

Université Pierre et Marie Curie

Paris 6

MEMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MEDICALE »

**TITRE : Préparation à l'accréditation du secteur hémostase du laboratoire de biologie
médicale selon la norme NF EN ISO 15189**

Dan BENISTY

Année 2010

Directeur du mémoire :

Docteur Anne VASSAULT

NOTE AUX LECTEURS

« Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire « Assurance Qualité et Guide de Bonne Pratique des Analyses de Biologie Médicale » sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

Les travaux ne peuvent faire l'objet d'une publication en tout, ou partie, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné. »

AUTEUR DU MEMOIRE

Dan BENISTY
Médecin Biologiste
SELARL Biofamm
203 bd Vincent Auriol
75013 PARIS

DIRECTEUR DE MEMOIRE

Dr Anne VASSAULT
Biologiste des hôpitaux
Laboratoire de Biochimie Métabolique
Pôle de BIOLOGIE et PRODUITS DE SANTE
Hôpital Necker Enfants Malades
149 rue de Sèvres
75 015 PARIS

REMERCIEMENTS

Ce mémoire me permet de formuler des remerciements

- A Madame MARRACHE pour m'avoir permis de réaliser ce travail dans son laboratoire.
- A Madame Anne VASSAULT pour le suivi de mon projet et ses précieux conseils.
- A l'ensemble des techniciens du laboratoire.
- A l'ensemble des intervenants du DU Assurance Qualité pour la qualité de leur enseignement et l'envie qu'ils m'ont donnée de continuer à m'investir dans la qualité au sein de mon laboratoire.

Sommaire

| | |
|--|--------|
| GLOSSAIRE | - 5 - |
| 1/ Introduction | - 10 - |
| 2/ Objectifs du travail | - 12 - |
| 3/ Contexte | - 12 - |
| 3-1 Présentation du laboratoire | - 12 - |
| 3.2 Le système de management de la qualité au laboratoire de la gare | - 13 - |
| 3-3 Projet de la direction | - 14 - |
| 4/ Mise en œuvre : calendrier, groupe de travail | - 14 - |
| 5/ Etat des lieux- Audit portant sur le chapitre 5 de la norme ISO 15189 | - 15 - |
| 6/ Analyse des écarts et définition d'un plan d'action | - 16 - |
| 7/ Evaluation | - 16 - |
| 8/ Difficultés rencontrées- Actions préventives et correctives | - 20 - |
| 9/ Conclusion | - 23 - |
| Bibliographie | - 24 - |
| ANNEXES | - 26 - |

GLOSSAIRE

-Action corrective (ISO 9001-2008) : action entreprise pour éliminer les causes d'une non-conformité, d'un défaut ou de tout autre événement indésirable existant, pour éviter sa récurrence.

-Action préventive (ISO 9001-2008) : action entreprise pour éliminer les causes d'une non-conformité, d'un défaut ou de tout autre événement indésirable potentiel, pour éviter son occurrence.

-Biais (NF ISO 3534-1): différence entre l'espérance mathématique d'un résultat d'essai ou résultat de mesure et la valeur vraie. Le biais est une erreur systématique totale par opposition à l'erreur aléatoire. Il peut y avoir une ou plusieurs composantes d'erreurs systématiques qui contribuent au biais. Une différence systématique importante par rapport à la valeur vraie est reflétée par une grande valeur du biais.

-BioQualité : association créée par la profession conformément aux "Principes Fondateurs" signés par les 3 syndicats de biologistes libéraux le 10 Janvier 2002. L'association BioQualité vise à promouvoir le développement de la Qualité, auprès de l'ensemble des laboratoires de biologie médicale.

-Coefficient de variation (CV) : rapport entre l'écart type et la moyenne, exprimé en pourcentage.

-COFRAC : Comité Français d'Accréditation.

-Contrôle Interne de la Qualité (CIQ; LAB GTA 06) : procédure réalisée au sein du laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction de limites de tolérance préétablies. Les matériaux de contrôle interne de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

-Contrôle national de qualité : contrôle externe de qualité, périodique, obligatoire, fourni par l'AFSSAPS, comparant les résultats du laboratoire avec les résultats obtenus par l'ensemble des laboratoires habilités à exécuter ces mêmes catégories d'analyses.

-Dérive : augmentation ou diminution au cours du temps des résultats observés pour les échantillons de contrôle, type d'erreur progressive.

-DU : Diplôme d'Université.

-Ecart type (ET) : donnée statistique qui évalue la dispersion des valeurs observées autour de la moyenne (VIM).

-Erreur aléatoire : composante de l'erreur de mesure qui, dans des mesurages répétés, varie de façon imprévisible (VIM)

NOTE 1 La valeur de référence pour une erreur aléatoire est la moyenne qui résulterait d'un nombre infini de mesurages répétés du même mesurande.

NOTE 2 Les erreurs aléatoires d'un ensemble de mesurages répétés forment une distribution qui peut être résumée par son espérance mathématique, généralement supposée nulle, et par sa variance.

NOTE 3 L'erreur aléatoire est égale à la différence entre l'erreur de mesure et l'erreur systématique.

-Erreur de justesse d'un instrument de mesure (LAB GTA 04) : erreur systématique d'indication d'un instrument de mesure.

NOTE : l'erreur de justesse est normalement estimée en prenant la moyenne de l'erreur d'indication sur un nombre d'observations répétées.

-Erreur systématique (LAB GTA 04)

Moyenne qui résulterait d'un nombre infini de mesurages du même mesurande, effectués dans les conditions de répétabilité, moins une valeur vraie du mesurande.

-Etalonnage (calibration en anglais ; VIM 2008) : Ensemble des opérations établissant, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs de la grandeur indiquées par un appareil de mesure ou un système de mesure et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisées par des étalons.

-Evaluation externe de la qualité (EEQ; LAB GTA 06) : procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais d'une comparaison interlaboratoire réalisée par une tierce organisation. Les matériaux de contrôle externe de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

-Fidélité de mesure (VIM 2008) : étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées :

NOTE 1 La fidélité est en général exprimée numériquement par des caractéristiques telles que l'écart-type, la variance ou le coefficient de variation dans les conditions spécifiées.

NOTE 2 Les conditions spécifiées peuvent être, par exemple, des conditions de répétabilité, des conditions de fidélité intermédiaire ou des conditions de reproductibilité (voir ISO 5725-3:1994).

NOTE 3 La fidélité sert à définir la répétabilité de mesure, la fidélité intermédiaire de mesure et la reproductibilité de mesure.

NOTE 4 Le terme « fidélité de mesure » est quelquefois utilisé improprement.

-GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale.

-GEHT : groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.

-Graphes de Levey Jennings : graphiques retraçant les résultats successifs des CIQ.

-GTA : guide technique d'accréditation du COFRAC.

-Incertitude de mesure (VIM 2008) : paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées.

NOTE 1 L'incertitude de mesure comprend des composantes provenant d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux valeurs assignées des étalons, ainsi que l'incertitude définitionnelle. Parfois, on ne corrige pas des effets systématiques estimés, mais on insère plutôt des composantes associées de l'incertitude.

NOTE 2 Le paramètre peut être, par exemple, un écart type appelé incertitude-type (ou un de ses multiples) ou la demi-étendue d'un intervalle ayant une probabilité de couverture déterminée.

NOTE 3 L'incertitude de mesure comprend en général de nombreuses composantes. Certaines peuvent être évaluées par une évaluation de type A de l'incertitude à partir de la distribution statistique des valeurs provenant de séries de mesurages et peuvent être caractérisées par des écarts-types. Les autres composantes, qui peuvent être évaluées par une évaluation de type B de l'incertitude, peuvent aussi être caractérisées par des écarts-types, évalués à partir de fonctions de densité de probabilité fondées sur l'expérience ou d'autres informations.

Une modification de cette valeur entraîne une modification de l'incertitude associée.

-Incertitude élargie : produit d'une incertitude-type composée et d'un facteur supérieur au nombre un.

NOTE 1 Le facteur dépend du type de la loi de probabilité de la grandeur de sortie dans un modèle de mesure et de la probabilité de couverture choisie.

NOTE 2 Le facteur qui intervient dans la définition est un facteur d'élargissement.

NOTE 3 L'incertitude élargie est appelée « incertitude globale » au paragraphe 5 de la Recommandation INC-1 (1980) (voir le GUM) et simplement « incertitude » dans les documents de la CEI.

-Incertitude-type (VIM) : incertitude de mesure exprimée sous la forme d'un écart-type.

-Incertitude-type composée (VIM) : incertitude-type obtenue en utilisant les incertitudes-types individuelles associées aux grandeurs d'entrée dans un modèle de mesure.

-ISO : fédération Internationale de normalisation regroupant les organismes de normalisation des différents pays du monde.

-Justesse : étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence.

-Limite de détection (XP T 90-210) : plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc (avec une probabilité donnée) mais non nécessairement quantifiée.

-Limite de quantification (XP T 90-210) : plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une variabilité définie.

-Linéarité (XP T 90-210) : capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon pour le laboratoire.

-Logiciel de gestion de la qualité (LGQ) : Application informatique d'assurance Qualité en laboratoire.

-Matériaux de contrôle : substances liquides ou lyophilisées d'origine humaine, animale ou chimique utilisées pour contrôler la qualité et la stabilité du processus analytique.

-Mesurage (VIM) : ensemble d'opérations ayant pour but de déterminer une valeur d'une grandeur.

-Mesurande (VIM) : grandeur particulière soumise à un mesurage.

-Moyenne : pour les contrôles de qualité, la meilleure estimation de la valeur à partir des valeurs observées (somme des valeurs, divisée par le nombre de valeurs).

-RAQ : Responsable de l'Assurance Qualité.

-Règles de Westgard : algorithmes de décisions élaborés à partir de données statistiques, qui aident à vérifier la stabilité du système analytique.

-Répétabilité (VIM) : étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesure.

-Reproductibilité- fidélité intermédiaire (VIM) : étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure.

-Robustesse : par robustesse d'une technique d'analyse, on entend une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles mais délibérées des paramètres de la méthode, et qui fournit une indication sur sa fiabilité dans les conditions normales d'utilisation.

-Roue de Deming : description de l'amélioration de la qualité selon quatre étapes : prévoir, mettre en œuvre, évaluer et améliorer.

-SELARL : Société d'Exercice Libéral à Responsabilité Limitée.

-Sensibilité analytique : aux fins de l'application des spécifications techniques communes (STC), préférer le terme « limite de détection » à celui de « sensibilité analytique ».

-Sensibilité d'une technique : rapport de la variation du signal mesuré à l'unité de concentration de l'analyte étudié.

-SFBC : Société française de biologie clinique.

-SIL : Système Informatique de Laboratoire.

-Spécificité (XP T 90-210) : propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la détermination de la grandeur de l'analyte considéré.

-SMQ : Système de Management de la Qualité.

-STAGO : entreprise spécialisée dans l'hémostase commercialisant, entre autres, des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

-Temps de céphaline plus activateur (TCA) : Temps de coagulation d'un plasma citraté en présence de phospholipide, de calcium et d'un activateur, en secondes par rapport à un témoin. Tous les facteurs de la coagulation sont explorés par le TCA : tous sauf le facteur VII (voie exogène).

-Temps de Quick (TQ) : temps de coagulation d'un plasma citraté recalcifié en présence de facteur tissulaire et de phospholipides apportés en large excès par le réactif thromboplastine. Ce temps s'exprime en secondes, par rapport au temps obtenu pour un plasma témoin.

-Taux de prothrombine (TP) : expression en pourcentage du temps de Quick, obtenue en reportant le temps de coagulation obtenu pour le plasma à tester sur la droite d'étalonnage obtenue en testant des dilutions successives d'un plasma témoin normal (droite de Thivolle) ; l'activité du plasma normal étant par définition de 100%, celle du plasma normal dilué au demi de 50% etc... Le taux de prothrombine explore la voie dite " extrinsèque " de la coagulation : il est abaissé en cas de déficit constitutionnel ou acquis en facteurs II, V, VII, X et/ou en fibrinogène.

1/ Introduction

Depuis quelques mois, une onde de choc secoue le monde de la biologie médicale dans son ensemble : en 2016 tout laboratoire qui ne sera pas accrédité par le COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189 (1), sur l'ensemble de son activité, se verra contraint de fermer ses portes.

Le monde hospitalier et privé sont donc confrontés aux mêmes exigences et objectifs : continuer à exister.

La nouvelle fait d'autant plus trembler la biologie française, qu'elle s'intègre dans le cadre de l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale (2). Celle-ci, accouchée dans la douleur après des mois d'âpres négociations, était fortement controversée. En effet, la majorité des biologistes s'accordaient à dire que, sous couvert de médicalisation de la biologie, et à grand renfort de néologismes (« biologiste médical », « examen de biologie médicale »), on cherchait à porter un coup à la Biologie médicale française via la libération des capitaux, l'autorisation des centres de prélèvements, les laboratoires multi-sites, conduisant à l'industrialisation pure et simple de la biologie médicale.

Les attentes des biologistes ne furent pas déçues. Après de longues discussions pour obtenir quelques garanties sous forme de mesures dites « prudentielles », l'ordonnance est parue le 13 Janvier 2010, reprenant l'ensemble des décisions tant redoutées, mais omettant malencontreusement certaines limites censées contenir les appétits des financiers et autres fonds de pension jusqu'à une prochaine ordonnance.

C'est donc dans ce contexte, que l'accréditation obligatoire des laboratoires de biologie médicale a fait son apparition. Rien d'étonnant donc à ce que celle-ci ait été vécue comme le coup de grâce, asséné au nom de la qualité avec un grand Q, obligeant une proportion importante de laboratoires ne pouvant se hisser au niveau des exigences de la 15189 à mettre la clé sous la porte, les autres devant se regrouper toujours plus vite, dans la panique.

Le GBEA (3), abrogé, et prochainement remplacé par une nouvelle version qui s'appliquera aux laboratoires non accrédités jusqu'en 2016, avait conceptualisé il y a une dizaine d'années en France les notions de qualité, de traçabilité, et de maîtrise documentaire, existant depuis toujours, mais pas assez formalisées.

Les laboratoires ne se trouvaient donc pas totalement démunis face à cette norme, même si pour beaucoup, elle restait un redoutable inconnu, tapi dans l'ombre.

Avec la norme, la qualité devenait une question de survie. Alors que les RAQ, qualitiens, et autres coachs qualité constituaient jusqu'alors des espèces peu connues, assez mal intégrées, et dont l'utilité n'était pas évidente pour de nombreux biologistes, l'introduction de la norme consacra leur statut d'espèce « protégée », les laboratoires, désormais, ne pourraient plus s'en passer.

En commençant mon internat en novembre 2006, fraîchement débarqué du monde de la médecine clinique, le terme « assurance qualité » ne me disait, pour ainsi dire, absolument rien. Le GBEA, les procédures et modes opératoires furent de troublantes découvertes, on allait m'obliger à suivre à la lettre des instructions, à tracer tout ce que je faisais... Je n'avais a priori pas comme vocation première le métier de « notaire ».

Après avoir repoussé l'idée d'un droit au remord, je décidais que je devais m'approprier ce système pour qu'il me soit moins pénible. Aujourd'hui, au terme de mon internat, après avoir constaté par moi-même, les dysfonctionnements possibles, les erreurs parfois graves, et les problèmes posés par la variabilité des attitudes face à un même problème, je ne vis plus la qualité comme une contrainte, je la sais indispensable.

C'est dans cet état d'esprit, que j'ai postulé au D.U d'assurance qualité. Un enseignement structuré et rigoureux me paraissait indispensable pour aborder le monde de la biologie privée et les échéances qui le guettaient.

J'ai conduit mon travail au sein d'un laboratoire privé faisant partie d'une SELARL, le laboratoire de la gare (Paris XIII). Après avoir procédé à un audit de cette structure déjà largement impliquée dans la qualité, nous avons, en concertation avec la direction défini les objectifs principaux à atteindre. Il a été décidé de concentrer le travail sur la préparation du secteur hémostase du laboratoire à une accréditation sur portée flexible standard selon la norme NF EN ISO 15189. Les principaux éléments étaient la rédaction de certains documents (procédure analytique d'hémostase, contrôle externe de la qualité etc.), la validation des méthodes en hémostase, et le calcul des incertitudes de mesure sur les résultats des examens pratiqués.

Au terme de ce travail, les résultats ont été évalués par rapport aux objectifs initiaux, les difficultés analysées, et les perspectives présentées.

La première partie du mémoire sera consacrée à la définition des objectifs du travail. Elle sera suivie de la présentation du laboratoire et de son système de management de la qualité, de l'audit réalisé ainsi que de ses résultats.

L'analyse des écarts constatés, la définition d'un plan d'action, et d'un calendrier, dans le cadre d'un groupe de travail seront ensuite évoqués. Une dernière partie sera dédiée à l'évaluation des résultats du travail, la présentation des actions correctives et préventives et des difficultés rencontrées.

2/ Objectifs du travail

Le travail a consisté à mettre en conformité les pratiques du laboratoire avec les exigences techniques de la norme (chapitre 5) en se focalisant sur le secteur d'hémostase. Les différents éléments traités incluent la rédaction de la procédure analytique, du mode d'emploi de l'analyseur, la gestion des contrôles internes et externes de la qualité, la validation des méthodes, le calcul des incertitudes de mesure, et de quelques fiches d'instructions.

3/ Contexte

3.1. Présentation du laboratoire

J'ai conduit mon projet de mémoire au sein du « laboratoire de la gare » (Paris XIII).

Le personnel se compose d'une biologiste « responsable » (Mme Marrache), nouveau terme consacré par l'ordonnance pour désigner la directrice du laboratoire, une biologiste médicale (ex-« directeur adjoint »), trois techniciens, deux secrétaires, un agent d'entretien et une RAQ commune aux cinq laboratoires de la SELARL. Les locaux sont constitués au rez-de-chaussée d'un secrétariat, une salle d'attente, un bureau pour le biologiste, trois salles de prélèvement dont une permettant les prélèvements gynécologiques, et une salle technique ; au sous-sol : une salle technique, une salle de réserve, et une salle d'archive.

L'activité du site de « la gare » est en moyenne de 120 dossiers par jour, clientèle directe en majorité (une maison de retraite représentant une vingtaine de dossiers par semaine).

Le laboratoire est associé sous forme de SELARL à quatre autres laboratoires situés dans un périmètre de 3 kilomètres, réalise les examens d'hémostase, de biochimie, et d'auto-immunité pour l'ensemble de la SELARL. Les échantillons biologiques des autres sites sont acheminés par coursier cinq fois par jour.

L'activité d'hémostase, objet d'intérêt de ce mémoire, représente entre 100 et 150 spécimens traités par jour. Les examens d'hémostases réalisés sont les suivantes : TQ (et calcul du TP et de l'INR), TCA, dosage du fibrinogène plasmatique et des D-dimères plasmatiques.

Le SIL du laboratoire (Biowin) est connecté de manière bidirectionnelle avec les deux automates (hémostase et chimie). Ce SIL est commun à toute la SELARL et les résultats de chacun des sites sont donc automatiquement transmis au site expéditeur des prélèvements, après validation analytique par les techniciens.

Le laboratoire dispose d'un logiciel de gestion de la qualité : Kalilab, commun à toute la SELARL.

3.2 Le système de management de la qualité au laboratoire de la gare

Dirigé par une personne impliquée dans la qualité, titulaire du DU d'assurance qualité de Marseille, membre du comité de pilotage de Bioqualité, et auditeur ICA certifié sur la norme 15189, le laboratoire de la gare constitue un terrain propice à la conduite d'un projet de D.U.

Le laboratoire est « qualifié » Bioqualité depuis novembre 2008. Il existe un manuel qualité et un système documentaire mature.

Véritable point d'ancrage de la qualité dans la SELARL, ce site a insufflé, via sa directrice, la culture qualité à l'ensemble des autres laboratoires, qui sont désormais tous également « qualifiés » Bioqualité.

Tous les documents qualité sont systématiquement gérés par Kalilab y compris la diffusion (avec accusé de réception, attestation de prise de connaissance etc..). Ce logiciel est connecté à un serveur dont la sauvegarde est effectuée automatiquement toutes les nuits.

Le laboratoire réalise régulièrement des revues de direction, mais aussi un certain nombre de réunions qualité dont la traçabilité laisse parfois à désirer.

Plusieurs indicateurs qualité ont été exploités ces dernières années (délai de rendu des examens urgents, nombre de non-conformités pré-analytiques), et la gestion des non-conformités, ainsi que la mise en place d'actions correctives et préventives est optimale grâce au logiciel de gestion de la qualité permettant une saisie exhaustive des informations dans des fiches qualité disponibles en ligne. Ces fiches qualité sont classables selon différents critères, ce qui permet une exploitation intéressante des données.

Fortement engagé dans la démarche qualité, le laboratoire de la gare doit cependant constater, à l'unisson de tous les laboratoires Français, que les exigences, de la norme 15189 dans le cadre d'une accréditation obligatoire nécessitent un effort d'un autre ordre. Cet effort sera d'autant plus important que la précédente RAQ a quitté ses fonctions en février 2010, laissant quelques mois de latence avant l'arrivée d'une remplaçante.

Ainsi, si la situation est assez satisfaisante en ce qui concerne les exigences de la norme quant au management de la qualité (certains documents devant cependant être précisés ou rédigés), elle l'est beaucoup moins pour ce qui est du versant « technique ».

3-3 Projet de la direction

L'objectif de la SELARL est d'être accréditée sur l'ensemble de ses activités avant la fin 2014. Pour initier cette démarche, la biologiste responsable du laboratoire de la gare souhaite réaliser une demande d'accréditation sur portée flexible d'hémostase en 2010/2011.

Ce secteur, assez restreint, permettrait d'engager le laboratoire, et toute la SELARL, dans la démarche d'accréditation. Il démystifierait le rôle du COFRAC.

4/ Mise en œuvre : calendrier, groupe de travail

Au sein du laboratoire de la gare, les documents sont rédigés puis vérifiés par deux membres différents du personnel (technicien, secrétaire, RAQ, biologiste etc.), puis approuvés par le RAQ ou un biologiste.

J'ai personnellement conduit la rédaction des documents qualité ayant trait à l'hémostase en prenant soin de les faire vérifier au fur et à mesure par le technicien référent qualité du laboratoire, Mr Jérôme Covillers. La validation des documents a été confiée à la directrice du laboratoire, Mme Marrache.

Calendrier

- décembre 2009- janvier 2010 : phase d'observation
- février 2010 : audit du secteur hémostase selon le chapitre 5 de la norme 15189
- 1^{er} mars 2010 : rapport d'audit et définition des objectifs prioritaires
- mars-avril-mai 2010 : rédaction des documents qualité
- Juin 2010 : Vérification, validation, application et diffusion des documents ; Validation des méthodes en hémostase et estimation des incertitudes de mesure.
- Aout-Septembre 2010 : Evaluation des résultats des actions conduites.

La première phase du travail, dédiée à l'observation et l'appropriation du SMQ du laboratoire et de l'activité quotidienne, s'est déroulée de décembre 2009 à janvier 2010.

J'ai conduit mon projet de mémoire au sein d'un laboratoire privé, concomitamment à mon stage d'interne, dans lequel j'ai utilisé de nombreux jours de congés annuels pour travailler correctement au laboratoire de la gare.

Il m'a donc fallu dans un premier temps apprendre à connaître le laboratoire.

J'ai procédé en utilisant deux moyens complémentaires :

- lecture de tous les documents qualité du laboratoire, grâce à la création par la direction d'un compte « Kalilab » m'étant dédié.
- Stage régulier au laboratoire de la gare afin de m'imprégner de l'activité « pratique ».

5/ Etat des lieux- Audit portant sur le chapitre 5 de la norme ISO 15189

Afin de planifier les actions à entreprendre, j'ai consacré cinq journées du mois de février 2010 à l'évaluation des pratiques du laboratoire en utilisant comme référentiel le chapitre 5 de la norme 15189.

Pour chacune des exigences, j'ai utilisé les diaporamas remis par les enseignants du DU pour approfondir le sujet. Une synthèse des observations a été rédigée, les écarts par rapport aux exigences de la norme ont été définis et des solutions proposées (cf. annexe 1).

6/ Analyse des écarts et définition d'un plan d'action

Le rapport a été présenté puis discuté longuement avec le directeur impliqué dans la qualité le lundi 1^{er} mars 2010.

Nous avons, au terme du rapport d'audit, décidé ensemble, que mon travail se concentrerait sur certains points précis afin d'être plus efficace et de tenir les délais requis pour la remise du mémoire dans le cadre du D.U. Voici les documents à rédiger et appliquer :

- Procédure générale en hémostase (cf. annexe 2)
- Procédure : Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase (cf. annexe 3)
- Mode opératoire: Utilisation du STA Compact (cf. annexe 4)
- Instruction : Contrôle externe de la qualité en hémostase (cf. annexe 5)
- Instruction : Analyse du contrôle national de qualité (cf. annexe 6)
- Instruction : Analyse des contrôles internes de la qualité en hémostase (cf. annexe 7)
- Instruction : Etalonnage en hémostase (cf. annexe 8)
- Procédure de validation des méthodes d'analyse (cf. annexe 9) et réalisation de cette validation pour le secteur d'hémostase
- Procédure d'estimation des incertitudes de mesure (cf. annexe 10) et réalisation de cette estimation pour les examens d'hémostase

7/ Evaluation

L'évaluation des actions mises en place a eu lieu en août -septembre 2010.

➤ La procédure générale rédigée, validée et diffusée en juin 2010 a permis au laboratoire de prendre en compte les recommandations du GEHT (4) et de l'OMS (5) quant à la phase préanalytique en hémostase. Son application a suscité un certain émoi parmi les biologistes de la SELARL, surtout à propos des délais limites de traitement des spécimens. Tout spécimen réceptionné en dehors des délais entraîne désormais l'ouverture d'une non-conformité (pouvant faire l'objet d'une dérogation par le biologiste responsable de l'hémostase).

➤ Les conditions de centrifugation (vitesse, température, durée) ont également été modifiées en conformité avec les recommandations du GEHT. Elles prévoient par ailleurs de centrifuger en même temps les spécimens destinés à la biochimie et à l'hémostase, ce qui permet un gain de temps important par rapport à la situation antérieure.

➤ La procédure générale en hémostase permet au laboratoire de disposer de références à la littérature lorsque nécessaire (les articles ou livres correspondants ont été ajoutés à la bibliothèque du laboratoire), et d'expliciter principes et intérêts physiopathologiques des examens réalisés.

➤ Lors de la réalisation d'un TCA (malade + témoin), le témoin était choisi parmi un patient normal du jour. La procédure générale prévoit à présent que celui-ci soit réalisé à partir d'un pool de plusieurs patients normaux du jour, conformément aux recommandations de la littérature.

➤ STAGO précise que la présence de facteur rhumatoïde (> 50 UI/L) interfère avec le dosage des D-dimères (méthode immunoturbidimétrique). Auparavant, le laboratoire réalisait en parallèle le dosage du facteur rhumatoïde sur l'automate de Biochimie dès qu'un résultat de D-dimères était supérieur à 1000 µg/L. Le seuil décisionnel pour les D-dimères se situant à 500 µg/L, il a été décidé que le dosage systématique du facteur rhumatoïde serait réalisé dès que le taux de D-dimères serait supérieur à 500ng/ml. En effet la proportion de D-dimères positifs au laboratoire étant faible (moins d'une dizaine par mois), cette nouvelle démarche n'occasionne pas de surcoût important, et permet au laboratoire d'avoir une attitude cohérente.

➤ Les seuils de vérification et d'alerte sont désormais standardisés et définis dans la procédure analytique. Ceux-ci ont été déterminés, en accord avec la direction. Par ailleurs, les critères de validation d'une vérification, qui n'existaient pas sont précisés dans le document, en se basant sur la norme ISO 5725-6 (6).

➤ La gestion des contrôles de la qualité au sein du laboratoire est sensiblement différente depuis la mise en application du document « Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage ». Celui-ci a été refondu pour y faire figurer les définitions exactes des CIQ et EEQ à partir du LAB-GTA06 (7), et les responsabilités respectives des techniciens et biologistes ont été explicitées. Les deux échantillons de CIQ de deux niveaux différents qui étaient analysés uniquement en fin d'après-midi, le sont désormais matin et après-midi. Il a également été décidé que la notice de chaque coffret de réactif de contrôle réceptionné, serait numérisée par un technicien identifié dans le LGQ, attestant ainsi de sa lecture. Le raisonnement sur les résultats de CIQ était basé sur les limites données par le fournisseur, et l'attitude à adopter en fonction du résultat n'était pas définie. Le document relatif aux CIQ indique désormais que le raisonnement doit porter sur la moyenne et les écart-types recalculés à chaque analyse de l'échantillon pour une maîtrise optimale. En effet les fournisseurs proposent des limites très larges et statiques qui ne sont pas adaptées. De plus, la conduite à tenir est maintenant précisée, se basant sur l'utilisation des règles de Westgard (8) et de certains articles de la SFBC (9,10,11) et les notions d'erreurs systématiques et aléatoires sont abordées. La transition entre deux lots consécutifs de matériaux de contrôle est explicitée. Enfin l'analyse des résultats du CNQ a été introduite.

➤ Un document spécifique est dédié au CEQ en hémostase. J'y ai décrit les différentes étapes : planification, réception, enregistrement, analyse et validation des résultats, saisie de ceux-ci dans le LGQ et sur le serveur de l'organisateur du programme de CEQ, et analyse des résultats fournis. La gestion de cette dernière étape a par ailleurs été transférée sur le LGQ qui offre également la possibilité au biologiste de porter un commentaire.

➤ J'ai également révisé le mode opératoire d'utilisation du STA Compact, qui était incomplet et parfois inexact. Il correspond actuellement aux pratiques en vigueur et permet à une personne recrutée d'aborder sereinement l'automate.

- Les différentes fiches d'instruction rédigées ont été perçues comme des outils pratiques, simples et précis.

Avant de procéder à la validation des méthodes en hémostase et au calcul des incertitudes de mesure, j'ai rédigé deux documents généraux : la procédure de validation/vérification des méthodes et celle du calcul des incertitudes de mesure. Cette rédaction s'est appuyée sur les GTA04 et 14 du COFRAC (12,13), ainsi que sur la littérature, notamment une publication de la SFBC (14).

La validation des méthodes en hémostase a comporté deux volets principaux : d'une part le recueil des éléments bibliographiques en ce qui concerne les méthodes quantitatives et d'autre part la vérification/validation sur site de certains critères de performance (répétabilité, reproductibilité, contamination inter-échantillon et approche de la justesse) (cf. annexe 11).

Les limites d'acceptabilité des critères de performance ont été déterminées en se référant aux sociétés savantes (15) et aux recommandations du fournisseur. L'étude a été réalisée avec deux niveaux de concentration pour chaque examen biologique d'hémostase.

Au terme de la vérification sur site, nous avons conclu à l'aptitude de la méthode. Le calcul des incertitudes de mesure pour l'ensemble des examens concernés a également été effectué. Celui-ci a été tracé, de même que l'ensemble des feuilles de calcul et données brutes dans un fichier Excel dédié à chaque examen (cf. annexe 12). La trame des fichiers ainsi constitués, ainsi que les feuilles de calcul concernant l'hémostase ont été enregistrées dans le système documentaire du laboratoire.

Par exemple pour le fibrinogène, l'incertitude élargie (U), calculée en se comparant aux résultats toutes méthodes du CEQ, était de 0,15 pour le niveau bas (1,2 g/L) et de 0,42 pour le niveau normal (3 g/L) respectant ainsi les critères du RICOS.

La réalisation de la validation des méthodes et du calcul des incertitudes de mesure en hémostase a donc permis l'appropriation par le personnel du laboratoire de ces deux exigences, et a éclairci un certain nombre de points qui restaient obscures jusque là.

Les fichiers Excel dédiés à chaque examen contenant la trame à respecter et les formules à appliquer sont désormais disponibles et applicables à toutes les méthodes quantitatives du laboratoire, en particulier à la biochimie, second pôle de compétence du laboratoire de la gare.

8/ Difficultés rencontrées- Actions préventives et correctives

Certaines difficultés ont été rencontrées lors de ce travail. La mise en application des délais limites entre le moment du prélèvement et celui de l'analyse, pour un échantillon non centrifugé (six heures pour un TQ, quatre heures pour un TCA), a suscité quelques remous. En effet, le laboratoire de la gare traite les prélèvements d'hémostase pour toute la SELARL. Ainsi, certains d'entre eux, réalisés pour les patients à domicile d'un autre site de la SELARL, arrivaient fréquemment hors délai à la gare. Il a donc fallu expliquer avec pédagogie (courriels et réunions qualité tracées), les nouvelles règles pour que chaque site s'organise. Par ailleurs, la rédaction de fiches de non-conformité à chaque prélèvement hors délai a pu parfois être ressentie comme fastidieuse pour le personnel du laboratoire de la gare, et mal ressentie par les sites expéditeurs, des dérogations étant cependant faites lorsque c'était possible. Les règles sont aujourd'hui mieux acceptées.

Par ailleurs, les sites centrifugent leurs prélèvements d'hémostase dans leurs centrifugeuses non thermostatées, à des vitesses et des durées différentes avant de les expédier. Une action corrective a été initiée proposant deux solutions : soit que chacun des sites s'équipe d'une centrifugeuse thermostatée, soit que le laboratoire de la gare s'engage à centrifuger tous les spécimens d'hémostase de la SEL.

D'autres modifications ont occasionné une charge de travail supplémentaire pour le personnel :

- ✓ poolage pour réaliser un TCA (M+T)
- ✓ dosage systématique du facteur rhumatoïde pour tout D-dimères supérieurs à 500 $\mu\text{g/L}$
- ✓ seuils de vérification et d'alerte standardisés.

Cependant, la cohérence scientifique de celles-ci a favorisé leur acceptation, ces modifications s'inscrivant dans une impression de travail mieux fait.

Le laboratoire utilisait auparavant, un pré-étalonnage d'usine imposé par STAGO pour convertir les temps de Quick en taux de prothrombine via une droite de Thivolle pré-établie. Il a été constaté ces derniers mois que les résultats des CIQ du TP étaient fréquemment non conformes alors que ceux du TQ l'étaient. Ceci a permis de mettre en évidence un défaut dans le protocole d'établissement de l'équation de la droite communiquée par le fournisseur. Le laboratoire a ouvert une non-conformité, et nous avons décidé, en tant qu'action corrective, de désormais réaliser notre propre droite de Thivolle à partir d'un pool dilué plusieurs fois (16).

Le document relatif aux contrôles de la qualité et étalonnages a donc introduit une charge supplémentaire pour le personnel : constitution de la droite de Thivolle à chaque changement de lot de matériaux de contrôle de TQ, analyse des contrôles à deux moments différents de la journée, introduction des règles de Westgard et analyse critique des résultats des contrôles de la qualité. Les nouvelles instructions du document correspondant ont mis quelques semaines à être acceptées, d'autant que l'application des règles de Westgard a entraîné des alarmes fréquentes. Elles permettent cependant aux techniciens de mieux appréhender les méthodes qu'ils utilisent, et de fonder leur attitude sur une conduite scientifique.

La gestion du CEQ a été décrite dans un mode opératoire dédié. L'application de ce nouveau document n'a pas posé de problème particulier et a permis d'insister sur l'analyse des résultats grâce à la gestion de ceux-ci via le LGQ, et leur diffusion au personnel.

La rédaction du mode opératoire de l'automate a constitué une part importante du travail. En effet, la réalisation de ce document exigeait à la fois concision et précision. La principale difficulté a été de dégager du temps avec le technicien référent pour pouvoir réaliser les principales activités de routine sur l'automate et ainsi rédiger un document réaliste.

Avant de procéder à la validation des méthodes en hémostase, j'ai étudié le GTA-04 et l'article de la SFBC portant sur ce sujet (12,14). Cela n'a cependant pas été aisé compte

tenu du fait qu'une partie importante des points abordés par le GTA ne sont pas approfondis lors de l'internat de Biologie médicale.

Ce guide m'a donc permis de rédiger une procédure de validation des méthodes, s'appliquant aux techniques quantitatives, semi-quantitatives, et qualitatives.

En pratique, la validation des méthodes en hémostase s'est déroulée sans problème majeur. Le recueil des éléments bibliographiques a constitué une tâche considérable. La vérification sur site et le choix des limites d'acceptabilité des critères de performance ont posé certaines difficultés : temps nécessaire pour les différentes manipulations, création des feuilles de calcul Excel, choix des niveaux de concentration etc.

La dernière partie de mon travail a porté sur le calcul des incertitudes de mesure pour le secteur hémostase. Après lecture du GTA-14 portant sur le sujet, je dois avouer que les incertitudes de mesure restaient toujours assez mystérieuses pour moi. Sur les conseils de ma directrice de mémoire, et après une revue de la littérature, j'ai écarté la méthode GUM pour mener mon travail avec la méthode combinant l'exploitation des CIQ et des CEQ.

Il a donc fallu compiler les résultats de CEQ sur les derniers mois écoulés, les classer par niveau, les saisir dans un fichier excel, et les comparer aux résultats du groupe de pairs, et du groupe toutes méthodes confondues. L'ensemble de ces tâches a été chronophage, et méticuleux, afin de ne pas risquer une erreur de recopiage ou de calcul. Le calcul des incertitudes de mesure a confirmé la nécessité d'utiliser les limites « calculées » pour gérer les CIQ, afin d'obtenir de meilleurs CV.

9/ Conclusion

L'année 2010 peut être considérée comme une année décisive pour la biologie médicale française. L'ordonnance du 13 Janvier 2010 a introduit de nouvelles données, susceptibles de restructurer et de modifier profondément l'organisation des laboratoires. Parmi elles, l'obligation pour tout laboratoire de biologie médicale d'être accrédité selon la norme NF EN ISO 15189. Si pour de rares structures très avancées, l'accréditation ne représente qu'une formalité, la majorité des laboratoires de biologie médicale, tant privés qu'hospitaliers, auront une tâche considérable à accomplir pour se mettre en conformité avec les exigences de la norme. Le projet que j'ai mené au laboratoire de la gare s'inscrit dans ce cadre. Il a été décidé au sein de cette structure, de débiter par une demande d'accréditation sur la portée flexible standard d'hémostase. Après un audit du laboratoire, mon action s'est concentrée sur le chapitre 5 de la norme (« exigences techniques »). Elle a consisté à rédiger, et faire appliquer les principaux documents de ce secteur : procédures, mode opératoire de l'analyseur concerné, et fiches d'instructions. Par ailleurs, deux documents spécifiques à la validation/vérification des méthodes et au calcul des incertitudes de mesure sont désormais disponibles. J'ai personnellement appliqué ces documents, et réalisé la validation/vérification des méthodes et le calcul des incertitudes de mesure en hémostase, à l'aide des enregistrements que j'ai également rédigé. Au terme de ce projet, le laboratoire de la gare dispose des principaux documents nécessaires. Leur application est effective, et le laboratoire envisage une demande d'accréditation sur portée flexible standard au COFRAC pour la fin d'année 2010. Cependant, d'ici là, un certain nombre d'exigences doivent encore être satisfaites par le laboratoire, notamment en ce qui concerne le chapitre 4 de la norme.

L'impulsion donnée par le projet que j'ai mené, et l'existence des laboratoires désormais conditionnée à l'accréditation 15189, encouragent le laboratoire de la gare à poursuivre ses efforts en vue des horizons 2013 puis 2016. Si l'ampleur du travail est considérable, la motivation est cependant au rendez-vous, renforcée par la conviction que l'ensemble des améliorations à effectuer contribueront à une meilleure prise en charge du patient.

Bibliographie

- 1- Norme NF EN ISO 15189 (Août 2007) : laboratoires d'analyses de biologie médicale- Exigences particulières concernant la qualité et la compétence.
- 2- Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale : JORF n°0012 du 15 janvier 2010 page 819 texte n° 43.
- 3- Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale. Arrêté du 26 novembre 1999, journal officiel de la République française de 11 décembre 1999.
- 4- GEHT : Recommandations 2007 : prélèvements destinés aux tests d'Hémostase Catherine Boinot et composé de B. Delahousse, C. Droullé, M.F. Hurtaud, B. Polack et A. Robert.
- 5- World Health Organization : Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations : WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002).
- 6- Norme ISO 5725-1:1994 Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure.
- 7- Document LAB GTA 06 (Révision 00- Juin 2005) : les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale.
- 8- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. Clin Chem 1981;27:493-501.
- 9- Vassault A, Dumont G, Labbe D, Contrôle de qualité intra-laboratoire – Procédure générale Cahier de formation biochimie, 1994.
- 10- Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C, et al., Protocole de validation de techniques, Ann. Biol. Clin., 1986, 46, 686-745
- 11- Vassault A, Procédure de validation d'une technique, Spectra Biologie vol.16, n°90, Novembre 1997
- 12- Document LAB GTA 04 (Révision 00- Juin 2004) : guide de validation des méthodes en biologie médicale.
- 13- Document LAB GTA 14 (Révision 00- Novembre 2006) : guide d'évaluation des incertitudes de mesures des analyses de biologie médicale.
- 14- Groupe de travail SFBC « Assurance qualité et métrologie » (coordonnateur M. Dumontet), Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F), Ann Biol Clin 2007 ; 65 (2) : 185-200.

15- Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress." Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500

16- Thivolle,L. Etudes sur le temps de Quick et le dosage de la prothrombine. Ann. Biol. Clin. 1947, n° 5-6, 493-500.

Sites internet :

www.sfbc.asso.fr

www.probioqual.com

www.westgard.com

www.bioqualite.org

www.asqualab.com

www.cofrac.fr

ANNEXES

| | |
|---|----|
| ANNEXE 1- Audit du laboratoire selon le chapitre 5 de la norme NF EN ISO 15189 | 27 |
| ANNEXE 2 : Procédure générale en hémostase | 37 |
| ANNEXE 3 : Procédure : Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase..... | 48 |
| ANNEXE 4 : Mode opératoire: Utilisation du STA Compact..... | 56 |
| ANNEXE 5 : Instruction : Contrôle externe de la qualité en hémostase | 62 |
| ANNEXE 6 : Instruction : Analyse du contrôle national de qualité..... | 67 |
| ANNEXE 7 : Instruction : Analyse des contrôles internes de la qualité en hémostase | 70 |
| ANNEXE 8 : Instruction : Etalonnage en hémostase | 73 |
| ANNEXE 9 : Procédure de validation des méthodes | 76 |
| ANNEXE 10 : Procédure d'estimation des incertitudes de mesure | 83 |
| ANNEXE 11 : Vérification initiale d'une technique quantitative (Document LAB GTA 04- Révision 00- Juin 2004 : guide de validation des méthodes en biologie médicale)..... | 87 |
| ANNEXE 12 : Exemple de calcul d'incertitude de mesure : fibrinogène plasmatique..... | 89 |

ANNEXE 1

**Audit du secteur hémostasie selon le
chapitre 5 de la norme 15189**

5.1-Personnel

5.1.2 La direction du laboratoire doit conserver des enregistrements concernant les compétences utiles, les diplômes, les qualifications professionnelles, la formation et l'expérience de chacun des membres du personnel. Ces informations doivent être facilement accessibles au personnel qualifié concerné et peuvent comprendre

- a) un certificat ou une autorisation, si nécessaire,
- b) les références des emplois antérieurs,
- c) les définitions de fonctions,
- d) les enregistrements concernant la formation continue et le niveau atteint,
- e) les évaluations de compétence, et
- f) les dispositions concernant les comptes rendus d'incidents ou d'accidents malencontreux.

D'autres enregistrements, concernant la santé du personnel et accessibles aux personnes autorisées, peuvent inclure des enregistrements concernant l'exposition aux risques professionnels et des enregistrements concernant le statut des immunisations.

Ecart(s) constaté(s) :

- Les dossiers du personnel ne sont pas exhaustifs
- Il existe une confusion entre fiche de poste et fiche de fonction ; lorsqu'elles existent, leur contenu ne correspond plus aux pratiques actuelles.

Action(s) proposée(s) :

- ↳ Compléter les dossiers du personnel dont la plupart ne contiennent pas de références aux emplois antérieurs ni d'évaluations de compétences qu'il faudra par ailleurs mettre en œuvre
- ↳ Créer de nouvelles fiches de postes et fiches de fonctions et les attribuer à chaque membre du personnel

5.1.6 Le personnel doit suivre une formation spécifique en assurance qualité et en management de la qualité pour les prestations proposées.

Ecart(s) constaté(s) :

Seul un technicien a déjà suivi une formation à la qualité dans le laboratoire

Action(s) proposée(s) :

↳ **Proposer à la direction de prévoir, en accord avec le personnel, au moins une formation spécifique dédiée à l'assurance qualité, qu'elle soit interne ou externe**

5.1.7 La direction du laboratoire doit autoriser le personnel à effectuer des tâches particulières telles que l'aliquotage, l'analyse, l'utilisation de types particuliers d'équipements, y compris l'utilisation d'ordinateurs appartenant au système informatique du laboratoire (voir Annexe B).

5.1.8 Des politiques doivent être élaborées afin de désigner les personnes autorisées à utiliser le système informatique, les personnes autorisées à consulter uniquement les données concernant les patients et celles autorisées à saisir et modifier les résultats, corriger la facturation ou modifier les programmes informatiques (voir Annexes B et C).

Ecart(s) constaté(s) :

- **Aucun document n'atteste de l'autorisation d'une ou plusieurs personnes à effectuer l'aliquotage.**
- **Les autorisations d'accès informatiques existent (profil technicien, biologiste, secrétaire) mais elles n'abordent pas explicitement quels sont les droits pour chaque profil.**

Action(s) proposée(s) :

- ↳ **Intégrer dans les fiches de fonction du personnel l'autorisation d'aliquotage**
- ↳ **Mentionner au sein du mode opératoire du SIL les accès correspondants à chaque profil**

5.1.11 La compétence de chaque membre du personnel pour remplir les tâches imparties doit être évaluée à l'issue de la formation puis périodiquement par la suite. Un recyclage et une réévaluation doivent être effectués si nécessaire.

Ecart(s) constaté(s) :

- **Une technicienne engagée en janvier 2008 n'a toujours pas été habilitée**
- **Aucune habilitation n'est réalisée pour les biologistes (pas de grille existante)**
- **Les grilles d'habilitation sont trop succinctes**
- **Les évaluations périodiques ne sont pas réalisées**

Action(s) proposée(s) :

- ↳ Améliorer les grilles d'habilitation et d'évaluation existantes
- ↳ Créer une grille d'habilitation pour les biologistes
- ↳ Réaliser les habilitations lorsqu'elles n'ont pas été faites
- ↳ Réaliser les entretiens périodiques d'évaluation de tous les membres du personnel (non réalisés depuis plus de deux ans)

5.2-Locaux et conditions environnementales

5.2.5 Le laboratoire doit surveiller, contrôler et enregistrer les conditions propres à l'environnement conformément aux spécifications correspondantes ou dans le cas où elles seraient susceptibles d'influencer la qualité des résultats. Il convient de veiller particulièrement à la stérilité, à la poussière, aux interférences électromagnétiques, aux rayonnements, à l'humidité, à l'alimentation électrique, à la température et aux niveaux de bruit et de vibrations en fonction des activités techniques concernées.

Ecart(s) constaté(s) :

- Les réactifs d'hémostase sont conservés au sein d'un réfrigérateur de type « ménager » dont une société de métrologie affirme qu'il est incompatible avec les exigences de la norme 15189 (cartographie des températures non conforme etc.)
- la température du réfrigérateur est contrôlée visuellement sur l'écran de contrôle interne à l'appareil, ainsi qu'une fois par semaine par lecture de thermo-boutons, ce qui ne permet qu'une interprétation rétrospective des données.
- la température des deux salles techniques, ainsi que de la salle de stockage des consommables (tubes citratés notamment) n'est pas mesurée, enregistrée ni surveillée.

Action(s) proposée(s) :

- ↳ Promouvoir l'achat d'un réfrigérateur médical afin de pouvoir prétendre à une accréditation COFRAC sur la portée « hémostase ». En effet, sans une enceinte thermostatée raccordée à un étalon international et surveillée, le laboratoire se verra infliger des écarts probablement critiques.
- ↳ Promouvoir l'installation d'un système d'enregistrement des températures contrôlé par une société accréditée susceptible d'apporter la preuve d'un raccordement à un étalon international en salle technique et en salle de réserve, et ce, pour les mêmes raisons

5.2.7 L'accès et l'utilisation des zones susceptibles d'affecter la qualité des analyses doivent être contrôlés. Des mesures appropriées doivent être prises pour préserver les échantillons et les ressources contre tout accès non autorisé.

Ecart(s) constaté(s) :

- absence de signalisation sur la porte des salles de prélèvement
- absence de signalisation sur la porte de la salle technique au RDC
- absence de signalisation devant les escaliers qui descendent en salle technique et de réserve

Action(s) proposée(s) :

- ↳ Améliorer la signalisation des zones susmentionnées

5.3-Matériel de laboratoire

5.3.11 Lorsque des ordinateurs ou du matériel d'analyse automatisé sont utilisés pour la collecte, le traitement, l'enregistrement, les comptes rendus, la mise en mémoire ou la récupération des données d'analyse, le laboratoire doit s'assurer que :

- a) les logiciels de l'ordinateur, y compris celui qui est incorporé dans le matériel, sont documentés et validés comme il convient pour l'utilisation dans les locaux,
- b) des procédures sont établies et mises en oeuvre, visant à protéger l'intégrité des données à tout moment,
- c) les ordinateurs et les matériels automatisés sont entretenus pour assurer leur bon fonctionnement et qu'ils bénéficient des conditions d'environnement et de fonctionnement nécessaires pour garantir l'intégrité des données des analyses, et
- d) les logiciels et les programmes informatiques sont correctement protégés afin d'empêcher tout accès, modification ou destruction par du personnel occasionnel ou non autorisé.

Ecart(s) constaté(s) :

- les logiciels utilisés ne sont pas validés sur site (transmission des informations automate-SIL etc.)
- la protection des données contre tout accès non autorisé est assurée par un mot de passe qui n'est pas périodiquement modifié.

Action(s) proposée(s) :

- ↳ Réaliser la validation du système informatique selon une procédure à rédiger
- ↳ Améliorer la sécurité des données en modifiant la procédure correspondante et en diffusant les modifications.

5.4-Procédures préanalytiques

5.4.2 Des instructions spécifiques relatives au prélèvement et à la manipulation des échantillons primaires doivent être documentées et mises en œuvre par la direction du laboratoire (voir 4.2.4) et être mises à la disposition des responsables du prélèvement des échantillons primaires. Ces instructions doivent figurer dans un manuel de prélèvement des échantillons primaires.

Ecart(s) constaté(s) :

Il n'existe pas de manuel de prélèvement des échantillons primaires

Action(s) proposée(s) :

↳ Rédiger un manuel de prélèvement des échantillons primaires

5.4.6 Le laboratoire doit s'assurer que les échantillons ont été transportés au laboratoire

a) en respectant un délai approprié à la nature des analyses demandées et à la discipline concernée,

b) à une température spécifiée dans le manuel de prélèvement des échantillons primaires et avec les agents stabilisants recommandés pour assurer l'intégrité des échantillons, et

c) d'une manière qui garantisse la sécurité du transporteur, des personnes dans leur ensemble et du laboratoire destinataire, conformément aux exigences réglementaires nationales, régionales ou locales.

Ecart(s) constaté(s) :

- le délai avant centrifugation dans les 4 à 6 heures qui suivent le prélèvement des spécimens d'hémostase est régulièrement dépassé par rapport aux recommandations du GEHT, notamment pour les prélèvements à domicile.

- la température de transport des échantillons d'hémostase par les coursiers n'est pas contrôlée ni enregistrée.

- certains laboratoires de la SELARL centrifugent leurs échantillons d'hémostase avant de les envoyer par coursier, à l'aide de centrifugeuses non thermostatées, contrairement aux recommandations du GEHT.

- la centrifugation des échantillons d'hémostase est réalisée durant dix minutes à « 4000 trs/min » (pas de définition en g), contrairement aux recommandations du GEHT (15 min, 2000-2500g)

- certains échantillons d'hémostase ne sont pas acheminés dans des boîtes, en position verticale, mais dans des sachets, non stabilisés, sans absorbant.

Action(s) proposée(s) :

↳ demander aux secrétaires d'organiser la tournée des préleveurs à domicile pour que les patients pour lesquels des examens d'hémostase sont prescrits, soient prélevés en dernier, afin de respecter les délais requis. Si cela n'est pas possible, le préleveur à domicile devra déposer les échantillons d'hémostase risquant d'être traités hors délai au laboratoire, puis reprendre sa tournée.

↳ exiger des prestataires de transport un enregistrement continu des températures de leurs différents compartiments à l'aide de sondes contrôlées, ainsi que la fourniture de relevés de ces températures.

↳ diffuser une note d'information dans la SELARL rappelant les conditions de transport à respecter en ce qui concerne le triple emballage et la position verticale des tubes conformément à la procédure de transport

5.4.8 Des critères doivent être élaborés et documentés concernant l'acceptation ou le rejet des échantillons primaires. Si des échantillons primaires altérés sont acceptés, le compte rendu final doit indiquer la nature du problème et, le cas échéant, les réserves qui en résultent pour l'interprétation des résultats.

Ecart(s) constaté(s) :

-les critères « techniques » (en dehors des problèmes d'identité etc.) d'acceptation et de rejet des échantillons primaires d'hémostase, notifiés dans le système documentaire ne sont pas pertinents (absence de corrélation avec les recommandations du GEHT)

Action(s) proposée(s) :

↳ Définir les critères d'acceptation ou rejet des échantillons primaires d'hémostase en reprenant les recommandations du GEHT

↳ Evoquer l'éventualité d'accepter un échantillon ne répondant pas à ces critères, et la procédure de traitement d'un tel échantillon : indication sur les comptes rendus des résultats, critères permettant de déroger etc.

5.4.11 Le laboratoire doit, le cas échéant, disposer d'une procédure documentée pour la réception, l'étiquetage, le traitement et le compte rendu des résultats correspondants à des échantillons primaires et spécifiés urgents reçus par le laboratoire. La procédure doit inclure les détails de tout étiquetage particulier de la feuille de prescription et de l'échantillon, le mode de transfert de l'échantillon primaire à l'endroit où sont effectuées les analyses dans le laboratoire, le mode de traitement rapide à utiliser et les critères de compte rendu particuliers à suivre.

Ecart(s) constaté(s) :

-Il n'existe pas de procédure documentée dédiée à la gestion des demandes effectuées en urgence

Action(s) proposée(s) :

↳ Rédiger une procédure documentée dédiée à la gestion des échantillons correspondants

5.4.13 Le laboratoire doit avoir une politique écrite concernant les prescriptions d'analyses formulées oralement.

Ecart(s) constaté(s) :

La politique écrite concernant les prescriptions d'analyses formulées oralement est imprécise

Action(s) proposée(s) :

↳ Définir au sein de la procédure « demandes d'analyses », la politique concernant les prescriptions formulées oralement

5.5-Procédures analytiques

5.5.2 Le laboratoire doit utiliser uniquement des procédures validées pour s'assurer qu'elles conviennent à l'utilisation prévue. Les validations doivent être aussi approfondies que nécessaire pour répondre aux besoins de l'application ou du domaine d'application concerné(e). Le laboratoire doit enregistrer les résultats obtenus et la procédure utilisée pour la validation.

Les méthodes et les procédures sélectionnées doivent être évaluées et donner des résultats satisfaisants avant d'être utilisées pour les analyses médicales. Une revue des procédures par le directeur du laboratoire ou une personne désignée doit être réalisée à l'origine à intervalles définis. Ces revues sont généralement effectuées une fois par an. Ces revues doivent être documentées.

Ecart(s) constaté(s) :

-Il n'existe pas de procédure de vérification/validation des méthodes

Action(s) proposée(s) :

↳ Rédiger une procédure de vérification/validation des méthodes

5.5.6 Le laboratoire doit dresser une liste de ses procédures analytiques courantes, incluant les exigences relatives aux échantillons primaires, les spécifications et les exigences d'exécution pertinentes mises à la disposition des utilisateurs des services du laboratoire à leur demande

Ecart(s) constaté(s) :

Il n'existe pas de liste des procédures analytiques courantes du laboratoire

Action(s) proposée(s) :

↳ Dresser une liste des procédures analytiques courantes

5.6 Assurer la qualité des procédures analytiques

5.6.1 Le laboratoire doit concevoir des systèmes de contrôle interne de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue. Il est important que ce système de maîtrise permette aux membres du personnel d'obtenir des informations claires et faciles à comprendre sur lesquelles baser leurs décisions techniques et médicales. Il convient de veiller particulièrement à éliminer les erreurs susceptibles de se produire dans le processus de traitement des échantillons, des prescriptions, des analyses, des comptes rendus, etc.

Ecart(s) constaté(s) :

La procédure de gestion des CIQ ne guide pas l'interprétation de leurs résultats, ni la conduite à tenir en cas de résultats non conformes

Action(s) proposée(s) :

↳ Refondre complètement la procédure de gestion des CIQ

5.6.2 Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans les cas où cela est pertinent et possible. Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure l'échantillonnage, la préparation des échantillons, la sélection des aliquotes d'échantillon, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée, l'équipement utilisé, les conditions environnementales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateur.

Ecart(s) constaté(s) :

L'incertitude des résultats en hémostase n'est pas déterminée

Action(s) proposée(s) :

☞ **Calculer l'incertitude de mesure en ce qui concerne les examens d'hémostase, en mettant en place un mode opératoire précis.**

5.8 Procédures post-analytiques

5.8.7 Le laboratoire doit disposer de procédures permettant d'avertir immédiatement un médecin (ou tout autre personnel chargé des soins du patient) lorsque les résultats des analyses effectuées se situent dans les intervalles «d'alerte» ou «critiques» établis. Cela inclut les résultats transmis concernant les échantillons envoyés à des laboratoires sous-traitants.

5.8.8 Afin de pouvoir répondre aux besoins cliniques locaux, le laboratoire doit déterminer les limites critiques et leurs seuils «d'alerte» ou «critiques», en accord avec les cliniciens faisant appel au laboratoire. Cela s'applique à toutes les analyses, y compris les propriétés nominale et ordinale.

Ecart(s) constaté(s) :

- Les intervalles d'alerte ne sont pas pertinents et peu connus du personnel en ce qui concerne l'hémostase

- Lorsqu'un résultat est situé dans l'intervalle d'alerte, la conduite à tenir pour communiquer celui-ci est explicitée, mais pas la traçabilité de celle-ci.

Action(s) proposée(s) :

☞ **Réviser les intervalles d'alerte et diffuser le document correspondant**

☞ **Notifier dans la procédure «compte rendu des résultats » la nécessité pour chacun de tracer la communication d'un résultat critique dans le SIL.**

ANNEXE 2

Procédure générale en hémostase



D2 - PR 02

Procédure générale en hémostase

Laboratoire de la gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Classification Bioqualité : D2-Validation analytique

Page 1/10

Rédaction : Dan Benisty

Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers

Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache

Le 24/06/2010

1. Objet

Cette procédure décrit les responsabilités et les principes pour la réalisation des examens d'hémostase. Elle s'applique à l'ensemble des prélèvements effectués par le laboratoire (au laboratoire ou à l'extérieur : à domicile, en clinique...) ou reçus par celui-ci de l'extérieur.

2. Documents associés

- D3MO008 « Utilisation du STA Compact »
- D1PR001 « Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase »
- L2PR001 « Élimination des déchets »
- L1PR001 « Gestion des locaux et sécurité du personnel »
- I2PR002 « Gestion des enregistrements et archivage »
- E1PR001 « Validation biologique »
- C3INS003 « Conservation des échantillons biologiques »
- D1INS002 « Contrôle externe de la qualité en hémostase »

3. Responsabilités

Les techniciens sont responsables de la réalisation des examens, de la validation analytique. Le biologiste est responsable de la validation biologique des résultats, de l'édition des comptes-rendus, et de leur signature.

4. Déroulement de l'activité

4.1 Principes et pré-requis

-Temps de Quick :

Intérêt clinique :

Le temps de Quick permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation II, V, VII, X, ainsi que le fibrinogène.

Un allongement du temps de Quick a été observé dans les situations cliniques suivantes :

- déficits congénitaux ou acquis en facteurs II, V, VII, X ou fibrinogène (1)
- insuffisance hépatique (cirrhose, hépatite) (1)
- administration d'anti-vitamine K (1)
- hypovitaminoses K : carence d'apport, trouble de l'absorption ou du métabolisme de la vitamine K (maladie hémorragique du nouveau-né, cholestase, antibiothérapie) (2)
- fibrinolyse
- coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD) (1)

-Principe de l'examen :

technique chronométrique

Comparaison, en présence de thromboplastine calcique, du temps de coagulation du plasma patient à celui d'un témoin normal de référence.

Explore les facteurs II, V, VII, X ainsi que le fibrinogène.

-INR

La sensibilité des différentes thromboplastines à l'effet des AVK est variable. Il existe donc un défaut de standardisation du TP.

⇒ indexation du TP en fonction du réactif et de l'appareillage pour donner un INR (International Normalized Ratio) (3)

$$\text{INR} = \left[\frac{\text{TQ malade}}{\text{TQ témoin}} \right]^{\text{ISI}}$$

ISI = International Sensibility Index (indiqué par le fournisseur pour chaque lot de néoplastine), par rapport à la thromboplastine de référence.

-Temps de céphaline + activateur :

-Intérêt clinique

Il permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation de la voie endogène (facteurs XII, XI, IX, VIII, X, V, II) ainsi que le fibrinogène.

On peut observer un allongement du TCA dans les cas suivants (4)

– Déficits congénitaux en facteurs de la voie endogène ou en kininogène de haut poids moléculaire (facteur Fitzgerald).

– Anomalies ou déficits acquis

◇ affections hépatiques

◇ coagulopathies de consommation

◇ anticoagulants circulants (antiprothrombinase ou anticoagulant circulant dirigé contre un facteur)

◇ traitement anticoagulant (héparine, antivitamine K)

◇ traitement par les inhibiteurs de la thrombine (ex. hirudine, argatroban...)

-Principe de l'examen

technique chronométrique

Temps de recalcification plasmatique en présence de céphaline (substitut plaquettaire) et d'un activateur polyphénolique (activation standardisée du facteur XII). On explore ainsi la voie intrinsèque de la coagulation (facteurs XII, XI, IX, VIII, X, V, II et I) à l'exception des plaquettes.

-Fibrinogène plasmatique :

-Intérêt clinique

On observe une augmentation du taux du fibrinogène plasmatique en cas de diabète, de syndrome inflammatoire, d'obésité (5). Ce taux diminue lors de consommation exagérée du fibrinogène (CIVD, fibrinogénolyse) (6). De plus, le fibrinogène semble être impliqué dans la pathogénicité des accidents thrombotiques cardiovasculaires (7,8,9)

Principe de l'examen : technique chromométrique

En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma, dilué dans des proportions adéquates, est directement fonction du taux de fibrinogène plasmatique

D-Dimères plasmatiques :

-Intérêt clinique

Ils augmentent dans diverses situations physiologiques et/ou pathologiques

– Thromboses

Un taux normal de D-dimère est un élément majeur d'exclusion du diagnostic de thrombose veineuse profonde en évolution ou d'embolie pulmonaire. (10,11)

– Coagulations intravasculaires disséminées (CIVD)

Dans les CIVD, le système fibrinolytique est activé et on observe une augmentation du taux de D-dimère. Le dosage du D-dimère peut ainsi participer au diagnostic de CIVD (12)

– Etats d'activation de la coagulation

Le taux de D-dimère augmente dans les états d'activation de la coagulation puisque ceux-ci induisent la formation de thrombine, puis de fibrine et donc une fibrinolyse, le plus souvent réactionnelle. Le taux de D-dimère s'élève donc de façon décalée par rapport à l'activation de la coagulation.

Ainsi on peut constater une augmentation du taux de D-dimère dans les cas suivants : périodes post-opératoires, cancers, hémorragies, pathologies infectieuses sévères.(13)

-Principe de l'examen

Dosage quantitatif par méthode immunoturbidimétrique

Ce dosage est basé sur l'augmentation de la turbidité d'une suspension de microparticules de latex mesurée par photométrie. Lorsque des microsphères de latex sur lesquelles sont fixés par covalence des anticorps monoclonaux spécifiques du D-dimère sont mises en présence du D-dimère du plasma à tester, la réaction antigène-anticorps entraîne une agglutination de ces microsphères. Ce phénomène induit une augmentation de la turbidité du mélange réactionnel et donc une élévation de l'absorbance du milieu. L'amplitude de cette augmentation est fonction de la quantité de D-dimère contenue dans le plasma testé.

4.2 Réalisation des examens d'hémostase

-PRE-ANALYTIQUE (14)

Préparation du patient si possible

- le matin, si possible au repos depuis plus de 5 minutes, en position assise
- un repas léger sans matières grasses est autorisé
- tabac, exercice physique, caféine sont à éviter

Choix des tubes

- tube à prélèvement sous vide, marquage CE.
- L'anticoagulant de référence est le citrate de sodium. La concentration recommandée pour la coagulation est 0,109 mol/L (3,2%). Le rapport anticoagulant/sang est de 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang.

Des réserves doivent être émises pour les résultats si l'hématocrite est > 55% ou < 30%.

Taille optimale de l'aiguille

Diamètre compris entre 19 G (1mm) et 22 G (0.7mm). Prélèvements pédiatriques : aiguilles de diamètre 23 G acceptables.

Les aiguilles à ailettes de type « épicroânienne » peuvent être utilisées si la tubulure est courte (longueur < 6cm et volume mort < 150 µl).

Garrot

Peu serré, maintenu si possible moins d'1 minute. Si les veines sont fines ou difficiles, le laisser en place en le serrant modérément. Avec les tubes sous vide, dès que le sang afflue dans le tube, le garrot doit être desserré.

Ordre de prélèvement des tubes

- 1 - Tube sec
- 2 - Tube citraté
- 3 - Les autres tubes (EDTA, héparine...)

En cas de bilan comportant un examen unique d'hémostase, le premier tube peut être conservé, si la ponction veineuse est franche et si le bilan ne comporte que des tests courants de coagulation. Cette recommandation s'applique particulièrement pour la surveillance des traitements par antivitamines K.

Remplissage des tubes

>90% recommandé, 80% acceptable

-Conditions de stabilité :

| | Sang total à 20-25°C | | Plasma à 20-25°C | |
|-------------|----------------------|------------|------------------|------------|
| | GEHT | OMS | GEHT | OMS |
| TP | 6h | 4h à 1jour | nc | 4h à 1jour |
| TCA | 4h | 8-12h | nc | 2-8h |
| fibrinogène | nc | 8h | nc | 1-7 jours |
| D-dimères | nc | 8-24h | nc | 8h |

Si les délais indiqués sont dépassés les échantillons sont refusés, une non-conformité est ouverte, le prescripteur est prévenu conformément à la procédure des non-conformités. Une dérogation est possible.

-Conditions de transport et de conservation :

Dans les véhicules de transport, les échantillons doivent être en position verticale. La température de transport et de conservation des échantillons avant la réalisation des tests doit être comprise entre 18°C et 22°C.

ANALYTIQUE.....

-Centrifugation (préparation d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP) :

Vitesse et durée et température : 2000g pendant 15 minutes, température ambiante (18-22°C) dans centrifugeuse thermostatée.

-Pour le passage de l'échantillon sur l'automate, se reporter à : D3MO008 – « Utilisation du STA Compact »

POST-ANALYTIQUE.....

a/ Intervalles de référence

Temps de Quick et Taux de prothrombine :

Le taux de prothrombine est un résultat en pourcentage obtenu en reportant le temps de Quick obtenu pour le plasma à tester sur la droite de Thivolle (obtenue en testant des dilutions successives d'un plasma témoin normal). L'activité du plasma normal étant par définition de 100 %, celle du plasma normal dilué au demi de 50 %, etc. L'automate effectue automatiquement la corrélation.

Le taux de prothrombine est habituellement supérieur à 70 % (2)

INR :

L'intervalle de référence de l'INR varie en fonction de l'indication du traitement AVK.

Dans la plupart des indications, un INR compris entre 2 et 3 est recommandé.

Les exceptions concernent, de manière non exhaustive, l'anticoagulation de prothèse valvulaire cardiaque utilisant des valves mécaniques, certaines indications lors de l'infarctus du myocarde et la prévention des thromboses chez les patients porteurs de syndrome des antiphospholipides où un INR compris entre 2,5 et 3,5 est recommandé voire pour certains un INR entre 3 et 4,5 (15)

TCA:

Le TCA d'un patient est considéré normal, si le rapport TCA patient / TCA témoin est inférieur à 1.2 (ce qui correspond à une valeur inférieure à moyenne témoin + 2 écarts-types)

Le TCA mesuré peut être plus court que celui du témoin normal en cas de problème de prélèvement (activation de la coagulation in vitro) taux élevé de facteur VIII (syndrome inflammatoire, grossesse) et chez certains patients ayant une résistance à la protéine C activée (16).

Si le rapport est > à 1,2, un TCA corrigé (malade+témoin) est déclenché, l'indice de Rosner évaluant la correction de l'allongement par le témoin est calculé (17) : le témoin est un pool de trois patients normaux du jour : 500 µl de chaque tube

$$\text{Indice de Rosner} = \frac{\text{TCA (M + T)} - \text{TCA (T)}}{\text{TCA (M)}} \times 100$$

| Indice de Rosner | Conclusion |
|------------------|-------------|
| < 12 % | Corrigé |
| 12 % < IR < 15 % | Douteux |
| > 15 % | Non corrigé |

La conclusion est alors la suivante :

>15% = présence probable d'ACC, exploration complémentaire de la voie endogène souhaitable
 12-15% = présence possible d'ACC, exploration complémentaire de la voie endogène souhaitable
 <12% = une recherche d'un déficit de facteur(s) de la voie endogène est souhaitable

Fibrinogène plasmatique :

Le taux plasmatique du fibrinogène est généralement compris chez l'adulte entre 2 et 4 g/l (18)

D-dimères :

Le taux plasmatique des D-dimères chez l'adulte est généralement inférieur à 0,5µg/ml (19)

b/Interprétation des résultats (variations pathologiques) valeurs d'alerte ou critiques

| Nature de l'analyse | Valeurs entraînant une vérification | SEUIL D'ALERTE |
|------------------------------------|-------------------------------------|----------------|
| TP (patient ne recevant pas d'AVK) | < 70 % | < 50% |
| INR | INR < 1.5 | INR <1.5 |
| | INR >5 | INR >5 |
| TCA | Rapport >1.2 | Rapport >1.2 |
| FIBRINOGENE | > 4 g/l | < 1g/l |
| | < 2 g/l | > 6g/l |
| D DIMERES | > 500 ng/ml | > 500 ng/ml |

*Au-delà du seuil d'alerte le technicien prévient le Biologiste, et le Biologiste prévient le prescripteur, ou s'il est injoignable, le patient lui-même. Il trace ce fax ou cet appel téléphonique dans le dossier du patient dans le SIL.

Variations acceptées entre le premier passage et la vérification (arrondies pour faciliter le travail du technicien, sans pour autant que cela n'ait de relevance médicale) :

Selon la norme Iso 5725-6, $x_1-x_2 \leq 2.8 Sr$

Avec x_1 = premier passage ; x_2 = deuxième passage ; Sr = écart type de répétabilité de la méthode

Sr (TP) = 2.26 % donc repasse acceptée si $x_1-x_2 \leq 7 \%$

Sr (TCA) = 0.3 sec donc repasse acceptée si $x_1-x_2 \leq 1 \text{ sec}$

Sr (fibrinogène) = 0.05 g/l donc repasse acceptée si $x_1-x_2 \leq 0.15 \text{ g/l}$

Sr (D-dimères) = 0.04 µg/ml donc repasse acceptée si $x_1-x_2 \leq 0.12 \text{ µg/ml}$

Si le résultat de la vérification est hors des limites fixées, un CIQ est analysé et éventuellement une maintenance effectuée.

Si l'incohérence persiste sur deux nouveaux passages, le dossier est bloqué, et en l'absence de cause retrouvée, le patient sera prévenu et reprélevé. Une non-conformité est ouverte.

c/ Validation biologique :

Se reporter au document : E1PR001– « Validation biologique »

4.3 Conservation post-analytique :

Tous les résultats d'hémostase sont rendus le jour-même.

CONTROLES DE QUALITE ET ETALONNAGE.....

D1PR001 - Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase

D1INS002 - Contrôle externe de la qualité en hémostase

D1INS 03 - Analyse des contrôles internes de la qualité en hémostase

D1INS 05 -Analyse du contrôle national de qualité

TRACABILITE.....

L'ensemble des données sont gérées et enregistrées sur le LGQ

-enregistrement des calibrations

-planning de maintenances préventives et curatives

-enregistrement des maintenances préventives et curatives

-gestion des stocks de réactifs, et consommables (bons de commandes, de réception)

-enregistrements des CEQ et CIQ

LIMITES DE LA METHODE.....

Temps de Quick (taux de prothrombine)

- **Prélèvement**

Une amorce minime de la coagulation (micro-caillots) entraîne un raccourcissement important des temps mesurés (activation autocatalytique de l'ensemble des facteurs), alors qu'une coagulation plus poussée les allonge (consommation des facteurs et du fibrinogène). Ne pas conserver le plasma à 2-8 °C, car le facteur VII est susceptible de s'activer à cette température (système des kallibréines) (2).

- **Anticoagulant**

Respecter le rapport entre le volume d'anticoagulant et celui du sang prélevé. En cas de variation importante de l'hématocrite, modifier la quantité d'anticoagulant en fonction de celui-ci.

- **Héparines**

Il a été montré que la présence d'héparines non fractionnées ou d'héparines de bas poids moléculaire n'interférait pas dans le test jusqu'à des concentrations respectives de 1 UI/ml et 1,5 UI anti-Xa/ml.

- **Inhibiteurs de la thrombine**

Les inhibiteurs de la thrombine (ex. hirudine, argatroban...) présents dans l'échantillon à tester sont susceptibles d'entraîner un allongement du temps de Quick de cet échantillon.

Temps de céphaline + activateur

-Le STA® - Cephascreen® est généralement insensible aux déficits en prékallibréine. Il est reporté dans la littérature que "les patients déficitaires homozygotes (en prékallibréine) n'ont aucune manifestation hémorragique particulière" (20)

D-dimères

-Le taux de D-dimère de plasmas particulièrement turbides peut être sous-estimé (la valeur de l'absorbance à 540 nm du plasma dilué au 1/6 en STA® - Owren-Koller doit être inférieure à 0,35).

-Des taux de produits de dégradation du fibrinogène supérieurs à 15 µg/ml peuvent entraîner une surestimation du taux de D-dimère.

-La présence de facteur rhumatoïde à une concentration supérieure à 50 UI/ml peut induire une surestimation du taux de D-dimère.

-Il a été montré que l'hémoglobine, la bilirubine et les héparines (non fractionnées et de bas poids moléculaire) n'interféraient pas dans ce dosage jusqu'à des concentrations respectives de 5 g/l, 200 mg/l et 2 UI/ml.

-La présence d'anticorps anti-albumine bovine et/ou anti-souris chez certains sujets peut entraîner une surestimation du taux de D-dimère

REMARQUES, PRECAUTIONS.....

Pour l'ensemble des tests : respecter scrupuleusement les recommandations pré-analytiques

Pour le temps de quick :

Les barreaux aimantés utilisés pour l'homogénéisation du réactif ne doivent pas être à l'origine de contamination. Pour éviter cela, avant tout transfert du barreau dans un nouveau flacon, rincer le barreau à l'eau distillée et l'essuyer afin d'enlever toute trace d'humidité. De plus chaque semaine, effectuer une décontamination du barreau en procédant de la façon suivante :

- mettre le barreau sous agitation dans un flacon de STA® - Desorb U (REF 00975) pendant 5 minutes
- le transférer dans un flacon d'eau distillée et laisser sous agitation 5 minutes
- renouveler cette dernière opération avec un nouveau flacon d'eau distillée
- essuyer le barreau pour enlever toute trace d'humidité.

L'appareil est programmé pour réaliser automatiquement une dilution au 1/2 si le résultat dépasse les 2000 ng/ml

HYGIENE ET SECURITE.....

L2PR001 - Élimination des déchets

L1PR001 - Gestion des locaux et sécurité du personnel

5. Classement, archivage, conservation des échantillons

I2PR002 - Gestion des enregistrements et archivage

C3INS003 - Conservation des échantillons biologiques

Les tubes d'hémostase sont conservés jusqu'à la fermeture du laboratoire, sur la pailleuse d'hémostase à température ambiante, puis jetés dans le conteneur DASRI.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES (Annexées)

1-CAEN J., LARIEU M.J., SAMAMA M. : « L'hémostase. Méthodes d'exploration et de diagnostic pratique ». Paris : L'expansion scientifique, 344-347, 1975.

2-SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B. : « Manuel d'hémostase ». Paris : Editions scientifiques et médicales Elsevier,147-163, 1995.

3-BEESER H. : "Critical evaluation of the so far experience using the WHO model of prothrombin time calibration and outlook for further development" Haemostasis, 18, suppl. 2, 181-182,1988.

4-SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T. : "Physiologie et exploration de l'hémostase". Doin :,Paris:, 152-153, 1990.)

5-ALESSI M.C., AILLAUD M.F., JUHAN-VAGUE I. : "Facteurs de risque thrombogènes et athérosclérose". Feuil. Biol., XXXV, 197, 39-41, 1994. ;

6-SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T. : "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris : Doin, 123-137, 153-155, 1990.

7-ERNST E., RESCH K.L. : "Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature". Ann. Intern. Med., 118, 12, 956-963, 1993

- 8-ALESSI M.C., AILLAUD M.F., JUHAN-VAGUE I. : "Facteurs de risque thrombogènes et athérosclérose". Feuil. Biol., XXXV, 197, 39-41, 1994. ;
- 9-HARRISON K.A., HAIRE W.D., PAPPAS A.A., PURNELL G.L., PALMER S., HOLDEMAN K.P., FINK L.M., DALRYMPLE G.V. : "Plasma D-dimer: a useful tool for evaluating suspected pulmonary embolus". J. Nucl. Med., 34, 6, 896-898, 1993.
- 10-BOUNAMEAUX H., DE MOERLOOSE P., PERRIER A., REBER G. : "Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview". Thromb. Haemostasis, 71, 1, 1- 6, 1994. ;
- 11-BOUNAMEAUX H. : "Biological markers of acute venous thrombosis and pulmonary embolism", dans "Hypercoagulable states", Seghatchian M.J., Samama M.M., Hecker S.P., Boca Raton : CRC Press, 129-137, 1996.)
- 12-LECOURVOISIER C., TOULON P. : "Intérêt du dosage des D-dimères dans le diagnostic d'exclusion de l'embolie pulmonaire". Ann. Biol. Clin., 59, 6, 693-700, 2001
- 13-LECOURVOISIER C., TOULON P. : "Intérêt du dosage des D-dimères dans le diagnostic d'exclusion de l'embolie pulmonaire". Ann. Biol. Clin., 59, 6, 693-700, 2001
- 14-GEHT : Recommandations 2007 : prélèvements destinés aux tests d'Hémostase Catherine Boinot et composé de B. Delahousse, C. Droullé, M.F. Hurtaud, B. Polack et A. Robert / - World Health Organization : Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations : WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002).
- 15-Hirsh J, Dalen JE, Anderson DR, Poller L, Bussey H, Ansell J, Deykin D, Brandt JT. Oral anticoagulants. Mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. Chest 1998; 114 (Suppl.): 445s-469s
- 16-BIOLOGIE : LA PHASE PRE ANALYTIQUE TEMPS DE CEPHALINE + ACTIVATEUR (TCA) : <http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/preanalytique/hemato/tca.htm>
- 17-Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome L. Darnige * La revue de médecine interne""(2005) REVMED 2663
- 18-SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T. : "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris : Doin, 123-137,153-155, 1990
- 19-GIANSANTE C., FIOTTI N., CATTIN L., DA COL P.G. : "Fibrinogen, D-dimer and thrombin-antithrombin complexes in a random population sample: relationships with other cardiovascular risk factors". Thromb. Haemostasis, 71, 5, 581-586, 1994
- 20-BORG J.Y. : "Déficits constitutionnels en facteur de la coagulation en dehors de l'hémophilie" dans "Manuel d'hémostase", J. Sampol, D. Arnoux, B. Boutière, Paris : Elsevier, 359-377, 1995

ANNEXE 3

**Procédure : Validation analytique, gestion
des contrôles de qualité et étalonnage en
hémostase**



Laboratoire de la Gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

D1 - PR 01**Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase**

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et des calibrations

Rédaction : Dan Benisty

Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers

Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache

Le 24/06/2010

Page 1/7

1. Objet et domaine d'application :

Cette procédure décrit les modalités et responsabilités de validation analytique garantissant le bon fonctionnement de l'appareil dédié à l'hémostase. Elle précise les principes de gestion des évaluations internes et externes de qualité, ainsi que des étalonnages.

Domaine d'application : automate d'hémostase STA Compact (analyses dites de type «quantitatif vrai», cf.GTA06) pour les analyses suivantes : Taux de prothrombine, temps de céphaline+ activateur, D-dimères, fibrinogène.

2. Documents associés

| | |
|-------------|---|
| D2- PR002 | « Procédure générale en hémostase » |
| D3 – MO008 | « Utilisation du STA Compact » |
| D1 – INS 02 | « Contrôle externe de la qualité en hémostase » |
| D1 – INS 03 | « Analyse des contrôles internes de la qualité en hémostase » |
| D1 – INS 04 | « Etalonnage en hémostase » |
| D1 – INS 05 | « Analyse du contrôle national de qualité » |
| D1 – ENR 01 | « Enregistrement du contrôle de Qualité National » |
| D1 – ENR 02 | « Enregistrement du calcul d'un temps témoin en hémostase (TQ et TCA) » |
| D1 – ENR 03 | « Enregistrement du ciblage d'un nouveau lot en hémostase » |
| THEMEXT013 | « Coag contrôle NP » |
| THEMEXT021 | « Unicalibrator » |
| THEMEXT023 | « Liatest contrôle » |

3. Responsabilités, définitions et abréviations (1, 2)

Les techniciens sont responsables des commandes, réception, stockage, préparation des spécimens de contrôle (pré-traitement), dosage des spécimens de contrôle, interprétation immédiate, actions curatives, correctives, et préventives (en collaboration avec le biologiste le cas échéant), validation analytique et transmission des résultats de CIQ et CEQ, mises à jour (reciblage, limites d'acceptabilité), archivage. Ils informent le biologiste en cas de problème sur le passage des contrôles qualité selon les modalités décrites ci-dessous.

Le biologiste est responsable du choix des spécimens de contrôle, du suivi des évaluations externes de qualité (contrôle national de qualité et contrôle externe de qualité) et internes, et de l'analyse continue des résultats.

Définitions, abréviations (LAB GTA 04)

Contrôle Interne de la Qualité (CIQ) : procédure réalisée au sein du laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction de limites de tolérance préétablies. Les matériaux de contrôle interne de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

-Contrôle externe de qualité (Evaluation externe de la qualité), CEQ ou EEQ : procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais d'une comparaison interlaboratoire réalisée par une tierce organisation. Les matériaux de contrôle externe de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

-Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale (CNQ) : Le contrôle de qualité des analyses de biologie médicale tend à assurer la fiabilité et le perfectionnement des analyses de biologie médicale dans l'intérêt général de la santé publique. Pour ce faire, il détermine la valeur des résultats des analyses exécutées par chacun des laboratoires qui y est soumis, compte tenu des techniques, des réactifs et du matériel employés, en les comparant, le cas échéant, avec les résultats obtenus par l'ensemble des laboratoires habilités à exécuter ces mêmes catégories d'analyses. La publication de ces résultats permet également à chaque laboratoire de vérifier la valeur de ses techniques et son bon fonctionnement

-LGQ : logiciel de gestion de la qualité

4. Déroulement de l'activité

1^{er} objectif : Contrôle de la calibration de l'automate (1)

Dans le cas du STA Compact, les réactifs bénéficient d'une précalibration d'usine, qui sera automatiquement intégrée par l'automate lors du changement de lot, le CIQ passé à la suite validera celle-ci. Les calibrations d'usine sont tracées dans le système informatique de l'automate. Le résultat de la calibration, parafé par la personne l'ayant réalisée, est numérisé et tracé par un technicien dans le LGQ dans les meilleurs délais. L'étalonnage du TQ est traité en 4.2

2nd objectif : contrôle continu de reproductibilité et de justesse (1)

-Détection des séries présentant une erreur systématique ou aléatoire inacceptable, et identification de l'erreur pour définir des actions correctives.

Une erreur systématique conduit à des résultats anormalement abaissés ou augmentés affectant tous les spécimens d'une valeur du même ordre de grandeur, soit (erreur systématique proportionnelle), soit indépendante de la concentration (erreur systématique constante).

Une erreur aléatoire conduit à des résultats anormalement abaissés ou augmentés de façon fortuite sans affecter tous les spécimens analysés d'une valeur de même signe et du même ordre de grandeur.

4.1/ Réalisation d'un étalonnage

cf. D1 – INS 04 « Etalonnage en hémostasie »

4.2/Particularités pour le temps de Quick et le TCA :

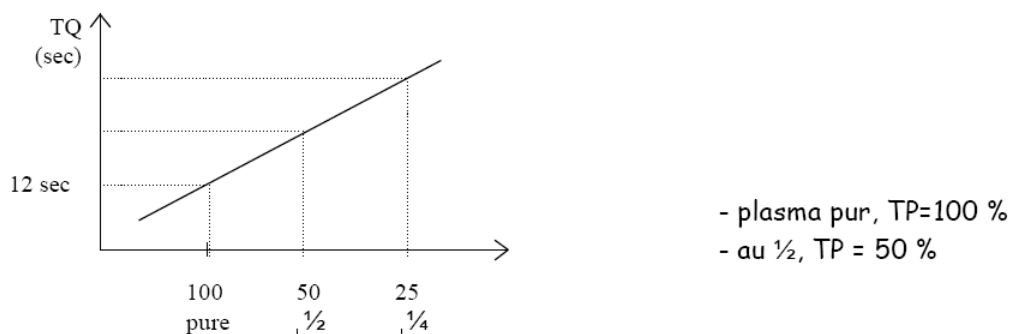
→ Conversion du temps de Quick en taux de prothrombine :

La conversion du Temps de Quick en taux de prothrombine exige à chaque changement de lot de néoplastine

-le calcul d'un temps témoin : une moyenne des temps de Quick déterminée à partir de 20 sujets normaux (>70%) et calculée dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour déterminer le temps de Quick du patient : même lot de réactifs et même instrument.

-la construction d'une droite d'étalonnage dite de Thivolle avec l'unicalibrator (STAGO) :

Mesure du TQ d'un pool de plasma témoin : pur, puis dilué au $\frac{1}{2}$, puis au $\frac{1}{4}$: report sur un graphique des temps qui permettent de faire correspondre le TP associé : (3)



L'automate intègre automatiquement l'équation de la droite ainsi tracée, équation qui sera appliquée à tous les temps de Quick pour les convertir en taux de prothrombine.

→ Le TCA

Un TCA patient est dit normal si TCA patient / TCA témoin < 1,2.

Le TCA témoin correspond au temps moyen, obtenu à partir de 20 sujets normaux.

Pour le calcul du temps témoin du TQ et du TCA : les valeurs sont reportées dans un tableau excel dont la trame constitue un enregistrement D1 – ENR 02 « Enregistrement du calcul d'un temps témoin en hémostase (TQ et TCA) »

Une fois rempli, le fichier excel est enregistré et lié en pièce jointe lors de l'ouverture du lot.

4.3/Contrôles internes de qualité

4.3.1- Fréquence de passage :

- 2 niveaux de contrôle (normal et pathologique) sont passés pour les 4 paramètres d'hémostase au cours de la série analytique du matin (y compris le samedi matin)
- 2 niveaux de contrôle (normal et pathologique) sont passés pour les 4 paramètres d'hémostase au cours de la série analytique de l'après-midi.

Les CIQ sont également passés de manière occasionnelle lors de :

- Changement de lots de réactifs
- Survenue de problèmes techniques et après chaque intervention fournisseur
- Et dans tous les cas où il est jugé nécessaire

En pratique : se référer au document D1 – INS 03 « Analyse des contrôles internes de la qualité en hémostase »

4.3.2 - Réception, gestion des stocks:

A chaque arrivée d'un lot de contrôles internes de qualité, le technicien qui réceptionne et intègre au stock ce nouveau lot, vérifie l'absence de modification dans la notice du fournisseur. Il transmet ensuite cette notice au référent qualité qui, s'il y'a eu modification, se charge de l'intégrer dans le système documentaire, cette notice étant gérée comme un document externe.

En ce qui concerne la gestion des stocks, se référer au document K2-PR001 « Achat et stockage des réactifs et consommables ».

4.3.3 - Nature des spécimens, conditions de prétraitement : se référer au documents suivants

THEMEXT013 « Coag contrôle NP »

THEMEXT021 «Unicalibrator »

THEMEXT023 « Liatest contrôle »

4.3.4 - Transmission des valeurs au LGQ :

Les résultats des CIQ sont automatiquement transmis du STA au LGQ, et y sont validés analytiquement puis biologiquement.

4.3.5 - Valeurs cibles :

La valeur cible des CIQ correspond à la moyenne, recalculée à chaque nouveau résultat, par le LGQ. Dans le LGQ, les abréviations suivantes sont utilisées

VC : Valeur cible

LI : Limite inférieure ($- 2 \delta$)

LS : Limite supérieure ($+ 2 \delta$)

δ : Écart Type

Les diagrammes de Levey-Jenings sont disponibles pour chaque paramètre.

Si le CIQ viole l'une des règles de validation des CIQ énumérées ci-dessous, il apparaît en couleur (voir la légende dans le LGQ).

4.3.6 - Cas d'un nouveau lot de contrôle :

Une alerte automatique dans le LGQ avertit les techniciens au moins 7 jours avant la fin d'un lot.

Avant l'utilisation d'un nouveau lot de matériau de contrôle et pour chaque analyte, en parallèle avec le matériau précédent encore en usage, doit être déterminée la moyenne du nouveau lot (4). Elle sera établie à partir des valeurs obtenues pendant au moins 5 jours différents à raison de 2 analyses du contrôle par jour. Les CIQ du nouveau lot seront passés dans l'automate sous le nom CNXYYYY (X : 1.2.3...etc ; YYYY=N°lot) pour le niveau normal , et CPXYYYY (X : 1.2.3...etc ; YYYY=N°lot) pour le niveau pathologique.

Les valeurs sont reportées dans un tableau excel dont la trame constitue un enregistrement D1 – ENR 03 « Enregistrement du ciblage d'un nouveau lot en hémostase »

Une fois rempli, le fichier excel est enregistré et lié en pièce jointe au premier résultat du passage du nouveau lot de CIQ dans le LGQ.

Au terme de l'obtention de 15 à 20 valeurs, la moyenne et l'écart-type seront calculés, et saisis dans le LGQ lors de la mise en place du nouveau lot.

4.3.7 - Analyse des données :

a/ La reproductibilité

Elle est suivie au quotidien sur le LGQ, grâce au calcul automatique du CV par rapport à la moyenne du laboratoire, sur un recul que l'utilisateur peut faire varier (il est préférable de raisonner à partir de 20 mesures différentes sur 20 jours au moins), et la comparaison de ce CV aux spécifications préalablement établies (cf.doc STAGO).

b/ Méthode d'analyse des CIQ :

Rappel des règles de Westgard (5)

δ : écart-type

| Règle | Description |
|-----------------|---|
| 1 _{2s} | Un résultat à +/- 2 δ de la moyenne |
| 1 _{3s} | Un résultat à +/- 3 δ de la moyenne |
| 2 _{2s} | Deux résultats consécutifs à +/- 2 δ de la moyenne |
| R _{4s} | Deux résultats consécutifs dont la différence est supérieure à 4 δ |
| 4 _{1s} | 4 résultats consécutifs à +/- 1 δ de la moyenne |
| 7T | 7 Résultats consécutifs croissants ou décroissants |

Raisonnement à partir des règles de Westgard :

→ Identifier la/les règle(s) violée(s) :

Règle 1_{2s} violée : avertissement, le CIQ est conforme, il peut être validé par le technicien puis le biologiste.

Règles 4_{1s} ou 7T violées : erreurs systématiques non bloquantes, le CIQ est conforme.

Elles peuvent amener le biologiste à programmer une maintenance avant le passage de la prochaine série analytique, à s'intéresser aux problèmes éventuels du système analytique, faire le point sur les changements ayant précédé l'apparition de ces erreurs, et vérifier les points développés dans le paragraphe ci-dessous « les erreurs systématiques »

Autres règles violées : 2_{2s}, 1_{3s}, R_{4s}

Résultat de CIQ : **non conforme**

ACTION : il faut le repasser une seconde fois, après avoir recherché une cause et éventuellement après une nouvelle reconstitution.

*Si le CIQ ne viole plus de règle, il est **conforme**.

*Si l'une des règles (en dehors de la Règle 1_{2s}) reste violée, il faut adopter l'attitude suivante :

1/ Les résultats des échantillons de patients de la série analytique correspondante ne peuvent pas être utilisés, ils devront être repassés après avoir résolu le problème. Le biologiste est donc immédiatement informé oralement + obligatoirement par la transmission de la non-conformité ouverte via le LGQ, qui lui est adressée.

2/ Il faut, en fonction de la règle violée, déterminer si l'erreur est systématique ou aléatoire.

→ Déterminer le type d'erreur

règles 1_{3s} ou R_{4s} : erreur aléatoire habituellement

règles 2_s : erreur systématique habituellement

→ Eliminer les causes fréquentes d'erreurs (4)

Les erreurs grossières

Elles peuvent être dues à :

- Une erreur sur le matériau de contrôle (changement de lot, erreur de positionnement) : d'autres analytes sont alors perturbés dans le même sens ou en sens contraire
- Une mauvaise reconstitution du spécimen de contrôle, suite à un problème de pipetage (erreur de volume, pipette dérégulée, non contrôlée, erreur de liquide de reconstitution): les résultats de tous les analytes varient alors dans le même sens
- Une mauvaise conservation du spécimen de contrôle
- La congélation ou la décongélation du spécimen de contrôle : vérifier avec un spécimen frais
- La préparation ou le positionnement d'un réactif
- Le paramétrage de l'analyse

Les erreurs aléatoires

Elles peuvent concerner :

- L'opérateur : exécution incorrecte du processus de mesure ou maintenances de l'instrument non respectées
- Les réactifs : changement de lot ou détérioration du réactif lors du stockage ou de l'emploi
- Les instruments : dérèglement du système de prélèvement, du processus de mélange du milieu réactionnel (agitateurs), du photomètre (lampe, filtre, trajet optique, cuves sales) ; il peut être nécessaire d'avoir recours au service après-vente de l'instrument pour mettre en évidence ces dysfonctionnements
- Les spécimens de contrôle (voir point précédent « erreurs grossières »)

Les erreurs systématiques

- **L'erreur systématique peut être constante** : les deux spécimens de contrôle présentent un biais (valeur observée – valeur cible) de même signe et de même grandeur. Il est nécessaire de vérifier :
 - le réactif, son aspect, sa date de péremption, sa stabilité, les conditions de préparation et de stockage; si nécessaire il faut recharger en réactif neuf
 - les conditions opératoires de la réaction: température (hémotase)
 - la nature du blanc de la réaction.
- **L'erreur systématique peut être proportionnelle** : les résultats des deux spécimens de contrôle présentent un rapport de même signe et de grandeur proportionnelle. Le plus souvent l'étalonnage est concerné et il est nécessaire de s'assurer que :
 - l'étalon de travail est relié à l'étalon international lorsqu'il existe ;
 - le titre de l'étalon de travail a été judicieusement choisi en fonction de la technique utilisée et qu'il a été correctement programmé (sinon ré-étalonner et contrôler l'étalonnage) ;
 - l'étalon de travail a été correctement conservé et reconstitué (solvant, pipette, délai) : observer la valeur et l'évolution du signal ;
 - la valeur cible des cartes de contrôle a été judicieusement choisie.

→ Réaliser et tracer une action curative

-Si une cause a été retrouvée, celle-ci est immédiatement corrigée, un nouveau CIQ est passé, dont le résultat ne doit violer aucune des règles de Westgard sauf la 1_{2s}.

→ Si le CIQ est de nouveau conforme, on peut alors repasser la série de patients compris entre le dernier CIQ «conforme » et le CIQ « non conforme ». Le technicien trace l'erreur en commentaire dans le LGQ (visible en cliquant sur la valeur du contrôle dans le LGQ), ainsi que dans la non-conformité qu'il a ouverte.

→ Si le CIQ n'est toujours pas conforme et/ou qu'aucune erreur n'est manifestement retrouvée, il faut appeler le SAV du fournisseur de l'automate pour demander une intervention (tracer la demande d'intervention dans le LGQ via « maintenance occasionnelle » sur l'automate.).

La gestion de la série de patients concernés par la panne est alors effectuée comme indiqué dans le document... « CAT en cas de panne »

4.4 - Evaluation externe de la qualité : se référer aux documents suivants

Contrôle national de qualité : D1 – INS 05 « Analyse du contrôle national de qualité »

Contrôle externe de qualité : D1 - INS 002 « Contrôle externe de la qualité en hémostase »

5. Classement et archivage

Voir la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

-----Références documentaires-----

1/ Document LAB GTA 06 : le contrôle de la qualité analytique en biologie médicale, Révision 00-Juillet 2005, COFRAC, section laboratoire

2/ Site internet : [http://www.afssaps.fr/Activites/Contrôle-national-de-qualité-des-analyses-de-biologie-médicale-CNQ/CNQ-Dernières-mises-a-jour/\(offset\)/0](http://www.afssaps.fr/Activites/Contrôle-national-de-qualité-des-analyses-de-biologie-médicale-CNQ/CNQ-Dernières-mises-a-jour/(offset)/0)

3 / Thivolle,L. Etudes sur le temps de Quick et le dosage de la prothrombine. Ann. Biol. Clin. 1947, n° 5-6, 493-500.

4/ « Mise en oeuvre, utilisation et exploitation du contrôle de qualité afin d'assurer la validation analytique, la maîtrise métrologique des instruments d'analyses et la détermination de l'incertitude de mesure » SPECTRA BIOLOGIE n°157 • Janvier - Février - Mars 2007

5/ Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. Clin Chem 1981;27:493-501.)

ANNEXE 4

Mode opératoire: Utilisation du STA Compact



Laboratoire de la gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

D3 - MO 08
Utilisation du STA Compact

Classification Bioqualité : D3-Gestion des matériels

Page 1/5

Rédaction : Dan Benisty
Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers
Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache
Le 24/06/2010

1. Objet

Ce mode opératoire décrit les différentes phases de l'utilisation du STA Compact. Cet appareil permet de déterminer différents paramètres de la coagulation (TP, TCA, fibrinogène, D-dimères).

2. Documents associés

D1-PR01 « Validation analytique, gestions des contrôles de qualité et étalonnages en hémostase »

D2 - PR 01 « Validation analytique »

L2 - PR 01 « Élimination des déchets »

Manuel d'utilisateur du STA Compact

Logiciel de gestion de la qualité (LGQ) : guide de l'utilisateur

3. Responsabilités

L'utilisation de l'appareil est sous la responsabilité des techniciens habilités à travailler sur cet appareil.

4. Déroulement de l'activité

4.1. Identité et principe de l'appareil

Type : STA Compact

Fournisseur : Diagnostica Stago

Date de mise en service : 28/01/2008

Matériels associés

- 1 poste informatique
- 1 imprimante
- 1 onduleur

Consommables

| |
|---------------------------------|
| Barreau Aimanté Blanc |
| Cuvettes |
| Liquide Pelletier |
| Maxi Reducer |
| MicroContainers |
| MicroCups |
| Mini Reducer |
| Téflon + Joint Seringue amilton |

Réactifs

| | |
|------------|-------------------|
| THEMEXT009 | Fibrinogène 5 |
| THEMEXT010 | CaCl ₂ |
| THEMEXT012 | Cephascreen |
| THEMEXT014 | Desorb U |
| THEMEXT016 | Neoplastine |
| THEMEXT017 | Owren Koller |

Note : les matériaux de contrôles internes de qualité sont traités dans le document :

D1-PR01 « Validation analytique, gestions des contrôles de qualité et étalonnages en hémostase »

4.2 Mise en route

L'appareil n'est éteint que pour raison de maintenance. Si l'appareil est éteint :

- Allumer l'imprimante puis l'automate (l'interrupteur se trouve sur l'arrière gauche de l'appareil).
- Vérifier la date et l'heure et sélectionner « Continuer ».
- Préparer les réactifs, contrôles et calibrateurs (si nécessaire) et laisser stabiliser.
- Vérifier - La présence de la bobine cuvette
 - La présence et le niveau du bidon du niveau de STA Cleaner Solution
 - La présence et le niveau du bidon poubelle liquide
 - La présence de la poubelle cuvette.

4.3 Préparation des spécimens : se référer aux fiches techniques

4.4 Etalonnage et contrôle : se référer à D1-PR01

4.5 Réalisation des analyses

■ *Préparation avant première série*

Vérifier la liste des réactifs manquants dans l'écran d'état des réactifs.

■ *Analyse*

Routine en mode automatique :

- Appuyer sur F1 pour ouvrir le tiroir échantillon sur l'écran « Tableau De Bord »
- Si l'échantillon à analyser est décanté dans un micro tube, appuyer sur F8 **avant** de scanner le code barre. (Si un échantillon normal est ensuite passé, il faut penser à repasser en position « normale » avant de poursuivre)

ATTENTION : si le tube a déjà été ouvert pour récupération de plasma, retirer le bouchon avant de placer le tube dans le tiroir.

- Passer le code barre devant le scanner puis placer le tube dans un emplacement libre.
- Répéter l'opération pour chaque échantillon.
- Appuyer sur **ECHAP** pour fermer le tiroir échantillon.
- Les analyses débutent en fonction des paramètres demandés lors de l'enregistrement du dossier.

Routine en mode manuel :

- Appuyer sur **F1** pour ouvrir le tiroir échantillon sur l'écran « **Tableau De Bord** »
- Appuyer sur **ECHAP**, puis sélectionner l'option « **Passer en MANUEL** »
- Appuyer sur ←
- Si l'échantillon est décanté en micro tube, appuyer sur **F8** avant d'identifier ce dernier.
- Taper le nom du patient
- Appuyer sur ← puis placer le tube dans une position libre
- Sélectionner le test à réaliser avec les flèches directionnelles du clavier.
- Appuyer sur ←
- Reprendre les 2 opérations précédentes s'il y a plusieurs tests.
- Valider la sélection du (des) test(s) en appuyant sur **F10**
- Appuyer sur **ECHAP**
- Les résultats obtenus ne sont pas transmis à l'informatique centrale.

Remarque : Pour les facteurs rhumatoïdes, le SIL est programmé pour ajouter un latex au dossier du patient si le dosage des D-Dimère est supérieur à 500 ng/mL ;

4.6 Validation analytique

a/ Contrôles de qualité : cf D1PR001

b/ Particularités pratiques à connaître :

-Lorsqu'un mesurande est hors des intervalles de référence biologiques chez un patient non traité vérifier l'absence de problème technique :

- qualité du prélèvement : caillot ? Niveau de remplissage respecté ?
- respect du délai de traitement ?
- Hématocrite < 30% ou > 55% (problème de dilution)

-Lancement d'un TCA corrigé (malade + témoin) :

Le TCA corrigé est programmé dans l'automate sous le nom M+T.

Avant d'ajouter un TCA M+T dans le dossier du patient ou en manuel sur l'appareil, il faut introduire un « POOL NORMAL » dans le tiroir des échantillons. Celui-ci est obtenu par pooling d'au moins 5 résultats de TCA normaux du jour.

- Appuyer sur **F1** pour ouvrir le tiroir échantillon
- Taper « **POOL** » dans la zone « **N° de dossier** », puis taper sur ←
- Appuyer sur **F1** pour indiquer qu'il s'agit d'un diluant.
- Taper « **NORMAL** » en majuscule dans la zone suivante (zone noir)
- Appuyer sur ←
- Taper **4** pour le volume puis ←, **4** pour la stabilité puis ←.
- Placer le « **POOL** » dans une position libre du tiroir échantillon.
- Appuyer sur **ECHAP** pour fermer ce dernier.
-

- Ajouter manuellement l'analyse sur le dossier du patient dans l'informatique centrale.
- L'automate relance une analyse de TCA, puis un TCA M+T et transfère les résultats à l'informatique centrale. Le calcul de l'indice de Rosner (IR) est fait automatiquement.

4.7 Maintenance de l'appareil

Maintenance interne

Quotidien : nettoyage de l'aiguille Perçage Bouchons

Accéder au menu « Maintenance », puis « Rinçage » puis « Nettoyage de l'aiguille ».

Suivre les instructions pour la procédure de nettoyage de l'aiguille 1 Perçage Bouchons dans un tube rempli de STA-Desorb U durant 10 min.

La maintenance est tracée dans le LGQ.

Hebdomadaire :

Accéder au menu « Maintenance », puis « Rinçage » puis « Nettoyage de l'aiguille ».

Suivre les instructions pour la procédure du nettoyage de l'aiguille 1 Perçage Bouchons dans un tube rempli de STA-Desorb U durant 30 min.

Nettoyage du filtre à air principal et du filtre boîtier colorimétrique.

Accéder au menu « Entretien » puis « Purge des aiguilles », puis appuyer sur la touche F6 pour ouvrir le tiroir Produit.

Soulever le capot.

Remplissage des 3 puits de rinçage avec la solution d'eau de javel.

Nettoyage du tiroir Produit avec un chiffon imbibé d'eau chaude

Nettoyage de la platine de mesure avec un chiffon imbibé d'eau chaude

Nettoyage des cellules optiques avec un coton tige imbibé d'alcool et vérifier la présence d'éventuelles billes avec la tige aimantée

Nettoyage de la ventouse, l'enlever, la passer sous l'eau la sécher, puis la remettre en place.

15 min après la décontamination des puits, remettre le capot, appuyer sur F6 pour refermer le tiroir puis F1, F2 et F3 pour purger chaque aiguille

Possibilité d'effectuer des purges supplémentaires

Sauvegarde des données

Vérification du réservoir Peltier

Pour remplir le réservoir Peltier, éteindre électriquement sur le menu de maintenance général

Mensuelle :

Accéder au menu Maintenance puis « entretien » puis « changement de l'embout/de la seringue »

Changer l'embout téflon et le joint torique

Humidifier l'embout téflon et mettre le piston en butée haute tout en revissant avant de valider le changement de « Téflon »

Possibilité d'effectuer des purges supplémentaires dans le menu « Purges des aiguilles »

Trimestrielle :

Accéder au menu Maintenance

Changer le filtre à air principal et celui du boîtier colorimétrique

Maintenance externe

Ces interventions préventives sont planifiées sur le LGQ. Elles sont réalisées trois fois par an. En cas de problème une maintenance externe curative peut être réalisée. Toutes les fiches d'intervention sont scannées et intégrées dans le LGQ

Toutes ces opérations doivent être tracées et validées dans le LGQ.

4.8 Élimination des déchets

Les déchets sont éliminés selon la procédure L2 - PR 01 « Élimination des déchets ». Les déchets liquides sont éliminés selon la procédure donnée par le fournisseur de l'automate.

5. Classement et archivage

L'archivage est réalisé selon la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

ANNEXE 5

Instruction : Contrôle externe de la qualité en hémostase



Fiche d'instruction

Version 3

D1 - INS 02

Laboratoire de la gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Contrôle externe de la qualité en hémostase

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et des calibrations

Rédaction : Dan Benisty
Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers
Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache
Le 24/06/2010

Page 1/4

1. Objet

Cette fiche d'instruction décrit les règles de gestion du contrôle externe de qualité en hémostase. Celui-ci concerne l'ensemble des analyses d'hémostase du laboratoire : TP, TCA, fibrinogène, D-dimères.

2. Documents associés

- D1 - PR 01 « Validation analytique, gestions des contrôles de qualité et étalonnages en hémostase »
- D3- MO008 « Utilisation du STA Compact »
- classeur Probioqual
- www.probioqual.com

3. Responsabilités

Cette activité est sous la responsabilité des techniciens mais doit être validée par le biologiste.

4. Déroulement de l'activité

4.1. Principes

Le contrôle externe de qualité est une exigence de la norme 15189 (5.6.4)

Ce contrôle externe de la qualité doit être **traité comme un échantillon** et doit donc être **enregistré dans l'informatique**

Tous les formulaires et guide d'utilisation se trouvent dans le classeur Probioqual, en particulier le numéro de référence attribué par Probioqual au site de la gare.

Une fois par an, un coffret envoyé par Probioqual est réceptionné par le laboratoire. Ce coffret comprend 14 flacons référencés correspondant à une date de passage prévu dans le programme de contrôle. Ces dates sont saisies par le technicien référent dans le LGQ pour planification.

Les échantillons doivent être analysés 2 à 5 jours avant les délais limites. (Alerte automatique dans le LGQ) : une alarme automatique signale sur la page d'accueil du LGQ la nécessité d'analyser un spécimen de CEQ.

4.2. Passage du CEQ

Le technicien enregistre mensuellement le CEQ comme suit :

- Nom : « **Probioqual** »
- Prénom : **lot concerné**
- Date de naissance : **Date d'analyse**

Tous les flacons sont à reconstituer avec **un volume précis** de 1ml d'eau distillée le jour même de l'analyse. Une fois reconstituée, laissez la solution se stabiliser 30 minutes à température ambiante puis homogénéiser par rotations lentes avant emploi. Le flacon doit être techniqué **dans les deux heures maximum après reconstitution.**

Le trajet suivi par le spécimen contrôle est le même que pour un spécimen patient. Il est passé de préférence au sein d'une série analytique et donc validé analytiquement puis biologiquement.

Un compte rendu d'analyse est édité puis signé par le biologiste.

Les résultats sont alors saisis dans le LGQ par le technicien:

Panel d'accueil > onglet « Kali » > cliquer sur « liste du matériel... » > Sélectionner le STA Compact > « CQE » > choisir le contrôle externe actuellement en cours et remplir les informations demandées :

- reconstitué par
- date de reconstitution
- fournisseur du CEQ
- délai du rapport
- puis saisir le résultat trouvé par le laboratoire pour l'échantillon et valider analytiquement dans le LGQ.

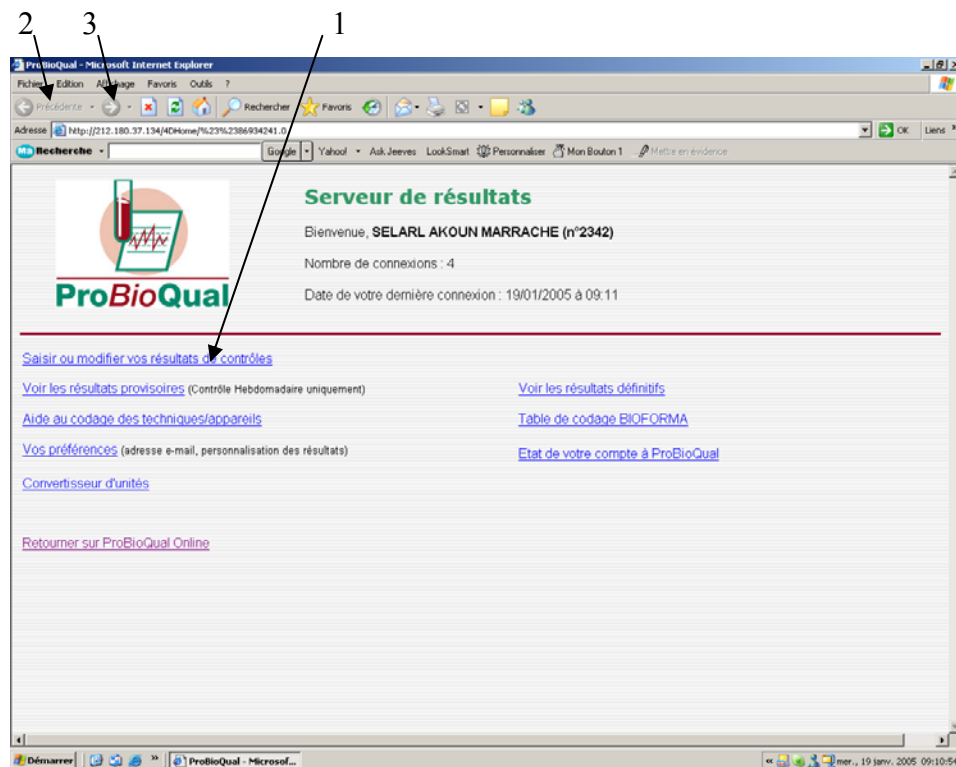
Le compte-rendu de résultat du CEQ est également numérisé, et attaché en pièce jointe du CEQ dans le LGQ, avant d'être rangé dans le classeur Probioqual.

Un mail est alors envoyé au Biologiste par le technicien pour validation biologique du CEQ dans le LGQ avant envoi des résultats à Probioqual via internet.

Une fois la validation biologique des résultats effectuée dans le LGQ, le technicien doit suivre la démarche suivante :

Les résultats sont envoyés via Internet selon les indications suivantes :

- Cliquer sur l'icône Probioqual situé sur le bureau du PC (bureau du biologiste), le mot de passe est préenregistré, cliquez sur « Ok », une fenêtre s'ouvre :



À partir de ce moment vous êtes sur le serveur de résultat, **en aucun cas il ne faut utiliser les boutons suivant ou précédent de votre navigateur (voir 2 et 3).**

- Choisir le lien 1 : « **saisir ou modifier vos résultats** »
- Cliquez sur le lien « **contrôle de qualité en hémostase** »
- Choisir la date correspondant à l'échantillon analysé (voir fenêtre ci-dessous).
- Saisir les différents champs. Normalement les paramètres des réactifs et de la méthode sont déjà enregistrés si ce n'est pas le cas se reporter à la feuille de paramétrage située dans le classeur.
- Cliquez sur le lien « **Enregistrez** »

Lorsque les résultats sont enregistrés, un accusé de réception est envoyé par mail. Si un message « **aucun résultat enregistré sur notre serveur** » apparaît, resaisir les résultats plus tard si le problème persiste, envoyer vos résultats par fax au **04.78.85.97.77** puis avertir le biologiste et le responsable qualité.

En cas de problème avec un échantillon (défaut du flacon ou flacon cassé) ou l'envoi des résultats appeler au **01.47.65.34.90.**

4.3. Analyse des résultats

Tous les retours du CEQ, arrivent par mail, à l'adresse du technicien référent : qualite.gare@biofamm.com

Le fichier pdf des résultats est alors attaché en pièce jointe au CEQ dans le LGQ.

Le technicien référent saisit les résultats du groupe de laboratoires dans le LGQ, et l'écart-type du groupe. Le LGQ attribue alors automatiquement une note pour chaque résultat :

$$A = (RL-RG) \leq \pm 1\delta g$$

$$B = \pm 1\delta g \leq (RL-RG) \leq \pm 2\delta g$$

$$C = \pm 2\delta g \leq (RL-RG) \leq \pm 3\delta g$$

$$D = (RL-RG) \geq \pm 3\delta g$$

RL = résultat laboratoire

RG = résultat groupe

δg = écart-type du groupe

Si la note attribuée est C ou D, une non-conformité est ouverte en pièce jointe et transmise à l'ensemble des techniciens et biologistes du site pour prise de connaissance, et au biologiste responsable pour suivi +/- action corrective. La clôture sera effectuée par le RAQ.

La recherche de causes comportera notamment, la reprise des résultats de CIQ concomitant du passage du CEQ. En l'absence de cause retrouvée, le fournisseur pourra être contacté.

Dans tous les cas, les résultats du CEQ saisis dans le LGQ sont adressés à tous les biologistes et techniciens du site.

5. Classement et archivage

Voir la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

ANNEXE 6

Instruction : Analyse du contrôle national de qualité



Fiche d'instruction

Version 1

D1 – INS 05

Analyse du contrôle national de qualité

Laboratoire de la gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et des calibrations

Rédaction : Dan Benisty

Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers

Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache

Le 24/06/2010

Page 1/2

1. Objet

Cette fiche d'instruction décrit le déroulement de l'analyse du contrôle national de qualité (CNQ). Cela concerne l'ensemble des analyses du laboratoire.

2. Documents associés

D1 - ENR 001 « Enregistrement du contrôle qualité national »

3. Responsabilités

Cette activité est sous la responsabilité des techniciens.

4. Déroulement de l'activité

-À **réception**, l'un des techniciens ouvre le colis, fait une copie de la feuille se trouvant à l'intérieur, remplit la partie « réception » de la feuille d'enregistrement D1-ENR 01, puis donne le colis et la feuille d'enregistrement à la personne en charge de la paillasse concernée.

-Le technicien remplit la suite de la feuille d'enregistrement D1-ENR 01 puis enregistre le CNQ dans le SIL comme suit :

- Nom : « **AFSSAPS** »

- Prénom : « **N° de l'échantillon** »

- Date de naissance : « **Date d'analyse** »

-Le CNQ est traité comme un patient : validé analytiquement, biologiquement, édité, et signé.

-Faire signer la feuille d'enregistrement et la feuille de résultat du CNQ par le biologiste.

-Le technicien ou le biologiste remplit la partie « expédition » de la feuille d'enregistrement, faxe la feuille de résultat à l'AFSSAPS puis agrafe le récépissé avec le formulaire d'enregistrement.

-Les résultats obtenus sont également enregistrés dans le LGQ, dans la rubrique EEQ/CEQ.

-La feuille de résultat est ensuite envoyée par courrier à l'AFSSAPS.

- Retours du CNQ

La feuille de résultat est photocopiée et affichée en salle technique, durant environ une semaine pour prise de connaissance par le personnel.

- Si le résultat du laboratoire est A ou B (ce qui correspond à un résultat < 1 LA), il est conforme: le D1-ENR01 correspondant est complété et archivé avec la feuille de résultats dans le classeur.
- Si le résultat est C ou D (> 1 LA), il est non-conforme : une non-conformité est ouverte et une recherche des causes est amorcée avec notamment, relecture des diagrammes de Levey-Jennings concomitant du passage du CNQ. Cette non-conformité débouche sur l'ouverture éventuelle d'une action corrective, sauf si la cause a déjà été réglée entre le passage du CNQ et l'arrivée des résultats.

La date de réponse ainsi que les problèmes éventuellement rencontrés, sont consignés dans la dernière partie du formulaire d'enregistrement D1-ENR 01.

5. Classement et archivage

Voir la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

ANNEXE 7

**Instruction : Analyse des contrôles
internes de la qualité en hémostase**



Fiche d'instruction

Version 1

Laboratoire de la gare

D1 - INS 03 Analyse des contrôles internes de la qualité en hémostase

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et des calibrations

Page 1/2

Rédaction : Dan Benisty

Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers

Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache

Le 24/06/2010

1. Objet

Cette fiche d'instruction décrit le déroulement de l'analyse d'un contrôle interne de la qualité (CIQ) en hémostase. Cela concerne l'ensemble des analyses d'hémostase du laboratoire : TQ, TCA, fibrinogène, D-dimères.

2. Documents associés

- D1 - PR 01 « Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase »
- D3- MO008 « Utilisation du STA Compact »
- THEMEXT013 « Coag contrôle NP »
- THEMEXT023 « Liatest contrôle »

3. Responsabilités

Cette activité est sous la responsabilité des techniciens.

4. Déroulement de l'activité

Sur l'écran « **Tableau de bord** »

- Appuyer sur **F2** pour ouvrir le tiroir réactif
- Retirer le bouchon à vis et le bouchon en caoutchouc du flacon de CIQ
- Passer le code barre du contrôle devant le lecteur
- Vérifier le volume indiqué et la stabilité puis appuyer 1 fois sur ←

- Placer le flacon sur une position adaptée à sa taille

- S'il s'agit d'un nouveau lot de contrôle, passer les codes barres qui se trouvent dans le coffret, devant le lecteur, vérifier les valeurs lues puis valider.
- Appuyer sur **ECHAP** puis « **OUI** », le tiroir réactif se ferme
- Appuyer sur **ECHAP** 2 fois
- Sélectionner le menu « **Calib./Contrôles** », puis le sous menu « **Contrôles de Qualité** »
- Sélectionner les paramètres pour lesquels on souhaite lancer un CQ avec la touche **F1**
- Valider le choix des tests avec la touche **F10**
- Entrer le code de sécurité : CQ puis valider par ←
- Appuyer sur **ECHAP** deux fois, l'automate lance les CQ demandés.
- Sélectionner le menu « **Calib./Contrôles** », puis le sous menu « **Contrôles de Qualité** »
- Positionner le curseur sur le paramètre à vérifier à l'aide des touches directionnelles

- Appuyer sur ←
- Vérifier les points obtenus sur le graphique dans la zone « **Contrôles du jour** »
- Pour afficher le second niveau de contrôle, appuyer sur **F2**
- Pour afficher les valeurs ainsi que les moyennes et écarts types, appuyer sur **F1**

5. Classement et archivage

Voir la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

ANNEXE 8

Instruction : Etalonnage en hémostase



Fiche d'instruction

Version 1

Laboratoire de la gare

D1 – INS 04 Étalonnage en hémostase

Application le 28/06/2010

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et des calibrations

Rédaction : Dan Benisty
Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers
Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache
Le 24/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Page 1/2

1. Objet

Cette fiche d'instruction décrit le déroulement d'un étalonnage en hémostase. Une précalibration d'usine existe pour le TCA, fibrinogène, et les D-dimères. Le TQ est étalonné au laboratoire à l'aide de l'Unicalibrator.

2. Documents associés

- D1 - PR 01 « Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase »
- D3- MO008 « Utilisation du STA Compact »
- THEMEXT021 « Unicalibrator »
- THEMEXT009 « Fibrinogène 5 »
- THEMEXT012 « Cephascreen »
- THEMEXT015 « Liatest »
- THEMEXT016 « Néoplastine »

3. Responsabilités

Cette activité est sous la responsabilité des techniciens.

4. Déroulement de l'activité

4.1 Précalibration d'usine (TCA, fibrinogène, D-dimères)

La précalibration est identique pour tous les réactifs d'un même lot.

Les analyses ne peuvent être effectuées sur le nouveau lot qu'après avoir effectué cette calibration et un CIQ.

-Reconstitution des réactifs : cf notice du fournisseur

Sur l'écran « **Tableau de bord** »

- Appuyer sur **F2** pour ouvrir le tiroir réactif
- Passer le code barre réactif devant le scanner
- Vérifier le volume indiqué puis appuyer sur ←
- Placer le flacon sur la position désirée
- L'automate affiche un message informant l'utilisateur que les anciennes données vont être effacées. Taper « **OUI** » puis ←

ATTENTION : avant d'effacer les anciennes données, il faut impérativement les éditer. Elles seront stockées dans le classeur « calibration hémostase ».

- Passer la feuille à code barre (qui se trouve dans chaque coffret) devant le lecteur et s'assurer que les valeurs renseignées à l'écran sont identiques à celles indiquées sur la feuille, puis valider.

- Charger les réactifs nécessaires demandés par l'automate (ils apparaissent en rouge dans l'écran d'état des produits).
- L'automate lance automatiquement des « points de contrôles de calibration ».
- Passer les deux niveaux de CIQ pour vérifier la conformité

4.2 Etalonnage du temps de Quick :

Sur l'écran « **Tableau de bord** »

- Appuyer sur **F2** pour ouvrir le tiroir réactif
- Passer le code barre réactif du flacon de néoplastine devant le scanner
- Vérifier le volume indiqué puis appuyer sur ←
- Placer le flacon sur la position adaptée à sa taille
- L'automate affiche un message informant l'utilisateur que les anciennes données vont être effacées. Taper « **OUI** » puis ←

ATTENTION : avant d'effacer les anciennes données, il faut impérativement les éditer. Elles seront stockées dans le classeur « calibration hémostase ».

- Déboucher le flacon d'Unicalibrator
- Passer le code-barre devant le lecteur
- Placer le flacon dans une position adaptée à sa taille
- Appuyer sur echap jusque fermeture du tiroir réactifs
- L'automate lance automatiquement l'étalonnage du TQ.
- Passer les deux niveaux de CIQ pour vérifier la conformité

5. Classement et archivage

Voir la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

Voir la procédure D1 - PR 01 « Validation analytique, gestion des contrôles de qualité et étalonnage en hémostase»

ANNEXE 9

Procédure de validation des méthodes



D1 - PR 02

Procédure de validation des méthodes d'analyse

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et étalonnages

Rédaction : Dan Benisty

Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers

Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache

Le 24/06/2010

Laboratoire de la gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Page 1/6

1. Objet et domaine d'application

Cette procédure décrit les modalités de validation initiale des méthodes pour les méthodes quantitatives, qualitatives et semi-quantitatives. Elle s'applique à l'ensemble des méthodes accréditées au laboratoire.

Lab gta 04 : « Cette validation est une validation de mise en application, ou encore une validation des performances sur site. »

2. Documents associés

D1-PR03 « Procédure d'estimation des incertitudes de mesure »

D1-ENR02 « Rapport de validation des méthodes »

Documents externes :

LAB GTA 04 « Validation des méthodes en LABM »

NF ISO 5725-6 « Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure partie 6 : utilisation dans la pratique des valeurs d'exactitude »

3. Responsabilités

Le biologiste et l'encadrement technique sont responsables de la validation des méthodes d'analyse au sein du laboratoire.

4. Déroulement de l'activité

4.1. Principes

Critères de performance à vérifier et / ou à connaître selon les recommandations du COFRAC :
Pour réaliser l'exploitation de ces différentes données, le laboratoire s'appuie sur un fichier Excel.

a. Evaluation de la répétabilité :

- Réaliser 15 à 20 analyses sur des échantillons de patients, à défaut sur des CQI dans des conditions standardisées, dans un court intervalle de temps, au cours d'une même série pour les niveaux bas, moyens et hauts.
- Nous nous réservons la possibilité de limiter à 10 passages pour les réactifs onéreux
- Ne changer ni d'opérateurs, ni de lots de réactifs, ni d'instruments, ni d'étalons.
- Évaluer la moyenne, l'écart-type de répétabilité, S_r , et le CV_r associé :

$$S_r = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_1^n (x_i - \bar{x})^2} \quad CV_r(\%) = \frac{S_r}{m} \times 100$$

- Les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité définies par le laboratoire (SFBC/état de l'art, ou spécifications « fournisseurs », Ricos) à défaut les propres limites du laboratoire...).

b. Evaluation de la reproductibilité interne ou fidélité intermédiaire :

- Consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon dans des conditions différentes. On utilise le maximum de valeurs du CIQ (au minimum 30 valeurs) pour évaluer la reproductibilité interne pour les différents niveaux de concentrations (cette période d'au moins une dizaine de jours peut également servir de période de référence pour la construction de la carte de contrôle).
- Les valeurs de CIQ sont déjà exploitées sur le logiciel de gestion de la qualité qui permet de récupérer les valeurs et les données statistiques (écartype, CV...). Les valeurs sont saisies manuellement sur le logiciel Excel. Les modalités de calcul sont identiques à ceux de la répétabilité.
- On pourra reprendre les mêmes valeurs que pour l'estimation de l'incertitude et calculer :

$$S_{Rinterne} = \sqrt{\frac{1}{p-1} \sum_1^p (x_i - \bar{x})^2} \qquad CV_{Ri} (\%) = \frac{S_{Rinterne}}{m} \times 100$$

- Les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité définies par le laboratoire (Ricos, SFBC, ou valeurs « fournisseurs », à défaut les propres limites du laboratoire...).

c. Evaluation de la justesse :

- On utilise les valeurs de l'EEQ
- Calculer le biais ou erreur de justesse (en %) :

$$Erreur\ de\ justesse = \frac{Moyenne\ Labo - Valeur\ Cible}{Valeur\ Cible} \times 100$$

- Les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité définies par le laboratoire (Ricos, SFBC, ou valeurs « fournisseurs », à défaut les propres limites du laboratoire...).

d. Evaluation de la contamination inter-échantillons pour les paramètres sensibles :

- Étude de la contamination inter échantillon en analysant successivement :
 - Un échantillon élevé 3 fois : H1, H2, H3, moyenne H
 - Un échantillon bas 3 fois : B1, B2, B3

- Calculer le taux de contamination (en %) :

$$Contamination (\%) = \frac{B1 - B3}{H} \times 100$$

- Si elles existent, les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité définies par le laboratoire (Ricos, SFBC, ou valeurs « fournisseurs »).
- A défaut on utilise la formule suivante $B1-B3 \leq 2.8 Sr$ issue de la norme Iso 5725-6.

e. Comparaison entre les résultats obtenus avec une méthode A validée et utilisée par le laboratoire et ceux obtenus avec la méthode B à valider

- Analyser en conditions de répétabilité au moins 40 échantillons de patients couvrant l'étendue du domaine physio-pathologique

x_i : valeurs méthode A

y_i : valeurs méthode B

- Calculer les $d_i = x_i - y_i$ et $q_i = y_i/x_i$

- Tracer graphiquement d_i et q_i en fonction de x_i

- Fixer des **limites de discordance**, étudier les couples qui posent problèmes et rechercher les causes de discordance

- Si elles existent, les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité définies par le laboratoire (Ricos, SFBC, ou valeurs « fournisseurs ») :

- Lab gta 04 : Données bibliographiques et fournisseurs

- SFBC : Utiliser les normes de suivi de l'article (Annales de Biologie Clinique, vol. 57, N°6, 685-95, 1999) pour fixer une limite sur les d_i

- NF ISO 13528 : Calculer le nombre En pour chaque couple.

$$En = \frac{x_i - y_i}{\sqrt{U_{x_i}^2 + U_{y_i}^2}}$$

Pas de discordance s'ils sont inférieurs ou égaux à 1.

f. Limite de détection et de quantification (si besoin)

Pas d'étude car les limites de détection et de quantification fixées par le laboratoire sont les mêmes que celles du fournisseur.

g. Linéarité

Pas d'étude car la plage de linéarité annoncée par les fournisseurs est celle adoptée par le laboratoire.

h. Valeurs de référence

Les valeurs de références sont en priorité celles données par le fournisseur, à défaut elles s'appuient sur une revue de bibliographie des sociétés scientifiques.

Indiquer dans le dossier de validation les valeurs ou l'intervalle de référence choisi (valeurs fournisseurs ou de la bibliographie).

i. Stabilité des réactifs critiques

Argumenter et tracer tout écart par rapport aux valeurs du fournisseur.

Tout changement significatif par rapport aux données du fournisseur devra être validé.

4.2. Tableau récapitulatif

Technique quantitative :

| Paramètres à vérifier et/ou à connaître | Bibliographie | Vérification sur site |
|--|-----------------|---|
| Spécificité | Oui | Non |
| Fidélité (répétabilité et reproductibilité) | Oui | Oui |
| Justesse (approche de) | Oui | Oui |
| Domaine d'analyse | Oui | Si besoin |
| Sensibilité : Limite de détection Limite de quantification | Oui | Non |
| Linéarité | Oui | Non |
| Contamination entre échantillons (s'il y a lieu) | Oui | Oui, pour les paramètres sensibles |
| Stabilité | Oui | Si conditions fournisseurs non respectées |
| Robustesse | Oui | Non |
| Interférences | Oui | Non |
| Valeurs de référence | Oui | Document correspondant |
| Corrélation avec méthode de référence | Oui | Non |
| Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire | Oui (si existe) | Non |

Technique qualitative :

| Paramètres à vérifier et/ou à connaître | Bibliographie | Vérification sur site |
|---|-----------------|-----------------------|
| Spécificité | Oui | Non |
| Sensibilité diagnostique | Oui | Si besoin |
| Contamination entre échantillons (s'il y a lieu) | Oui | Non |
| Stabilité | Oui | Non |
| Robustesse | Oui | Non |
| Corrélation avec méthode de référence | Oui | Non |
| Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire | Oui (si existe) | Non |

L'évaluation des critères de spécificité et sensibilité est à réaliser en utilisant des échantillons ou des CIQ de caractéristiques connues.

Technique semi-quantitative :

| Paramètres à vérifier et/ou à connaître | Bibliographie | Vérification sur site |
|---|----------------------|------------------------------|
| Spécificité | Oui | Non |
| Fidélité (répétabilité et reproductibilité) | Oui | Oui |
| Sensibilité diagnostique | Oui | Non |
| Contamination entre échantillons (s'il y a lieu) | Oui | Oui sur paramètres sensibles |
| Stabilité | Oui | Non |
| Robustesse | Oui | Non |
| Interférences | Oui | Non |
| Corrélation avec méthode de référence | Oui | Non |
| Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire | Oui (si existe) | Non |

L'évaluation des critères de spécificité et sensibilité est à réaliser en utilisant des échantillons ou des CQI de caractéristiques connues

4.3. Déroulement

Nous déterminons les limites d'acceptabilité des critères de performance : Cette définition s'appuie sur les besoins propres du laboratoire au regard de la pertinence clinique attendue et sur les recommandations des sociétés savantes (ex : SFBC ou de l'art Ricos ...)

Nous nous appuyons sur l'étude des données fournisseur et bibliographiques et les vérifications sur site.

Les principes méthodologiques des vérifications sur site sont ceux du guide LAB GTA 04. En fonction du contexte ou de l'analyte à étudier, des adaptations peuvent être réalisées, elles seront alors argumentées.

Pour finir, nous concluons sur l'aptitude ou l'inaptitude de la méthode ou du système analytique : Le laboratoire trace par écrit sa décision finale motivée sur le fichier Excel D1-ENR02 « Rapport de validation des méthodes »

4.4. Confirmation des performances en routine

Méthode d'analyse quantitative : suivi des Contrôles internes et externes de Qualité pour vérification de la reproductibilité interne et de la justesse.

Méthode d'analyse qualitative : Suivi des Contrôles de Qualité internes et externes et des informations de réactovigilance pour vérification de la spécificité et de la sensibilité diagnostique.

Méthode d'analyse semi-quantitative : suivi des Contrôles de Qualité internes et externes (suivre les CV pour les échantillons de contrôles positifs). Suivi des informations de réactovigilance spécificité et de la sensibilité diagnostique.

4.5. Evolution de réactifs / de technique

Toute **évolution de réactifs / technique** nécessite une nouvelle validation de la méthode. Le changement de référence d'un réactif sans changement de méthode donne lieu à une validation adaptée sous la conduite du biologiste (suivi des résultats du Contrôle Qualité Interne en particulier).

5. Classement et archivage

Les règles de classement et d'archivage sont décrites dans la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

ANNEXE 10

Procédure d'estimation des incertitudes de mesure



Laboratoire de la gare

Application le 28/06/2010

Diffusion le 28/06/2010

Procédure

Version 1

D1 - PR 03

Procédure d'estimation des incertitudes de mesure

Classification Bioqualité : D1-Gestion des contrôles et étalonnages

Rédaction : Dan Benisty

Le 16/06/2010

Vérification : Jérôme Covillers

Le 21/06/2010

Approbation : Brigitte Marrache

Le 24/06/2010

Page 1/3

1. Objet et domaine d'application

Cette procédure décrit les règles, les moyens et les responsabilités pour évaluer l'incertitude de mesure d'un résultat d'analyse.

2. Documents associés

D1-PR02 « Procédure de validation des méthodes d'analyse »

D1-ENR03 « Calcul des incertitudes de mesure »

Documents externes :

VIM : GUIDE ISO/CEI 99

LAB GTA 14 « Guide d'évaluation des incertitudes de mesures des analyses de biologie médicale »

3. Responsabilités

Le biologiste, l'encadrement technique sont responsables de l'estimation des incertitudes de mesures des analyses réalisées au laboratoire

4. Déroulement de l'activité

4.1 Principes

Avant d'estimer une incertitude de mesure, il est indispensable de :

- Connaître parfaitement la méthode de mesure et l'avoir validée
- Disposer d'opérateurs formés
- Gérer « métrologiquement » les instruments de mesure ayant une influence sur le résultat de mesure et assurer la traçabilité des mesures
- Disposer de cartes de contrôle pour les instruments qui le nécessitent
- Maîtriser les conditions ambiantes pouvant avoir une influence sur le résultat

4.2 Déroulement pour les méthodes quantitatives

a. Définir le mesurande et lister les paramètres d'incertitude

- Définir le mesurande (grandeur à mesurer, substance à analyser) avec le maximum de précision

⊗ *Ne pas confondre analyte et mesurande :*

Analyte : Glucose

Mesurande : Glucose urinaire, Glucose plasmatique, Glucose sang total...

- Puis définir le(s) niveau(x) de valeurs C_i auxquels on souhaite avoir l'incertitude
- Analyser le processus de mesure par l'analyse des facteurs d'influence à l'aide par exemple de la méthode des 5M sur les phases pré-analytiques, analytiques, post-analytiques : Moyens, Main d'œuvre, Méthode, Milieu, Mesurande
- Être exhaustif : enregistrer tous les facteurs influents y compris ceux dont la quantification pourra se révéler difficile voir impossible

b. Quantifier la composante de fidélité à l'aide des CQI

- Evaluer la reproductibilité interne à l'aide des cartes de contrôle
- Exploiter au moins une trentaine de valeurs par niveau de concentration, pour un lot de contrôle donné ($p > 30$) sur une période longue

→ Calculer
$$S_{Rinterne} = \sqrt{\frac{1}{p-1} \sum_1^p (x_i - \bar{x})^2}$$

- Évaluer la reproductibilité interne à l'aide des cartes de contrôle pour chaque niveau de concentration C_i

→ Calcul du CV (%) :
$$CV(\%) = \frac{S_{Rinterne}}{m} \times 100$$

Avec $S_{Rinterne}$: Écart-type de reproductibilité interne
 m : moyenne des résultats du CIQ

- Calculer le $u_{fidélité}$ valable par niveau de concentration :

→ Pour chaque niveau de contrôle (bas, moyen, haut), on aura donc :
$$u_{fidélité}^i = CV^i \times C_i$$

c. Quantifier la composante de justesse à l'aide des EEQ

- On utilise 5 valeurs des EEQ : on récupère la valeur cible via les rapports de l'organisateur de l'EEQ.

- Pour chaque EEQ et par niveau de concentration, calculer les erreurs de justesse E_j :

$$E_j = (X_{lab} - X_{ref})_j$$

$j = 1 \dots n$, n étant le nombre total d'EEQ exploitées : il faut au moins 5 valeurs.

La détermination de X_{ref} relève de la responsabilité de l'organisateur de l'EEQ n°j.

- Le laboratoire se réserve la possibilité d'éliminer les valeurs aberrantes des E_j , grâce à un test de Grubbs par exemple.

Dans tous les cas, l'élimination d'une valeur aberrante ne doit se faire qu'après une étude sérieuse (justifiée et tracée).

- Calculer $u_{justesse}$ par niveau de concentration :

$$u_{justesse} = \frac{\text{Max}|E_j|}{\sqrt{3}}$$

d. Combiner les deux composantes d'incertitudes

- Incertitude-type composée, u_c pour chaque niveau de concentration de C_i (bas, moyen, haut) :

$$u_c = \sqrt{u_{justesse}^2 + u_{fidélité}^2}$$

e. Exprimer le résultat, analyser l'influence de chaque paramètre

$$U = k \times u_c$$

k = coefficient d'élargissement k = 2

- Arrondir U à 2 chiffres significatifs (en majorant).

Exemples:

$$U = 7.8058 \text{ mg/l} \quad \text{devient} \quad U = 7.9 \text{ mg/l}$$

$$U = 0.0473 \text{ mg/l} \quad \text{devient} \quad U = 0.048 \text{ mg/l}$$

- La valeur numérique est arrondie de manière à ce qu'elle ait le même nombre de décimales que l'incertitude.

Exemple:

$$C = 146.88 \text{ mg/l} \text{ et } U = 7,8058 \text{ mg/l} \text{ devient}$$

$$C = 146,9 \pm 7,9 \text{ mg/l} (k=2)$$

- Comparer le résultat de l'incertitude aux valeurs de la SFBC en se comparant à deux fois l'inexactitude, ou aux valeurs de Ricos (www.westgard.com) en se comparant à l'Erreur Totale

4.3 Déroulement pour les méthodes qualitatives

Nous procédons comme pour une analyse de risques :

- Identification et liste de tous les paramètres susceptibles d'influencer le résultat de l'analyse (comme pour analyses quantitatives)
- Justification de l'influence jugée non significative de certains facteurs qui ne sont pas pris en compte
- Mise en évidence de la façon dont sont maîtrisés les facteurs dont l'influence est significative, de manière à minimiser les risques et les erreurs

4.4 Déroulement pour les méthodes semi-quantitatives

- Réaliser les mêmes étapes que pour les méthodes qualitatives
- Suivre les CV à partir des résultats des CQI pour les échantillons de contrôle positifs.

5. Classement et archivage

Les règles de classement et d'archivage sont décrites dans la procédure I2 – PR 02 « Gestion des enregistrements et archivage ».

ANNEXE 11

Vérification initiale d'une technique quantitative

*(Document LAB GTA 04-Révision 00- Juin 2004 : guide de
validation des méthodes en biologie médicale)*

| Paramètres à vérifier et/ou à connaître | Bibliographie | Vérification sur site |
|--|----------------------|---|
| Spécificité | Oui | Non |
| Fidélité (répétabilité et reproductibilité) | Oui | Oui |
| Justesse (approche de) | Oui | Oui |
| Domaine d'analyse | Oui | Si besoin |
| Sensibilité : Limite de détection Limite de quantification | Oui | Non |
| Linéarité | Oui | Non |
| Contamination entre échantillons (s'il y a lieu) | Oui | Oui, pour les paramètres sensibles |
| Stabilité | Oui | Si conditions fournisseurs non respectées |
| Robustesse | Oui | Non |
| Interférences | Oui | Non |
| Valeurs de référence | Oui | Document correspondant |
| Corrélation avec méthode de référence | Oui | Non |
| Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire | Oui (si existe) | Non |

ANNEXE 12

Exemple de calcul d'incertitude de mesure : fibrinogène plasmatique

D1-ENR03 « Calcul des incertitudes de mesure »

INCERTITUDE DE MESURE**ANALYTE :** Fibrinogène (g/l)

| | NIVEAU 1 | NIVEAU 2 | NIVEAU 3 |
|-----------------------------|----------|----------|----------|
| CV reproductibilité | 4,70% | 4,20% | |
| Ecart-type reproductibilité | 0,055272 | 0,120372 | 0 |
| Moyenne reproductibilité | 1,176 | 2,866 | 0 |
| Concentration du niveau | 1,2 | 3 | |
| U fidélité | 0,0564 | 0,126 | 0 |

| EEQ NIVEAU 1 (au moins 5 valeurs) | | | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------|-------------|-----------------|---------------|-------------------|
| valeurs labo | valeur groupe pairs | valeur groupe méthode | biais pairs | biais pairs max | biais méthode | biais méthode max |
| 1,53 | 1,5 | 1,48 | 0,03 | 0,08 | 0,05 | 0,08 |
| 1,08 | 1,16 | 1,14 | -0,08 | | -0,06 | |
| 1,5 | 1,49 | 1,47 | 0,01 | | 0,03 | |
| 1,55 | 1,49 | 1,47 | 0,06 | | 0,08 | |
| 1,16 | 1,15 | 1,14 | 0,01 | | 0,02 | |

9e02 du 13/01/2010

9e04 du 16/02/2009

9e06 du 23/03/2009

9e12 de 09/2009

9e14 de 10/2009

| EEQ NIVEAU 2 (au moins 5 valeurs) | | | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------|------------|-----------------|---------------|-------------------|
| valeurs labo | valeur groupe pairs | valeur groupe méthode | biais pair | biais pairs max | biais méthode | biais méthode max |
| 2,56 | 2,43 | 2,42 | 0,13 | 0,25 | 0,14 | 0,29 |
| 2,88 | 3,05 | 3,02 | -0,17 | | -0,14 | |
| 2,51 | 2,43 | 2,41 | 0,08 | | 0,1 | |
| 3,03 | 3,03 | 3,01 | 0 | | 0,02 | |
| 2,34 | 2,43 | 2,4 | -0,09 | | -0,06 | |
| 2,69 | 2,44 | 2,4 | 0,25 | | 0,29 | |

9e01 du 13/01/2009

9e03 du 16/02/2009

9e05 du 23/03/2009

9e07 du 22/05/2009

9e08 du 22/05/2009

9e11 de 09/2009

| | niveau 1 | niveau 2 | niveau3 |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| u justesse pair | 0,046188022 | 0,144337567 | 0 |
| u justesse méthode | 0,046188022 | 0,167431578 | 0 |
| u combiné pair | 0,0728992 | 0,191596799 | 0 |
| u combiné méthode | 0,0728992 | 0,20954554 | 0 |
| <i>u combiné pair relatif (%)</i> | <i>6,074933318</i> | <i>6,386559962</i> | <i>#DIV/0!</i> |
| <i>u combiné méthode relatif (%)</i> | <i>6,074933318</i> | <i>6,984851333</i> | <i>#DIV/0!</i> |
| | | | |
| Niveau de concentration | 1,2 | 3 | 0 |
| U élargie pair | 0,1457984 | 0,383193598 | 0 |
| U élargie méthode | 0,1457984 | 0,41909108 | 0 |
| U élargie pair (%) | 12,15% | 12,77% | #DIV/0! |
| U élargie méthode (%) | 12,15% | 13,97% | #DIV/0! |
| valeur limite Ricos (%) | 13,6 | 13,6 | |

Résumé :

La biologie médicale française est en pleine restructuration, à l'occasion de l'une des réformes les plus importantes de son histoire. L'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 a introduit un certain nombre de nouveautés dans l'exercice de cette spécialité, notamment l'obligation pour tout laboratoire de biologie médicale d'être accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 sur toute son activité en 2016. Si la qualité est déjà depuis plusieurs décennies au cœur des préoccupations de la plupart des laboratoires de biologie médicale, le management de celle-ci est une notion nouvelle pour beaucoup d'entre eux. La norme désormais applicable aux laboratoires développe particulièrement ce point et précise les exigences techniques auxquelles il faudra désormais se conformer, creusant un fossé important par rapport au GBEA. Interne en fin de cursus de biologie médicale, j'ai décidé de suivre le D.U afin de faire mon entrée dans le monde de la biologie de ville, en ayant assimilé un maximum de connaissances pratiques et théoriques dans le domaine de l'assurance qualité. C'est au sein d'un laboratoire privé, ayant obtenu en 2008 la qualification Bioqualité, que j'ai conduit mon projet : préparer le secteur d'hémostase à l'accréditation. Mon travail s'est basé sur un état des lieux-audit de ce secteur que j'ai réalisé pour identifier les non conformités et les actions correctives et préventives à effectuer. Entouré d'interlocuteurs compétents et intéressés, et fort des enseignements du D.U, j'ai pu au cours de l'année, rédiger une dizaine de documents spécifiques au secteur, qui sont aujourd'hui validés, appliqués et ont fait l'objet d'une évaluation. J'ai également effectué la validation des méthodes en hémostase et l'estimation des incertitudes de mesure. Le laboratoire qui m'a reçu est aujourd'hui quasiment prêt à effectuer une demande d'accréditation sur la portée standard flexible d'hémostase, même si certaines corrections sont encore nécessaires notamment en ce qui concerne le management de la qualité. Ce projet m'a permis de mesurer l'ampleur du travail à fournir pour se conformer à la norme 15189. Ainsi, au travers de l'hémostase, de nombreuses questions transversales se sont posées, touchant aux divers processus du laboratoire. La dynamique est désormais engagée, avec comme leitmotiv l'amélioration continue, sans perdre de vue notre objectif principal : proposer une biologie de qualité pour une prise en charge optimale du patient.