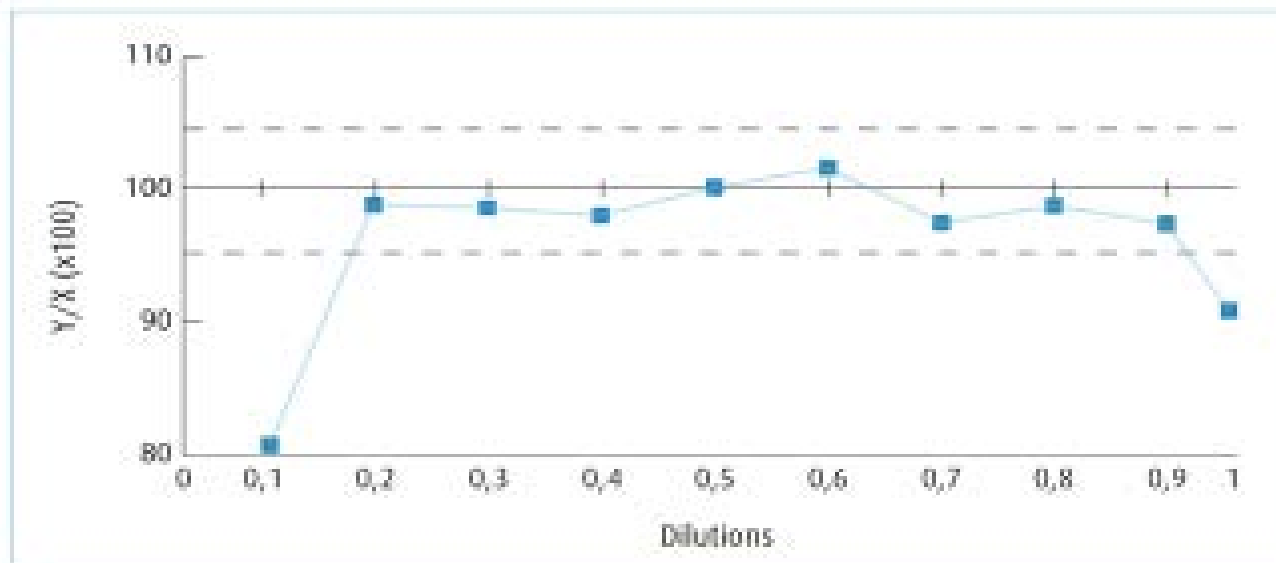
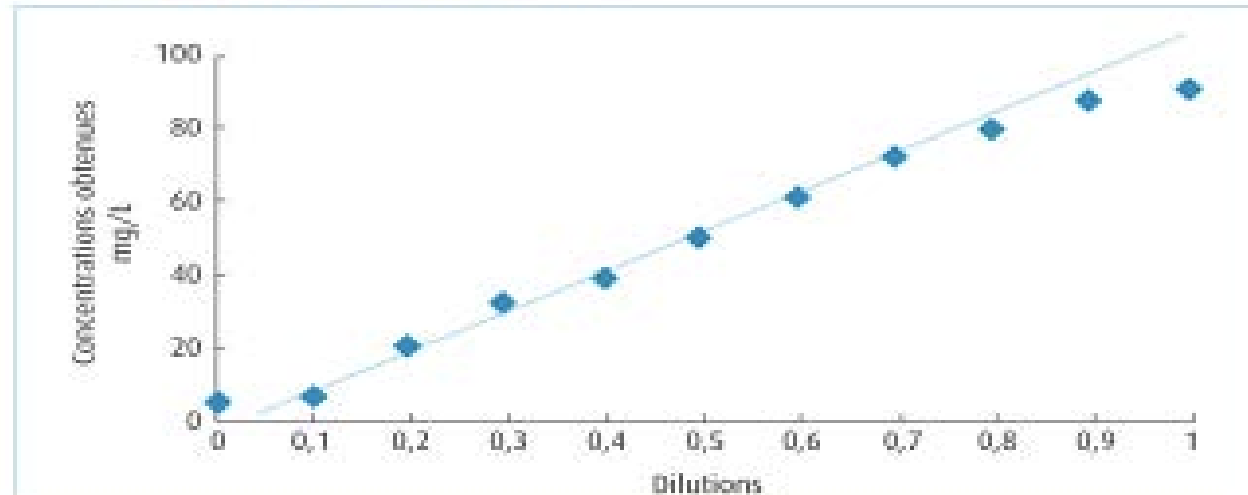
Limite basse = limite de quantification

# Évaluation des limites de linéarité

Expre- sion en % de E	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
ml B	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
ml E	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1

# Evaluation des limites de linéarité

→ FIGURE 3 : EN ABSCISSE SONT REPORTÉES LES DILUTIONS ET EN ORDONNÉE LES VALEURS OBSERVÉES



# Domaine de mesure

- **Limite de détection :**

plus petit signal exprimé en quantité ou en concentration qui peut être distingué, avec une probabilité donnée, d'un blanc réaction réalisé dans les mêmes conditions.

# Limite de détection

Ex : dosage du PSA par un méthode immunoluminescence

- Point zéro de la gamme
- L'écart-type des valeurs observées pour les trente mesures des blancs (15 séries) de la réaction est de 83 unités RLU ( $S_{si}$ )
- L'absorbance obtenue pour le point zéro de l'étalonnage est de 1453 unités RLU, et pour le calibrant (20  $\mu\text{g/l}$ ) de 523 000 unités RLU.
- $$S_c = \frac{(C1-C0)}{\Delta \text{ signal}} \times S_{si} = 0,03 \mu\text{g/l}$$

**Limite de détection = 3 x  $S_c$  = 0,10  $\mu\text{g/l}$**

# Seuil de positivité

- **Définition (ISO 18 113)**

Le seuil de positivité est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée dans les conditions expérimentales décrites

- **Objectif**

Cette détermination permet de définir à partir de quel signal la positivité d'un test semi-quantitatif peut être établie (ex : IgM toxoplasmose)

- **Matériaux**

Matrice vierge que l'on peut surcharger si l'analyte à examiner est disponible ou un échantillon de contrôle positif.

# Seuil de positivité

## Protocole

Réaliser des dilutions successives, dans la matrice biologique, d'un échantillon de contrôle positif que l'on mesure 10 fois de suite. Le contrôle négatif est traité dans les mêmes conditions. Lorsqu'il est possible d'effectuer des surcharges de l'analyte dans une matrice biologique, le seuil de positivité peut être évalué par des mesures répétées d'échantillons surchargés pour des concentrations de plus en plus faibles. Le seuil de positivité correspond à la dilution ou la concentration conduisant à un signal significativement différent de celui du contrôle négatif ou de la matrice non surchargée.

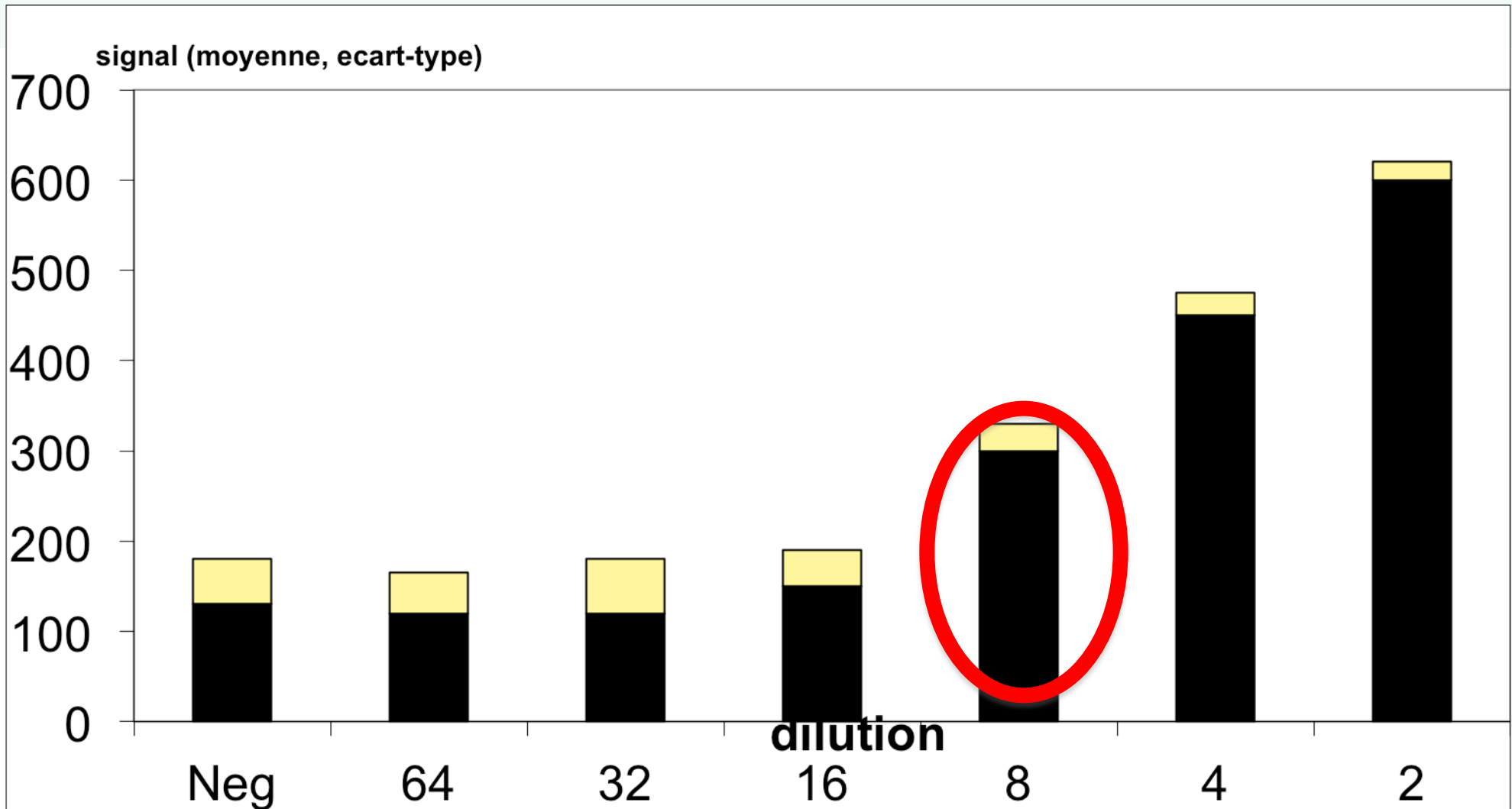
## Exploitation des résultats

Déterminer l'écart-type, le coefficient de variation (CV) du signal de chaque dilution.

Aucune valeur quantitative inférieure au seuil de positivité n'a de signification biologique et doit se traduire sur le compte rendu d'examen par « inférieur au seuil de positivité ».

# Seuil de détection (positivité)

(ex : IGM toxoplasmose) en noir (moyenne) en jaune (ET)

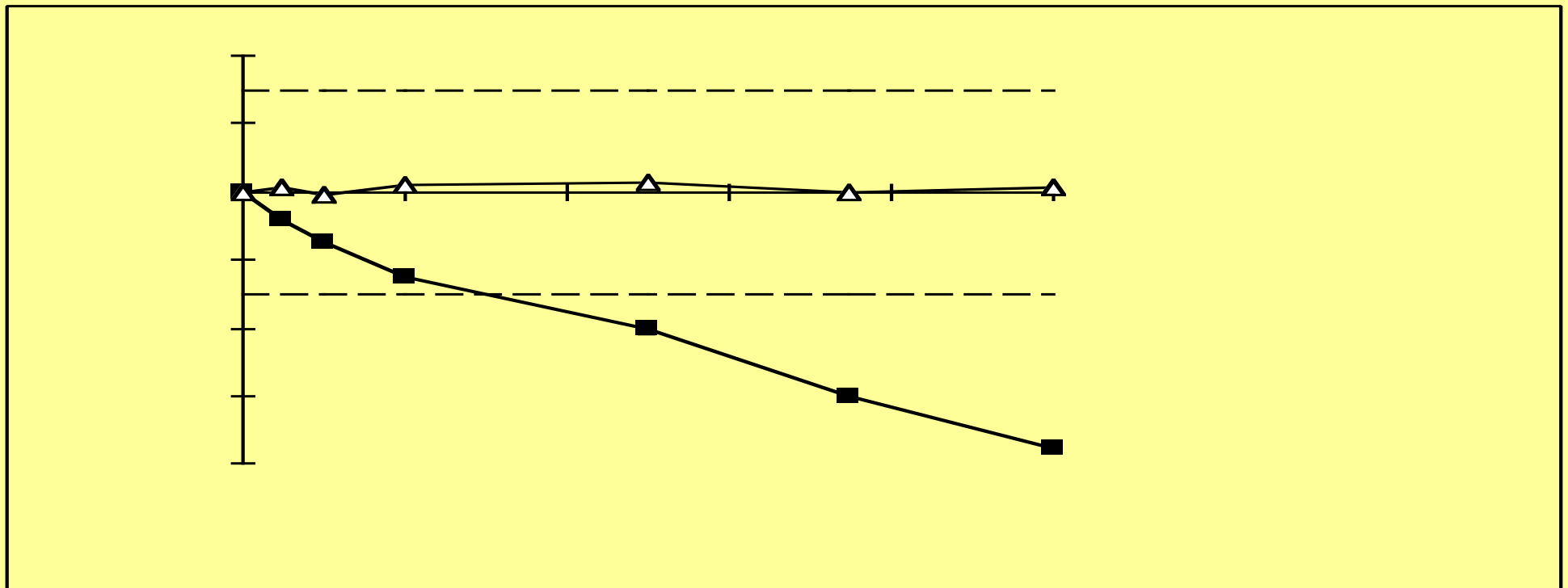


# Interférences

- **Endogènes :**
  - hémolyse
  - trouble
  - ictère
  - composés normalement ou anormalement présents dans le liquide biologique analysé
- **Exogènes :**
  - médicaments :
    - effets pharmacologiques désirés ou indésirables
    - perturbations analytiques
  - toxiques

# Etude de l'influence de la bilirubine

*Ex : dosage de l'acide urique*



# Intervalles de référence biologiques

## ISO 15 189 : 2012

### 5.5.2 Intervalles de référence biologique ou valeurs de décision clinique

- Le laboratoire doit définir les intervalles de référence biologique ou les valeurs de décision clinique, documenter la base des intervalles de référence ou valeurs de décision et **communiquer ces informations aux utilisateurs.**
- Si un intervalle de référence biologique particulier ou une valeur de décision particulière n'est plus pertinent pour la population desservie, les modifications appropriées doivent être apportées et **communiquées aux utilisateurs.**
- Si le laboratoire **modifie une procédure analytique ou pré-analytique**, il doit revoir les intervalles de référence et les valeurs de décision clinique associés, selon le cas •

# Guide pour la vérification des valeurs usuelles.

## Joseph Henny et les membres du SG2



Nombre restreint d' échantillons sélectionnés supposés «sains» : 20 échantillons provenant de 20 individus différents :

- Si  $n \leq 2$  en dehors des limites proposées : adoption
- Si  $n \geq 2$  en dehors des limites proposées : mesurer 20 échantillons supplémentaires
  - Si  $n \leq 2$  en dehors des limites proposées : adoption
  - Sinon, ne pas les adopter

(D'après : *Biological reference intervals and ISO 15189, CCA, 2005, 07, 014*)

<http://members.tripod.com/refstat/refstat.htm>

CLSI Document C28-A3:2008

# Vérification de l'intervalle de référence

Sélectionner 20 échantillons provenant de 20 sujets « sains »



Déterminer les valeurs de cette population



Vérifier l'homogénéité des valeurs de ce groupe

Si moins de 2 des 20 valeurs se situent en dehors de l'intervalle défini



L'intervalle proposé est validé

Si 3 ou 4 résultats sont en dehors des limites, un autre groupe de 20 échantillons est analysé

Si moins de 2 résultats sont supérieurs aux limites proposées  
L'intervalle proposé peut être utilisé

Si 3 ou plus résultats sont en dehors des limites de l'intervalle proposé :

- Revoir la procédure analytique
- Considérer une possible différence
- Développer une évaluation de l'intervalle de référence

# Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de Biologie Médicale – Vol.1



## Avant-propos

**Philippe Gambert**  
Président  
de la SFBC

**Jean-Louis Beaudoux**  
Rédacteur en chef des *Annales de Biologie Clinique*

**Alain Legrand**  
Past-président  
de la SFBC

## Préface

**Dr Anne-Marie Gallot**  
Présidente de la section « santé humaine »,  
Comité français pour l'accréditation (COFRAC)

## Guide de lecture

**Michel Vaubourdolle**  
coordonnateur du groupe SFBC-ALBM

8 Vérification des méthodes



# CONCLUSION (1)

- La connaissance des limites des méthodes utilisées constitue un élément essentiel pour garantir aux patients la qualité des prestations du laboratoire et permettre aux biologistes de délivrer une prestation de conseils pertinente.

# CONCLUSION (2)

- Validation des méthodes est capitale pour fournir des résultats fiables
- Quelle que soit la méthode (tests IVD commercialisés ou développés au laboratoire) validation/vérification
- L'opération de validation doit être une activité planifiée
- Les caractéristiques à évaluer varient en fonction des tests et de leur application
- La validation inclut une prise de position par rapport aux critères définis en fonction des besoins cliniques.
- La vérification/validation doit être **Initiale** avant l'utilisation pour les échantillons provenant des patients.
- La vérification/ validation est réalisée **en continu** par l'exploitation des résultats de CIQ et EEQ.



# CONCLUSION (3)

- L'épreuve de vérification/validation permet aux responsables du laboratoire de s'assurer que :
  - que la méthode est adaptée aux conditions d'utilisation (environnement, température, alimentation électrique, qualité de l'eau...),
  - que le personnel est suffisamment familiarisé,
  - que les performances sont satisfaisantes,
  - que les limites de la méthode sont connues et
  - qu'elle est adaptée à l'usage qui lui est destiné pour une interprétation pertinente des résultats.
- La formalisation du dossier de validation/vérification permet d'apporter la preuve de la maîtrise des méthodes utilisées.
- La validation représente un outil pédagogique irremplaçable pour les personnes impliquées dans la réalisation des examens de biologie médicale, techniciens et biologistes.