

Université Pierre et Marie CURIE

Paris 6

MÉMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITÉ AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MÉDICALE »

MISE EN PLACE DE LA VÉRIFICATION DES
PERFORMANCES D'UNE MÉTHODE D'ANALYSE ET
CALCUL DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE
MESURE EN BIOCHIMIE

DELAFOND Andrée

2011

NOTE AU LECTEUR

Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire « Assurance Qualité au laboratoire 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 :

DELAFOND Andréa

Technicienne polyvalente, référente en biochimie et en assurance qualité
Laboratoire de Biologie Médicale du Centre Municipal de Santé Pierre Rouqu es
94 400 Vitry-sur-Seine

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser mes premiers remerciements :

à Monsieur AUDOUBERT, Maire de la ville de Vitry-sur Seine, pour m'avoir autorisé à suivre cet enseignement.

à Madame HAMON Directrice administrative du centre de santé qui a soutenu, avec conviction, ma demande de formation, ainsi que Madame MECHAIN biologiste responsable du laboratoire.

et à Madame BENAILY responsable de l'assurance qualité qui s'est impliquée dans ce projet.

Des sincères remerciements à l'ensemble du personnel du laboratoire et du centre de santé pour son soutien moral ou logistique, ainsi que sa coopération pendant toute la durée de la formation et la réalisation de ce mémoire.

Un merci particulier à Franck, Morgane et Philippe pour leur patience.




Enfin je tiens à remercier tous les intervenants de DU pour leur enseignement de qualité.

SOMMAIRE

1	PRESENTATION.....	6
1.1	L'ASSURANCE QUALITE.....	6
1.2	LE LABORATOIRE.....	6
2	INTRODUCTION	7
2.1	MISE EN PLACE DE L'ASSURANCE QUALITE	7
2.2	SES LIMITES.....	8
2.3	LE PROJET	8
3	METHODOLOGIE.....	9
	PLANIFIER.....	10
3.1	L'ETAT DE L'ART.....	10
3.2	LES RESSOURCES.....	10
3.3	LA PROGRAMMATION.....	12
	REALISER.....	14
3.4	DEFINITION DE LA PROCEDURE.....	14
3.5	DETERMINATION DES CRITERES A EVALUER.....	15
3.6	ETUDE DES CRITERES DE PERFORMANCE DE LA METHODE :	16
3.6.1	LA FIDELITE.....	16
3.6.2	L'APPROCHE DE LA JUSTESSE.....	18
3.6.3	LES INTERVALLES DE REFERENCE	20
3.6.4	LES AUTRES PARAMETRES A CONNAITRE	21
3.6.5	LA COMPARAISON DE METHODE	22
3.6.6	L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE.....	24
3.7	REDACTION DE LA PROCEDURE.....	27
4	RESULTATS	27
	EVALUER.....	27
4.1	ANALYSE DES RESULTATS ET DISCUSSION	27
4.1.1	LA REPETABILITE	27
4.1.2	LA FIDELITE INTERMEDIAIRE	29
4.1.3	L'APPROCHE DE JUSTESSE.....	30
4.1.4	LES INTERVALLES DE REFERENCES.....	31
4.1.5	LA COMPARAISON DE METHODE	32
4.1.6	L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE.....	32
4.2	VALIDATION DE LA VERIFICATION DE METHODE	33
	AJUSTER.....	34
5	CONCLUSION.....	34
6	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	36
7	LISTE DES ANNEXES	39

1 PRESENTATION

1.1 L'ASSURANCE QUALITE




Dans le cadre du projet de réforme de la Biologie Médicale ¹, et à la date de parution de ce document, le fonctionnement des Laboratoires de Biologie médicale (LBM) est soumis aux dispositions législatives et réglementaires de l'ordonnance n°10-49 du 13 janvier 2010 ², ³ (dans son état initial). Les principales mesures mises en place sont :

- la médicalisation de la discipline,
 - la mise en place de l'accréditation obligatoire,
 - la réglementation identique pour les LBM publics et privés,
 - l'organisation de l'offre de biologie médicale qui entraîne regroupement et restructuration des laboratoires,
- et ceci dans l'intérêt des usagers et de la profession.

L'accréditation est la reconnaissance formelle de la compétence d'un laboratoire à effectuer des activités spécifiques bien définies.

Elle peut être «transitoire» jusqu'au 31 octobre 2013 (preuve d'entrée dans la démarche d'accréditation) : →soit par une accréditation partielle délivrée par le Cofrac (organisme créé à l'instigation des pouvoirs publics).

→ soit par une attestation de qualification « 36 mois » de Bioqualité.

Mais elle devient obligatoire à compter du 31 octobre 2016 et le seul organisme à pouvoir la délivrer est le Cofrac. Pour obtenir cette accréditation, il faut répondre aux exigences de la réglementation législative et de la norme NF EN ISO 15189 ⁴, ⁵. Ce document européen spécifie les exigences de qualité et de compétence auxquels doivent répondre un LBM pour exercer, complétant ainsi les exigences déjà définies par le Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA) ⁶.

1.2 LE LABORATOIRE


Le Centre Municipal de Santé (CMS) Pierre Rouquès est une structure municipale placée sous l'autorité de monsieur le maire de la ville de Vitry-sur-Seine. Pour répondre aux nombreux besoins de santé de la population, cette commune a ouvert un dispensaire en 1926 (ce dernier prendra l'appellation de CMS en 1956). Le bâtiment d'origine étant devenu

trop vétuste et complètement inadapté ; la municipalité a choisit d'investir dans la construction de nouveaux locaux, que nous occupons depuis novembre 2007.

Le laboratoire de biologie médicale est l'un des nombreux services proposés au CMS. L'activité polyvalente permet de couvrir les disciplines de Biochimie, Hématologie, Hémostase, Hormonologie, Immunologie, Microbiologie et Mycologie. Le LBM, ouvert du lundi au samedi, accueille des patients venant d'autres services du CMS, mais aussi une clientèle extérieure. Il propose un service de prélèvements à domicile et collabore avec un autre CMS ne disposant pas de laboratoire (CMS Henri DRET à Villeneuve-Saint-Georges). De plus le laboratoire prend en charge les examens provenant des consultations du Centre d'Information, de Dépistage et de Diagnostic des Infections Sexuellement Transmissibles (CIDDIST) et de la Consultation d'Information, de Dépistage Anonyme et Gratuit (CIDAG) ayant lieu au Centre. Le personnel est constitué de deux biologistes (1,8 ETP), trois techniciens (2,8 ETP), trois secrétaires, une infirmière (à 0,5 ETP pour effectuer les prélèvements) et une biologiste responsable de l'assurance qualité (9 heures/semaine). L'activité annuelle est de : 2017441 B (pour 2010), ce qui est insuffisant pour que le laboratoire fonctionne sans déficits. Depuis un an, le projet du CMS est de créer un Groupement de Coopération Sanitaire (GCS) avec d'autres CMS et un hôpital.

2 INTRODUCTION

2.1 MISE EN PLACE DE L'ASSURANCE QUALITE

L'Assurance qualité est une préoccupation du LBM depuis le début de l'année 2000, avec l'utilisation du GBEA 6 comme référentiel. Pour améliorer et intensifier cet engagement dans la démarche qualité, plusieurs actions ont été entreprises :

- ✓ Le LBM a inscrit à son budget une demande de vacations pour obtenir les services d'un Responsable Assurance Qualité (RAQ), ce qui est effectif depuis 2008. Le Docteur BENAILY, a développé toute la structure de notre système d'Assurance Qualité, de plus elle a initié puis formé l'ensemble du personnel à cette démarche qualité.
- ✓ La biologiste responsable, le Docteur MECHAIN, a suivi la formation d'Assurance Qualité de l'université Descartes et a obtenu son Diplôme Universitaire (DU) en 2010. Elle a poursuivit son engagement en ayant intégré

le premier cycle de qualification BIO-QUALITE en octobre 2010. Cette voie ayant été choisie pour l'accréditation transitoire de notre structure.


- ✓ Une Cellule Assurance Qualité (CAQ) a été créée en novembre 2010. Elle est représentée par Mme MECHAIN, Mme BENAILY, Melle CHAPELLE (secrétaire référente) et moi-même.



2.2 SES LIMITES

Cependant l'absence d'un logiciel d'assurance qualité au sein du laboratoire rend la tâche plus difficile. De plus, peu de moyens humains sont attribués pour développer la démarche d'assurance qualité. Comme bon nombre de LBM, l'ensemble des documents nécessaires à l'obtention de l'accréditation existent mais ils ne sont pas intégrés à la base documentaire. Enfin les enseignements dispensés pendant cette formation m'ont permis de lister quelques points faibles au niveau technique :

- ✓ le suivi des performances de nos automates
- ✓ la traçabilité des enregistrements
- ✓ le relevé des non conformités
- ✓ et la mise en place d'indicateurs qualité analytiques.


2.3 LE PROJET

Une première réunion, mi-janvier, a permis d'examiner différents sujets de mémoire et leur intérêt pour le laboratoire (en présence de Mme MECHAIN, Mme BENAILY et moi-même). Le sujet choisi : répondre aux exigences techniques (chapitre 5) de la norme ISO 15189 4.

Le LBM utilise des méthodes/équipements/réactifs «fournisseurs», qui correspondent à l'utilisation de DM-DIV marqués CE au titre de la directive 98/97/CE, et qui sont considérées comme méthodes reconnues. Le sujet de mémoire portera donc sur l'accréditation de la portée flexible standard A, dans le domaine de la biologie médicale, sous domaine : biochimie et famille : biochimie générale et spécialisée 7, 8.

Ce mémoire décrit la mise en œuvre :

- **D'une procédure de vérification des performances sur site, d'une méthode d'analyse quantitative de portée flexible standard A, sur l'automate de biochimie (intégra 400 ®). Dans le cas de notre laboratoire, il s'agit d'une vérification rétrospective d'une technique déjà utilisée en routine.**

Cette exigence répond aux chapitres 4 :

5.3.2 (matériel de laboratoire) : « Il doit être démontré ...que le matériel est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications se rapportant aux analyses concernées. ».

5.5.2 (procédures analytiques) : « Le laboratoire doit utiliser uniquement des procédures validées pour s'assurer qu'elles conviennent à l'utilisation prévue...Le laboratoire doit enregistrer les résultats obtenus et la procédure utilisée pour la validation. ».

- **D'une procédure de calcul d'incertitude de mesure**

Cette exigence répond au chapitre 4 :

5.6.2 (assurer la qualité des procédures analytiques) : « Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans les cas où cela est pertinent et possible... ».

Le sujet de mémoire choisit s'inscrit dans l'amélioration du processus analytique du laboratoire. Une fois la démarche établie pour le type de méthode quantitatif elle sera facilement adaptable aux autres types de méthodes de portée standard flexible A.

3 METHODOLOGIE

Le principe de la roue de DEMING ou cycle PDCA (Plan, Do, Check et Act) est choisit pour décrire les différentes étapes de ce projet, ainsi que l'utilisation des outils tels que le QQQCCP, les 5 M, les 5 S et le diagramme d'ISHIKAWA.

Un premier échange nous a permis d'identifier trois axes de travail.

3.1 L'ETAT DE L'ART

Il nous est apparu indispensable de faire :





















- ✓ Une **étude bibliographique**, la plus complète possible, sur la méthode qui va être vérifiée [9], [10], [11], [12].
- ✓ De déterminer avec pertinence, tous les critères de performances à vérifier pour valider cette méthode [13], [14].
- ✓ Puis de se référer aux recommandations des fournisseurs et de **choisir les limites d'acceptabilités recommandées par les sociétés savantes**, auxquelles nous voulons comparer nos résultats pour pouvoir les valider [8], [9], [20], [21].

3.2 LES RESSOURCES




Pour déterminer la liste des ressources matérielles, humaines ou d'organisations nécessaire à la réalisation de cette étude j'utilise les 5 M.





- ✓ **MAIN D'ŒUVRE** : la participation de l'ensemble du personnel est indispensable :
 - l'infirmière, pour recueillir les données nécessaire à l'étude de comparaison de nos intervalles de références.
 - les techniciens, pour m'aider à réaliser les mesures nécessaires au suivi de performance, au calcul d'incertitude et me décharger d'une partie de mon poste de travail.
 - Les biologistes : Mmes MECHAIN, BENAILY et STRUGO (biologiste médicale) qui en fonction de leur niveau de connaissance vont m'aider à faire aboutir ce projet.
- ✓ **MATERIEL** : en premier lieu l'automate sur lequel nous allons réaliser ces mesures :
 - l'INTEGRA 400® de la société ROCHE DIAGNOSTICS acheté et mis-en service en décembre 2000. C'est un automate qui travaille sur tube ouvert.
 - le SIL (système informatique du laboratoire) : HEXALIS.
 - les applications informatiques : WORD et EXCEL de MICROSOFT.
 - les consommables, les réactifs et les étalons : spécifique à chaque analyte.

- les pipettes utilisées pour reconstituer les étalons et les contrôles : pipettes en verre, jaugées à double traits.

- ✓ MATIERES : pour effectuer ces différentes évaluations il faut travailler avec :
- des échantillons de patient : plasmas recueillis sur héparinate de lithium (pour la majorité des examens de biochimie, sauf sang total EDTA pour Hba1c).
 - des contrôles de qualité interne (CQI) avec des lots identiques sur de longues périodes (PNU et PPU en service depuis avril 2010).
 - des spécimens d'évaluation externe de la qualité (EEQ) avec l'utilisation de CQI externalisé ou de Contrôle de Qualité Externe (CQE) (adhésion programme ASQUALAB début 2011).
ayant des valeurs en adéquation avec les prises de décisions médicales.
 - eau distillée stérile, en ampoule (pour reconstituer les CQI, CQE et étalons).
- ✓ METHODES : pour rédiger la procédure qui permettra de vérifier les performances de la méthode d'analyse, nous utiliserons la base documentaire suivante :
- les exigences réglementaires : ordonnance du Code de la Santé Publique du 3 janvier 2010 n°2010-49 2 et l'arrêté du 05 août 2010 3.
 - le GBEA. (1999) 6.
 - les exigences normatives : norme ISO 15189(2007) 4.
 - les documents du COFRAC (SH REF 02 5, SH REF 08 7, SH INF 50 8, LBA GTA 04 13, SH FORM 43 15, LAB GTA 14 16, LAB GTA06 19, SH GTA 01 24).
 - recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale hors série volume 1 des Annales de Biologie Clinique de la Société Française de la Biologie Clinique (SFBC) 14.
 - les références bibliographiques 11, 12, 17, 20, 21, 9 et 10.
- ✓ MILIEU : dans lequel aura lieu cette étude :
- la salle technique de biochimie, dont les conditions environnementales sont relativement maîtrisées (climatisation, stores) avec un suivi métrologique de base. Cette salle a été ré agencée suivant la méthode des 5 S afin d'obtenir une organisation plus rigoureuse.

3.3 LA PROGRAMMATION

Janvier, février, mars 2011	<ul style="list-style-type: none">- discussion sur le choix de l'analyte à étudier ; le calcium a été retenu pour sa relative stabilité ¹², l'absence d'interférence significative en présence d'ictère, d'hémolyse ou de lipémie et pour ces intervalles de références qui sont les mêmes pour les hommes et les femmes de 15 à 50 ans (plus simple à vérifier pour notre petite structure) ¹⁴.- impliquer l'ensemble du personnel et expliquer la démarche du projet.- faire une réunion avec l'infirmière qui effectue les prélèvements au laboratoire, pour lui indiquer les critères à appliquer pour sélectionner les patients, dont les échantillons vont être utilisés dans l'étude de comparaison d'intervalles de références. Ces personnes doivent être exemptes de pathologie et ne prendre aucun médicament (fin janvier).- programmer une réunion avec les deux autres techniciens pour obtenir leur adhésion, créer une dynamique et appliquer la méthode des 5 S dans la salle technique de biochimie (mi- février). - adhérer à un programme d'évaluation externe de qualité (EEQ). Le choix de la biologiste responsable s'est porté sur le contrôle ponctuel de biochimie d'ASQUALAB. - définir les critères de validation du CQI et rédiger un tableau d'enregistrement, les limites d'acceptabilités retenues étant la référence à l'état de l'art de la SFBC ²² : D4 - ENR 13 Version A Fiche d'enregistrement des valeurs cibles et des limites d'acceptabilités de la fidélité intermédiaire CQI automate biochimie intégra 400® (ANNEXE I).- faire une fiche D4-ENR 14 d'enregistrement des anomalies concernant les CQI de l'intégra 400® (ANNEXE II). - rédiger un formulaire d'enregistrement, de suivi et de validation des CQE : D4 - ENR 15 Version A Fiche d'enregistrement et du suivi CQE automate biochimie intégra 400® (ANNEXE III).
--	---

<p>Avril, mai 2011</p>	<ul style="list-style-type: none"> - écrire la procédure de vérification des performances et du calcul d'incertitude de mesure à l'aide des documents du COFRAC ₁₃, ₁₆, du SFBC ₁₄ et des cours du D.U. : D4 - PR03 Version A. Procédure de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) - type quantitative- (ANNEXE IV). - rédiger le formulaire d'enregistrement inspiré par le SH FORM 43 ₁₅ : D4 - FOR01 Version A. Formulaire d'enregistrement de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) - type quantitative- (ANNEXE V). -effectuer les mesures à partir des échantillons de patients, des CQI ou CQE et rédiger les différentes fiches d'enregistrement. (ANNEXE VI - répétabilité -, ANNEXE IX - fidélité intermédiaire -, ANNEXE XI – intervalles de références).
<p>Juin, juillet 2011</p>	<ul style="list-style-type: none"> - recueillir et analyser statistiquement les résultats. - valider les performances / aux recommandations du fournisseur et de la SFBC. -mettre en place le processus d'amélioration continue : recensement des Non Conformités (N.C.), déclenchement des Actions Correctives (A.C.) et Préventives (A.P.) et mise en place d'Indicateurs Qualité (IQ).

Ce chapitre est constitué par la rédaction de la procédure et par la réalisation des mesurages* qui vont permettre de valider la méthode utilisée.

*Mesurage** : ensemble d'opérations ayant pour but de déterminer la valeur d'une grandeur.

3.4 DEFINITION DE LA PROCEDURE

L'outil des QQQCCP (Qui, Quoi, Où, Quand, Comment, Combien et Pourquoi) est utilisé pour analyser cette procédure et n'oublier aucun élément important qui la compose.

Qui : le référent qualité rédige la procédure et la présente en CAQ. Le RAQ la valide puis le Biologiste Responsable (BR) l'approuve. Le rôle du RAQ est de diffuser cette procédure, de l'expliquer si nécessaire et de s'assurer que tout le personnel en a pris connaissance. Enfin il vérifie sa mise en application. Seul le technicien référent en assurance qualité est habilité à mettre en œuvre cette procédure.

Quoi : en évaluant, en quantifiant et en recueillant les performances de certains paramètres du processus analytique ; puis en les comparant à des critères prédéfinis. Cette procédure décrit un protocole opératoire standardisé et rationnel (voir chapitre : détermination des critères à évaluer).

Où : sur le site du laboratoire où s'effectue les analyses en routine.

Quand : - *en phase initiale*, à l'installation de l'automate avant son utilisation en routine.

- *en phase de vérification rétrospective des performances* dans le cas d'une méthode déjà utilisée par le laboratoire.

- *après une panne importante ou une « grosse » maintenance.*



Comment : en effectuant une vérification expérimentale et en comparant les résultats obtenus par rapport à l'état de l'art et / ou par rapport aux variations biologiques :

- soit en validant notre méthode d'analyse comme conforme aux valeurs attendues.
- soit en apportant des actions correctives et /ou préventives à notre méthode (si les résultats ne sont pas conformes), avant de recommencer la procédure.

Combien : Cette procédure doit être mise en œuvre pour tous les analytes techniqués par la méthode d'analyse testée, quelque soit la matrice.

Pourquoi : pour garantir le bon fonctionnement d'une méthode d'analyse, utilisée de manière quotidienne et en routine, dans un laboratoire d'analyse médicale.

3.5 DETERMINATION DES CRITERES A EVALUER

Les paramètres à connaître ou à étudier pour valider une méthode sont résumés dans le tableau suivant (référentiels SH GTA 04 13, Ann Biol Clin hors série n°1 14). Nous nous intéressons uniquement à une méthode d'analyse de type quantitative utilisée dans un système normalisé (marquage C.E.) non modifié, et de portée standard flexible A. Notre LBM étant un petit laboratoire de routine, seule la portée de type A nous concerne.

Paramètres à vérifier et ou à connaître	Dossier, références bibliographiques	Vérification sur site	NOTRE LBM
SPECIFICITE analytique	OUI	NON	NON
FIDELITE (répétabilité et fidélité intermédiaire)	OUI	OUI	OUI
JUSTESSE (approche de la)	OUI	OUI dès que possible	OUI dès que possible
INTERVALLE DE MESURE Limites de quantification et limites de linéarité	OUI	A vérifier si nécessaire	A vérifier si nécessaire
INCERTITUDES /facteurs de variabilité et évaluation	OUI	OUI	OUI
CONTAMINATION entre échantillons	OUI	OUI pour les paramètres sensibles	OUI pour les paramètres sensibles
STABILITE REACTIFS (Après ouverture, embarqués)	OUI	NON	NON
ROBUSTESSE	NON	NON	NON
INTERFERENCES (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments)	OUI	A vérifier si nécessaire	A vérifier si nécessaire
INTERVALLE DE REFERENCES	OUI	A vérifier dès que possible, si justifié	A vérifier dès que possible, si justifié
Comparaison avec une méthode de référence	OUI (si existe)	NON	NON
Comparaison avec une méthode déjà utilisée au LBM	OUI (si existe)	OUI (si possible)	OUI (si possible)
Analyse des discordances	OUI	OUI	OUI

Notre choix des paramètres à vérifier, pour un analyte de biochimie, est celui conseillé par le COFRAC dans SH FORM 43. 📖¹⁵ L'étude portera sur :

- **LA FIDELITE** avec la REPETABILITE et la FIDELITE INTERMEDIAIRE
- **LA JUSTESSE** avec l'approche de la justesse (le programme du CIL ou calcul de L'INEXACTITUDE)
- **L'INTERVALLE DE REFERENCE**
- **AUTRES PARAMETRES A CONNAITRE**
- **LA COMPARAISON AVEC UNE AUTRE METHODE**
- Auxquels nous rajoutons **L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE**


3.6 ETUDE DES CRITERES DE PERFORMANCE DE LA METHODE :

3.6.1 LA FIDELITE

Objectif 📖¹⁴ : exprimer l'étroitesse de l'accord entre les indications d'une valeur mesurée obtenues par des mesures répétées du même échantillon dans une même série (répétabilité) ou dans des séries différentes (fidélité intermédiaire). La fidélité fournit une indication sur les erreurs aléatoires.

a) Répétabilité 📖¹³ : L'essai de répétabilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse dans des conditions standardisées : même opérateur, même lots de réactif, même instrument, même étalon et dans un délai le plus court possible. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales.

Mise en œuvre : en pratique, il est recommandé d'utiliser des échantillons provenant de patients ou de contrôles. Il faut tester au minimum 2 échantillons de concentrations différentes qui sont choisies en fonction des niveaux de décision clinique et du domaine de mesure de la technique étudiée. Le nombre d'échantillons à passer peut être compris entre 20 (cf. SFBD 📖¹⁴) et 30 (cf. COFRAC 📖¹³) en fonction de la durée de la technique et du coût du réactif utilisé.

Exploitation des résultats 14 : La dispersion des valeurs x_i autour de la moyenne m^* est estimée par le calcul de l'écart-type s^* et du coefficient de variation cv^* .

Pour effectuer tous ces calculs nous allons programmer un tableau EXCEL, en attendant de pouvoir bénéficier d'un logiciel spécifique.

Pour $n > 30$

$$m = \frac{\sum x_i}{n} \qquad s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - m)^2}{n}} \qquad cv = \frac{s}{m} \times 100$$



Pour $n < 30$


$$m = \frac{\sum x_i}{n} \qquad s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - m)^2}{n-1}} \qquad cv = \frac{s}{m} \times 100$$

\underline{m}^* (la moyenne) est : la somme des valeurs de la variable x_i divisée par n le nombre de ces valeurs (sauf indication contraire le terme moyenne indique la valeur arithmétique).

\underline{s}^* (l'écart-type) est une donnée statistique qui évalue la dispersion des valeurs observées autour de la moyenne.

\underline{cv}^* (coefficient de variation) est le rapport entre l'écart-type et la moyenne.

En pratique : Les 30 mesures ont été effectuées le 12/04, sur des échantillons de deux plasmas de patients et dans des conditions d'utilisation standard. (Les tubes contenant les échantillons sont centrifugés < 1 heure après le prélèvement et ils sont techniqués dans l'heure qui suit la centrifugation) .Le COFRAC : 13 et le SFBC : 14 recommande d'évaluer ce paramètre avec 2 niveaux de concentrations différentes, n'ayant pas de plasma de niveau de concentration basse ce jour là, nous effectuons le test avec un niveau moyen et un haut.


b) Reproductibilité ou fidélité intermédiaire 13. : L'essai de reproductibilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon avec la même méthode dans le même laboratoire mais dans des conditions opératoires différentes. L'opérateur, les lots de réactifs, l'étalon et courbes d'étalonnage peuvent être des données variables.

Mise en œuvre : cet essai est réalisé au cours de séries successives, par le passage quotidien ou biquotidien des échantillons biologiques provenant de patient (si et uniquement si leur stabilité est garantie pendant la durée de l'étude) ou par le dosage des CQI. Ces spécimens à doser sont choisis en fonction de leur niveau de concentration qui doit être dans la zone proche des seuils de décision clinique. Il faut recueillir 30 déterminations minimum avec deux niveaux de concentration différents pour le COFRAC et pour le SFBC.

Exploitation des résultats : Les modalités de calcul sont identiques à ceux de la répétabilité (avec calcul de la moyenne, de l'écart-type, et du coefficient de variation) si le recueil des valeurs expérimentales est quotidien.

En pratique : les valeurs exploitées correspondent aux résultats quotidiens des 2 CQI, passés en systématique à la mise en service de l'automate. Nous avons recueilli les 30 valeurs indiquées par le COFRAC et LE SFBC pendant la période du 24/03 au 01/05 (en pratique les contrôles sont techniques 1/2h après la reconstitution du lyophilisat ou après décongélation et en ayant été vortexés).

3.6.2 L'APPROCHE DE LA JUSTESSE

Objectif 14 : exprimer l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essai et une valeur considérée comme « vraie ». En l'absence de matériaux de référence certifiés, il est possible de faire une approche de la justesse en intégrant un programme de comparaison inter-laboratoire C.I.L. (soit CQI externalisé ou EEQ). L'approche de la justesse est uniquement évaluée pour une analyse quantitative, elle fournit une indication sur les erreurs systématiques.


a) C.Q.I.EXTERNALISE : APPROCHE DE LA JUSTESSE

Mise en œuvre : ces programmes permettent aux LBM de comparer leur propre résultat à la moyenne des résultats obtenue par l'ensemble des participants ou l'ensemble des participants utilisant la même méthode. Il convient de tester 3 échantillons pour le COFRAC, 2 pour le SFBC, de concentrations différentes en fonction des zones de décision médicale et dans des conditions d'utilisation standard.

Exploitation des résultats: La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue **m** lors de l'étude de la fidélité intermédiaire, à la valeur cible attendue assimilée à la valeur « vraie » **v** de l'échantillon testé.

BIAIS en unité = **m-v**

$$\text{BIAIS en \%} = \frac{\mathbf{m-v}}{\mathbf{v}} \times 100$$

En pratique: En absence d'externalisation des CQI, ce qui est notre cas, le COFRAC recommande d'établir l'inexactitude de la méthode étudiée SH GTA 04 13.

b) EEQ : INEXACTITUDE

Mise en œuvre: le laboratoire peut démontrer l'inexactitude de sa méthode en comparant les valeurs obtenues à partir des résultats d'E.E.Q. (Evaluation Externe de Qualité) aux valeurs cibles.

Exploitation des résultats: L'inexactitude est quantifiée par le biais. Elle permet de comparer la valeur trouvée pour l'EEQ **x**, à la valeur cible **v**.

Pour une méthode standardisée : la valeur cible retenue est la valeur moyenne des résultats cumulés de l'ensemble des participants du programme de CIL.

Pour une méthode non standardisée : la valeur cible est la moyenne des résultats obtenus à partir de la même méthode (groupe de pairs).

L'évaluation de l'inexactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'échantillons d'EEQ est important.

$$\text{INEXACTITUDE en \%} = \frac{\mathbf{x-v}}{\mathbf{v}} \times 100$$

L'inexactitude permet une approche de l'écart par rapport à la valeur cible.

En pratique: Nous utilisons les valeurs des 2 CQE qui ont été effectuées le 07/04. Comme il est recommandé par le COFRAC de faire l'étude sur 3 valeurs de concentrations différentes ; nous incluons un troisième résultat obtenu avec le CQE du mois de mars (fait le 09/03) et qui a une concentration différente de celles étudiées au mois d'avril.


3.6.3 L'INTERVALLE DE REFERENCE

Objectif: Les intervalles de référence utilisés au laboratoire, proviennent de la publication de la société ROCHE DIAGNOSTICS. Elles devront être vérifiées, le cas échéant et si possible, par un calcul statistique.


Mise en œuvre: Cette vérification ne peut se faire qu'après une période d'utilisation permettant d'obtenir un nombre de valeurs significatives. Les conditions pré-analytiques et analytiques doivent être identiques au fonctionnement habituel du laboratoire. De plus il faut définir des critères d'exclusion : l'absence de pathologie et de prise de traitement pour les sujets intégrés dans l'étude, ainsi que des critères de participation pour chaque analyte : âge et sexe. Enfin les valeurs obtenues doivent être comparées avec celles annoncées par le fournisseur.

Exploitation des résultats:

Il existe deux protocoles pour déterminer ces valeurs de références :

a) Celui du COFRAC ¹³ : qui nécessite un nombre important de valeurs $n > 100$. Après avoir vérifié que la répartition de la population est gaussienne, on calcule une première moyenne et un écart-type. Puis on écarte toutes les valeurs aberrantes et les valeurs qui sont $>$ à $m + 2s$ et $<$ à $m - 2s$. On recalcule la moyenne avec les valeurs restantes, c'est la moyenne tronquée m_t ainsi que l'écart-type s_t .

Les valeurs de références seront comprises dans l'intervalle $[m_t - 2 s_t ; m_t + 2 s_t]$.

b).Celui de L'IFCC-LM ¹⁴ : (International Federation of Clinical Chemistry and laboratory medicine) et le CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) qui propose, dans leurs dernières recommandations, de faire une comparaison de population. Cette étude permet de vérifier que les intervalles utilisés correspondent aux valeurs retrouvées, chez un panel de sujets apparemment « sains », clients de notre laboratoire. Le nombre d'échantillons est restreint $n=20$. On vérifie l'homogénéité du panel en éliminant les valeurs aberrantes si nécessaire. S'il y a de 0 à 2 échantillons en dehors des limites proposées on peut adopter ses valeurs (soit $<$ à 10%). S'il y a 3 échantillons en dehors des limites il faut mesurer 20 échantillons supplémentaires et recommencer le protocole. Dans le cas où 4 résultats sont en dehors des intervalles proposés, il convient de déterminer ces limites de références en suivant le protocole d'origine.

En pratique: Le deuxième protocole est plus facilement réalisable dans notre laboratoire. Notre faible activité et l'absence d'un logiciel assurance qualité est un handicap pour mettre en place une étude statistique de grande ampleur. De plus la majorité de notre patientèle est constituée de personnes souffrant de pathologie, il est impossible de les intégrer dans un protocole. Nous avons sélectionné les résultats de patients âgés de 15 à 50 ans, homme et femme confondus car les valeurs de références pour le calcium ne varient pas en fonction du sexe.

3.6.4 LES AUTRES PARAMETRES A CONNAITRE

CONTAMINATION INTER-REACTIFS 📖¹³ : ce phénomène peut se produire sur un analyseur lorsque le système de distribution est commun à tous les réactifs. Pour le secteur de la biochimie, la contamination lors de la mesure de l'activité de la LDH par le réactif de l'ALAT est possible. Cependant notre activité de laboratoire de ville ne nous donne pas l'occasion d'être confronté à cette situation. En pratique, après avoir rincé l'automate, on mesure l'activité en série de la LDH d'un sérum dix fois et on calcule sa moyenne m . Puis on mesure l'activité de la LDH du même sérum mais en alternant le dosage de l'ALAT et de la LDH 10 fois de suite. On calcule la nouvelle moyenne m_1 . Toute différence significative entre les deux moyennes met en évidence une contamination inter-réactif qui doit être prise en compte.

EVALUATION DE L'INFLUENCE DE L'HEMOLYSE, DE LA BILIRUBINE, DE LA TURBIDITE OU DE SUBSTANCES EXOGENES: la présence dans les liquides biologiques de certaines substances endogènes ou exogènes peut être à l'origine d'anomalies et conduire à des résultats erronés. L'influence de ces substances varie avec la nature de l'examen, la méthode de mesure ou de recherche mise en œuvre. Il faut se référer à la bibliographie (article des communautés savantes et des fournisseurs) pour définir les critères d'acceptabilité des échantillons à doser. Tout spécimen non conforme doit être écarté et reprélevé en apportant toute fois une attention particulière aux prélèvements précieux.

3.6.5 LA COMPARAISON DE METHODE

Objectif 📖¹⁴ : une comparaison de méthode consiste à évaluer les résultats obtenus avec une méthode par rapport à ceux d'une autre méthode :

- Soit en utilisant une méthode de référence, ce qui permet de conclure à la justesse de la méthode testée.
- Soit en comparant les résultats de deux méthodes utilisées en parallèle, ce qui permet de mettre en évidence un éventuel biais.

Mise en œuvre : Ce protocole est à mettre en place :

- à l'installation d'une nouvelle méthode (comparaison de la technique à tester par rapport à l'ancienne technique considérée comme éprouvée).
- quand l'analyse peut être effectuée par deux méthodes différentes dans le même laboratoire.
- quand l'analyse peut être effectuée par une même méthode mais sur des automates différents.

Cette comparaison est pratiquée après la vérification de tous les autres critères.

Les spécimens utilisés doivent être représentatifs des échantillons que le système analytique étudié aura à traiter. Ils doivent correspondre à la gamme des concentrations rencontrées en physiopathologie pour l'analyte dosé, dans le cadre du domaine de mesure de la technique. L'effectif retenu est de 40 pour le SFBC 📖¹⁴ et 30 pour le COFRAC 📖¹³. Leur répartition en fonction de la concentration doit être homogène et se fait en tenant compte des critères définis dans le protocole (ne pas oublier d'analyser des spécimens particuliers). Les échantillons, frais de préférence, sont analysés en simple par les deux techniques dans un délai le plus court possible.

Exploitation des résultats 📖¹⁴ : Pour estimer les relatives différences entre deux méthodes il faut :

- **Calculer les différences observées** entre les résultats de la technique A (de référence) x_i et ceux de la technique B (à tester) y_i .
- **Calculer les rapports y_i/x_i** pour chaque résultat.
- **Représenter sur un graphe** les différences $(x_i - y_i)$ et/ou les rapports (x_i/y_i) en fonction des valeurs de x . Les limites d'acceptabilités donnés par le protocole (en général trois écart-type) ou calculer en fonction de la fidélité intermédiaire des deux méthodes, doivent apparaître sur le graphe. Les résultats discordants sont infirmés ou confirmés par vérification avec les deux techniques.

- **Identifier et noter** le nombre de spécimens discordants après leur vérification. On recherche l'origine de cette discordance.

- **Analyser visuellement le graphe** pour :

- vérifier l'homogénéité de la répartition des spécimens en fonction de la concentration.
- reconnaître l'existence d'une erreur systématique et l'identifier (erreur constante ou proportionnelle).
- étudier le comportement des spécimens en fonction de leurs caractéristiques.

- **Calculer la droite de régression** qui est la mieux adaptée pour définir la relation statistique liant les résultats de la technique A avec ceux de la technique B. Il existe plusieurs types de droite de régression, le modèle idéal pour une comparaison de technique correspond à une droite unique qui tient compte des erreurs aléatoires de x_i et y_i , qui est accessible aux moyens de calcul classique et qui est robuste vis-à-vis de la répartition des valeurs en fonction du niveau de concentration et des déviations. Ce dernier point ne peut être résolu sans moyens de calcul informatique puissant, il faudra donc choisir des spécimens ayant des niveaux de concentration couvrant de façon homogène l'étendue du domaine d'analyse. La droite des moindres carrés permet une exploitation facile et efficace.

$$y = bx + a$$

m_y = moyenne résultats méthode testée

$$a = m_y - b \cdot m_x$$

m_x = moyenne résultats méthode référence

$$b = \frac{S_y}{S_x}$$

S_y = écart-type méthode testée

S_x = écart-type méthode référence

b = pente

Conclusion: L'interprétation des graphes permet de répondre à la question suivante : Existe-t-il une différence significative entre les deux techniques (en fonction de leur précision) ? Si des différences sont constatées il faut :

- en définir la nature (erreurs systématiques, aléatoires ou grossières)
- les quantifier (existe-t-il une influence sur l'interprétation)
- y remédier.

3.6.6 L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE

Objectif 📖13, 📖14, 📖15, 📖16, 📖17, 📖18 : Chaque résultat de mesurande* est affecté d'une erreur totale qu'il convient d'identifier en recherchant ses composantes, en les qualifiant et les quantifiant. L'influence de cette erreur, sur la valeur du résultat, est appelée incertitude de mesure*. Elle peut être évaluée pour apporter une aide à l'interprétation des résultats :- soit par rapport à un résultat antérieur.

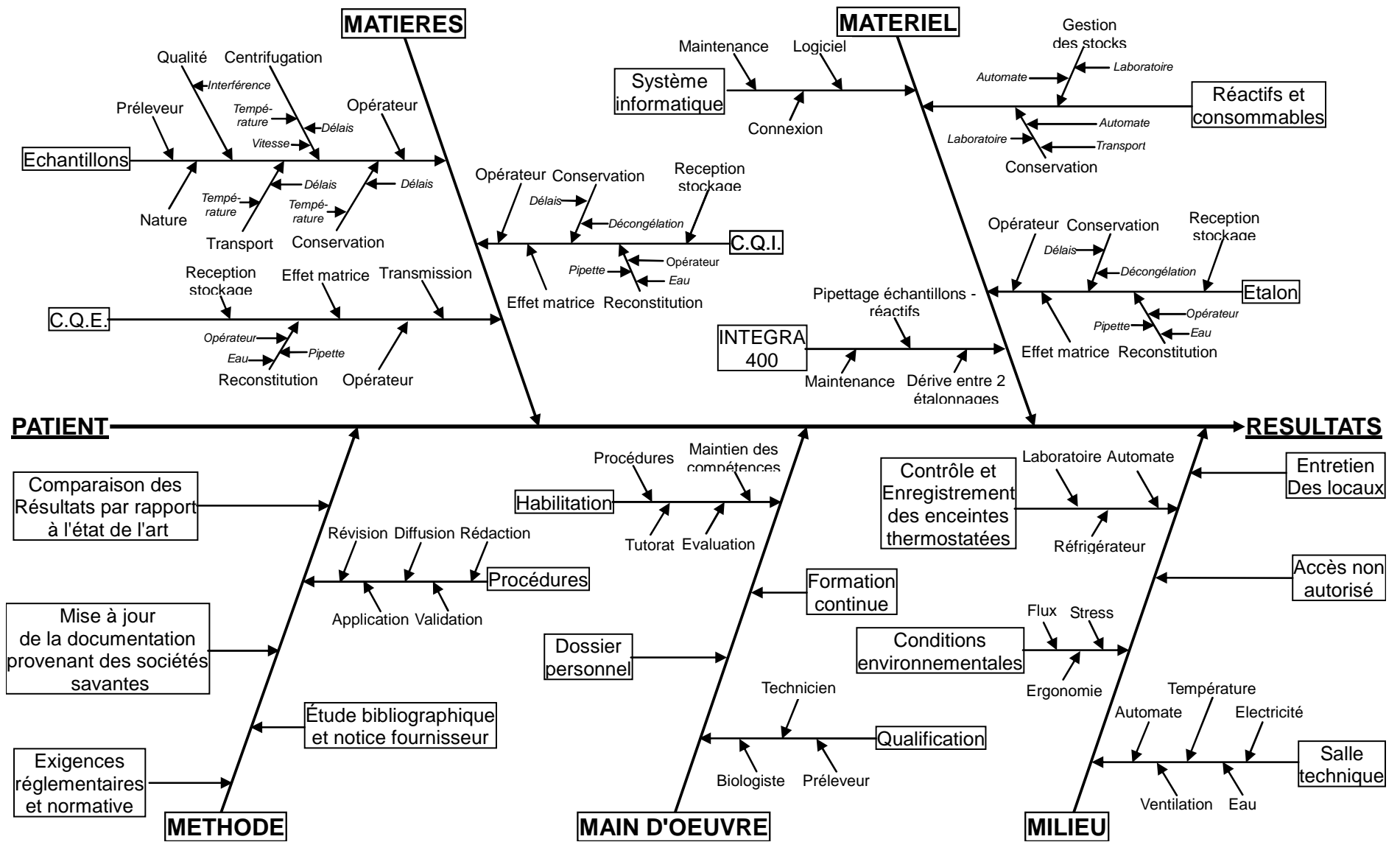
- soit par rapport à un seuil de décision clinique.

Elle doit être déterminée pour toutes les mesures quantitatives réalisées au LBM dans le cas où cela est jugé pertinent et possible. Notre approche utilisera les résultats de la validation de la méthode.

*Mesurande** : grandeur que l'on veut mesurer.

*Incertitude de mesure** : paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande.

Mise en œuvre : Pour commencer, il convient de constituer une base de données rigoureuse pour chaque analyte étudié et d'identifier qualitativement les sources d'incertitudes 📖11, 📖12 et ☉9. Un brainstorming est organisé avec la RAQ pour faire un diagramme d'ISHIKAWA. Il représente l'analyse des risques qui peuvent être source d'incertitude.




Cette approche d'incertitude est effectuée par l'addition de plusieurs incertitudes de type individuelle. Elle permet de déterminer les deux principales composantes de l'incertitude de mesure qui regroupent les principaux facteurs de variation liés aux différentes étapes de la phase analytique :

- **1- LA COMPOSANTE D'INCERTITUDE DE FIDELITE** qui est déterminée par le CQI intra-laboratoire.

- **2- LA COMPOSANTE D'INCERTITUDE DUE A LA JUSTESSE** qui est déterminée :

- soit par le CQI inter labo,

- soit par l'EEQ.

Il est possible d'y associer d'autres composantes telles que **la composante d'étalonnage**. Les autres sources d'incertitudes significatives doivent être identifiées et indiquées 13.

Exploitation des résultats :

1- D'une part le calcul de l'écart-type de reproductibilité intra-laboratoire permet d'obtenir la composante d'incertitude de fidélité.

$$U1 = S \text{ repro}$$

2- D'autre part la composante d'incertitude due à la justesse est donnée par la loi rectangle.

$$U2 = \frac{\text{biens}}{\sqrt{3}}$$

En cas d'absence de matériaux de référence certifiés, le laboratoire peut utiliser les données d'EEQ pour estimer l'incertitude de justesse.

L'incertitude globale est calculée selon la relation issue de la somme quadratique des composantes d'incertitude, auxquelles nous pouvons ajouter si nous les connaissons l'incertitude de référence, d'étalonnage et ainsi que d'autres facteurs de variabilité propres à chaque méthode.

$$Uc = \sqrt{U1^2 + U2^2} \qquad Uc = \sqrt{U1^2 + U2^2 + Uref^2 + Uet^2 + \sum Uv^2}$$

L'incertitude élargie U est conventionnellement calculée

$$U = 2 \times Uc$$

pour indiquer que l'intervalle compris entre la valeur mesurée +/- U contiendra conventionnellement la valeur « vraie » à 95% dans le cas d'une distribution gaussienne.

Le résultat de la mesure analytique R s'exprimera :

$$R = \text{valeur mesurée} \pm U \text{ en unité}$$

En pratique : Nous exploitons les résultats des CQI pour déterminer l'incertitude liée à la méthode de mesure. L'incertitude liée à la justesse provient de l'étude d'EEQ (en absence de programme de CIQ externalisé), quant à la composante d'étalonnage elle est indiquée par le fournisseur.

3.7 REDACTION DE LA PROCEDURE :

La procédure à suivre pour vérifier une méthode d'analyse de biologie médicale quantitative en biochimie est rédigée, ainsi que le formulaire d'enregistrement des résultats.

→ Cf. ANNEXE IV D4-PR03 Version A Procédure de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) de type quantitatif - en biochimie-.

→ Cf. ANNEXE V D4-FOR01 Version A Formulaire d'enregistrement de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) de type quantitatif- en biochimie-.

4 RESULTATS

EVALUER

3ème étape de la roue de DEMING




4.1 ANALYSE DES RESULTATS ET DISCUSSION


4.1.1 LA REPETABILITE

Analyse des résultats :

Matrice	Valeur n	Concentration en calcium (en mmol/l)	C.V.obtenus (en %)
Plasma 1	30	2,29	0,56%
Plasma 2	30	2,89	0,59%



→ Cf ANNEXE VI D4 - ENR16 Version A Fiche d'enregistrement des tests de répétabilité en biochimie - intégra400®- sur 30 tests.

Les objectifs analytiques, auxquels nous devons comparés les résultats obtenus, peuvent être définis, pour une méthode d'analyse quantitative, de deux façons ¹⁹, ²⁰ et ²¹ :


- soit par l'état de l'art (VASSAULT et al) ²².

- soit en s'appuyant sur les variations biologiques de l'analyte étudié (RICOS et al) ²³.

Ces deux méthodes ont des avantages et des inconvénients.

- L'état de l'art est basé sur les performances obtenues dans des conditions de pratique quotidienne et il tient compte de l'évolution des techniques, mais pas des besoins cliniques. De plus les propositions du groupe de travail SFBC mériteraient d'être renouvelées régulièrement ²¹.
- L'étude des variations biologiques proposent une base de données importante et réactualisée. Cependant les valeurs obtenues sont peu robustes et les exigences pour certains analytes sont inaccessibles, d'où la proposition de FRASER de moduler les limites d'acceptabilités en trois catégories (optimale, souhaitable ou minimale) ²¹.

L'approche la plus convaincante combine les deux méthodes.

Pour le moment, nous allons comparer les valeurs obtenues aux valeurs de C.V. préconisées par le fournisseur et par l'état de l'art car nous ne disposons pas de résultats de justesse effectuée à partir de CQI externalisé. Dès que nous aurons intégré un de ces programmes, nous évaluerons aussi et de façon systématique nos résultats, par rapport aux valeurs indiquées par les tables de RICOS ²⁴.

Roche Diagnostics	Concentration en calcium (en mmol/l)	C.V.attendus (en %)
Echantillon M	2,19	1,2%
Echantillon H	3,65	1,2%
SFBC	Concentration en calcium (en mmol/l)	C.V.attendus (en %)
Echantillon B	1,80	1,2%
Echantillon M	2,40	1,2%
Echantillon H	3,40	1,2%

Nous pouvons donc conclure que les résultats de l'étude de répétabilité impliquant le couple automate - réactif (intégra 400® - cobas intégra réf : 20763128 322) sont conformes à l'état de l'art.

Discussion: Le COFRAC recommande l'utilisation de 30 échantillons, le SFBC d'un panel de 20 (voir 6 dans certains cas), nous avons donc calculé les C.V. avec les 5, 10, 15 puis les 20 premières mesures pour vérifier la conformité des résultats en fonction du nombre de tests réalisés. Cette information est intéressante pour déterminer le nombre de répétats minimum à effectuer.

Pour les deux niveaux de concentration, tous les CV sont conformes aux valeurs attendues. Nous pouvons donc en déduire que le passage de 5 échantillons suffit. Cependant cette étude doit être poursuivie sur plusieurs autres analytes pour confirmer ce résultat. Le principe d'analyser très peu de spécimen, pour des tests dont la durée d'exécution est longue ou pour des tests utilisant des réactifs onéreux, est validé. Nous adoptons comme principe dans notre procédure d'utiliser au moins 10 répétats pour ces tests « particuliers » et 20 répétats pour les autres tests et ceci pour deux niveaux de concentration minimum. De même les tests de répétabilité effectués après une maintenance seront au nombre de 10. Toutefois si le résultat des CV n'est pas conforme, l'étude sera poursuivie en augmentant le nombre de mesure.

→ Cf. ANNEXE VII D4 - ENR16 Version A Fiche d'enregistrement des tests de répétabilité en biochimie - intégra400®- sur 5, 10, 15 et 20 tests.

→ Cf. ANNEXE VIII Analyse statistique sur l'étude de la répétabilité de l'analyte calcium.

4.1.2 LA FIDELITE INTERMEDIAIRE

Analyse des résultats :

Matrice lyophilisé	Valeur n	Concentration en calcium (en mmol/l)	C.V.obtenus (en %)
QC1	30	2,16	0,97%
QC2	30	3,61	1,05%

→ Cf. ANNEXE IX D4 - ENR17 Version A Fiche d'enregistrement des tests de fidélité intermédiaire en biochimie - intégra400®-.

Nous les comparons aux valeurs proposées par le fournisseur et par le SFBC :

Roche Diagnostics	Concentration en calcium (en mmol/l)	C.V.attendus (en %)
Echantillon M	2,19	1,6%
Echantillon H	3,65	1,6%
SFBC	Concentration en calcium (en mmol/l)	C.V.attendus (en %)
Echantillon B	1,80	1,6%
Echantillon M	2,40	1,6%
Echantillon H	3,40	1,6%

et nous concluons à leur conformité par rapport à l'état de l'art.

Discussion: En routine nous effectuons le dosage des CQI une seule fois dans la journée, à la mise en route de l'automate. Cette pratique augmente la durée de l'étude puisqu'il faut recueillir au moins 30 mesures. De plus le fait de ne pas redoser le CQI après nos séries d'échantillons ne nous permet pas, en théorie, de valider nos résultats. En effet ce n'est que la validation des CQI du jour suivant qui nous permet d'affirmer que l'automate fonctionnait correctement la veille. Ce sujet va être abordé dans la prochaine réunion de la CAQ.

La répétabilité et la reproductibilité apparaissent comme les deux extrêmes de la fidélité au sein du laboratoire. Il convient que les CV de ces procédures soient les plus proches possible, signe de robustesse de la méthode. Nos résultats sont conformes, cependant le CV de fidélité intermédiaire est deux fois plus élevé que celui de la répétabilité. Ce point doit être surveillé avec l'étude des autres analytes et si la différence se confirme il faudra demander des explications au fournisseur, tout en sachant que l'automate est dans notre LBM depuis plus de dix ans.

4.1.3 L'APPROCHE DE JUSTESSE

Analyse des résultats :

Pour l'analyte étudié dans ce mémoire : le calcium, nous comparons nos valeurs aux résultats de l'ensemble des participants car la méthode utilisée pour ce dosage est considérée comme standardisée.

CQE	Valeur du LBM (mmol/l)	Valeur cible générale (mmol/l)	Biais(%)
Du 09/03	2,86	2,86	0
Du 07/04	2,20	2,21	-0,5
Du 07/04	1,66	1,68	-1,2

→ Cf. ANNEXE X *D4 - ENR18 Version A Fiche d'enregistrement de l'approche de l'incertitude en biochimie - intégra400®.

*Compte-rendu des résultats de CQE des mois de mars et avril.

La société Roche et le SFBC nous propose les valeurs de comparaison suivantes :

Roche Diagnostics	Concentration en calcium (en mmol/l)	Inexactitude (en %)
Echantillon M	2,40	3%
Echantillon H	3,6	3%
SFBC	Concentration en calcium (en mmol/l)	Inexactitude (en %)
Echantillon B	1,80	2,3%
Echantillon M	2,40	2,3%
Echantillon H	3,40	2,3%

Notre évaluation est conforme.

Discussion : A défaut de CQI externalisé nous déterminons l'approche de la justesse par le calcul de l'inexactitude en utilisant les résultats du CQE. Conscient de cet aléa, nous allons dès le début de l'année 2012, participer au programme inter-laboratoire de notre fournisseur réactif en externalisant nos résultats de CQI quotidiens. De cette façon nous pourrions effectuer nos vérifications expérimentales à partir d'un spécimen de même nature, de même lot et de même concentration pour ajouter une rigueur statistique.

Dans un deuxième temps, nous avons pour objectif, de participer à un programme de CIL indépendant du couple analyseur/réactif, comprenant au minimum deux niveaux de concentration différents. Compte tenu du coût que cette décision va engendrer, nous pensons la mettre en place après notre futur regroupement.

4.1.4 LES INTERVALLES DE REFERENCES

Analyse des résultats :

intervalle de référence obtenu par l'étude	intervalle de référence utilisé au LBM
2,13 à 2,50 mmol/l	2,09 à 2,54 mmol/l

→ Cf. ANNEXE XI D4 - ENR19 Version A Fiche d'enregistrement de vérification des intervalles de référence en biochimie - intégra400®.

Actuellement les valeurs indiquées sur les comptes-rendus sont les valeurs proposées par le fournisseur. Lors de la prochaine réunion de la CAQ nous validerons notre étude de comparaison.

Discussion: Notre laboratoire étant une petite structure qui accueille en majorité des patients atteint de pathologies, il est très difficile de recueillir des valeurs de références « normales ». Ceci explique la durée relativement longue de cette partie de l'étude qui a eut lieu du 24/01 au 22/04.

4.1.5 LA COMPARAISON DE METHODE

La CAQ veut programmer une comparaison de méthode, avec le centre de santé d'IVRY/SUR/SEINE dont nous utilisons l'automate en back up en cas de panne de notre automate. Ce qui est somme toute assez rare (en 2 ans, le cas s'est produit une seule fois). Les 2 centres de santé travaillent sur la même gamme d'automate : l'intégra 400 de la société ROCHE DIAGNOSTICS et avec les mêmes réactifs, ce qui devrait faciliter l'étude.

4.1.6 L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE

Analyse des résultats:

Incertitude de fidélité intermédiaire	CQI niveau 1	concentration : 2,16 mmol/l	Ecart-type : 0,02
Incertitude de justesse - inexactitude -	CQE niveau 2	concentration : 2,20 mmol/l	Biais /technique générale en valeur absolu : -0,01 en pourcentage -0,45%
Incertitude d'étalonnage	étalon :	concentration : 2,60 mmol/l	Incertitude : 0,0281 mmol/l

→ Cf. ANNEXE XII * D4 - ENR20 Version A Fiche d'enregistrement de l'approche de l'estimation de l'incertitude de mesure en biochimie - intégra400®-
*Tableau des valeurs de concentration d'étalon et incertitude associée.

Pour une concentration de calcium à 2,20mmol/l nous obtenons une incertitude élargie de +/- 0,069mmol/l (en valeur absolue) soit 3,1% (en valeur relative).


Discussion : Le fait de ne pas faire partie d'un programme de CQI externalisé nous limite dans notre étude. En effet les valeurs de CQE ne correspondent pas aux valeurs de CQI utilisées pour le calcul du C.V. de fidélité intermédiaire. Il est donc impossible de calculer l'incertitude pour les 2 concentrations. Nous allons effectuer le calcul pour le niveau 1 du CQI qui a une valeur moyenne de 2,16 mmol/l et pour le niveau 2 du CQE à 2,20mmol/l. Nous avons parfaitement conscience que cette différence de concentration amène une incertitude supplémentaire. Ce calcul d'incertitude n'est pratiqué qu'à titre d'exemple et il ne sera nullement utilisé. De plus le fait d'utiliser deux matrices différentes pour cette étude intègre une incertitude supplémentaire. Cette évaluation sera de nouveau réaliser quand nous aurons intégré un programme de CQI externalisé.

4.2 VALIDATION DE LA VERIFICATION DE METHODE

L'évaluation en assurance qualité, c'est l'appréciation de la conformité du processus mis en œuvre. Au vu des différents résultats obtenus pendant cette étude, le processus analytique et la procédure de vérification de méthode qui en découle sont validées en CAQ. La seule modification apportée dans la procédure est le nombre de mesure à effectuer pour l'étude de la répétabilité qui sera de 20(au lieu de 30).

→ Cf. ANNEXE XIII D4 - ENR01 Version A. Formulaire d'enregistrement de vérification des performances d'une méthode d'analyse - type quantitative- (portée flexible A).

Mais l'évaluation c'est aussi se fixer des objectifs à atteindre ; ainsi nous pouvons vérifier de façon systématique, la progression des processus analytique mis en place. Dans notre cas nous allons utiliser un l'indicateur de qualité de performance, objectif : effectuer la procédure de vérification de 10 analytes par mois (il y en a 48).

Ajuster consiste à agir et réagir, corriger et améliorer en permanence, dans le but de standardiser le processus ou la procédure. C'est l'analyse des non conformités constatées et le déclenchement d'action corrective et / ou d'action préventive qui permet l'amélioration continue 24. Il est possible de la mettre en place en utilisant différents outils tels que :

- les audits ou les autoévaluations : qui détectent les anomalies ou les non conformités (N.C.).
- la revue de direction : qui peut déclencher des actions correctives (A.C.*) ou préventives (A.P.*) contre les N.C., et qui évalue le résultat de ces actions.

AC* : action entreprise pour éliminer les causes d'un NC ou de tout autre événement indésirable existant pour éviter sa récurrence.

AP* : action entreprise pour éliminer les causes d'un NC ou de tout autre événement indésirable potentiel pour éviter sa récurrence.

Dans notre cas, après avoir vérifié tous les analytes de biochimie nous programmerons un audit «interne » en association avec une biologiste référente en biochimie d'un autre CMS. Enfin il faudra prévoir une revue de direction assez rapidement.

Pour finaliser cette roue de DEMING, nous symboliserons la cale par la rédaction d'une procédure de gestion des différentes procédures de vérification (de portée flexible standard A) en fonction des domaines et sous domaine et du principe de la méthode étudiée.

5 CONCLUSION

La biologie médicale joue un rôle essentiel dans la médecine actuelle, il est donc légitime et indispensable qu'elle réponde à des exigences spécifiées.

Certaines de ces attentes techniques sont vérifiées au cours d'un protocole expérimental qui est décrit dans notre procédure. Les résultats obtenus doivent être comparés aux recommandations du fournisseur, à l'état de l'art et ou aux variations biologiques.

Résultats pour l'analyte calcium de concentration de 2,20mmol/l

	Roche diagnostics	Etat de l'art - SFBC -	RICOS (risque à 5%)			Résultats du LBM
			LO*	LS*	LM*	
Répétabilité en %	1,2 (valeur de SFBC)	1,2	----	----	----	0,64
Fidélité en %	1,6 (valeur de SFBC)	1,6	0,5	1,0	1,4	0,97
Justesse en %	1,7 (valeur de SFBC)	1,7	0,4	0,8	1,3	----
Inexactitude en %	3 (v.de PROBIOCAL)	2,3	----	----	----	0,45
Erreur totale en %	2,4 (valeur de RICOS)	4,6	1,2	2,4	3,6	3,1

LO* : Limite optimale – LS* : Limite souhaitable – LM* : Limite minimale

Ces résultats permettent de confirmer nos performances dans notre pratique quotidienne et prouvent la conformité de notre méthode d'analyse concernant le calcium sanguin. Seul notre résultat pour l'erreur totale, par rapport à la table de RICOS, correspond à la limite minimale et non pas à la limite souhaitable (ce qui peut s'expliquer par le fait que notre calcul de justesse provient d'un résultat de CQE ponctuel, et que les études de fidélité et de justesse n'ont pas été effectuées sur le même spécimen).

Cependant pour effectuer une vérification plus complète nous devons renforcer notre évaluation inter laboratoire en externalisant nos résultats de CQI (prévu pour le début d'année 2012). Un deuxième aléa se pose à nous, notre faible activité est une contrainte que nous ne pouvons pas modifier, pour le moment.

En effet le manque d'échantillons de patients « sains » (pour la comparaison des intervalles de références) ou de spécimens couvrant toute l'étendue des valeurs physio pathologiques (pour l'étude de la répétabilité ou comparaison de méthode) est difficilement compensable.

De plus la mise en place de ces vérifications pour tous les analytes est plus fastidieuse en absence de connexion directe entre l'automate et un programme de gestion des résultats. Mais le problème le plus critique est sans doute, actuellement, notre faible effectif en technique (1,8 ETP). Tous ces points faibles confirment la nécessité de restructurer et regrouper les petits LBM pour pouvoir répondre aux demandes imposées par l'accréditation.

En conclusion pour que l'accréditation soit possible et durable il faut, en plus des nombreux moyens humains et financiers qui sont primordiaux, l'engagement et la motivation de l'ensemble du personnel du LBM et de sa direction.

6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

📖₁ Ballereau M. Rapport pour un projet de réforme de la biologie médicale. Ministère de la santé, de la jeunesse, des sports et de la vie associative, [s.l.] ,23 septembre 2008.

📖₂ Ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. Journal Officiel de la République Française(JORF), [s.l.] ,15 janvier .2010 .NOR SASX0927179R.

📖₃ Arrêté du 05 août 2010 fixant les références des normes d'accréditation applicables aux laboratoires de biologie médicale. JORF, [s.l.] ,01 septembre 2010. NOR SASP1016668A.

📖₄ NF EN ISO 15189. Laboratoires de biologie médicale : exigences concernant la qualité et la compétence. AFNOR, [s.l.] août 2007.

📖₅ SH REF 02-REV.00. Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. COFRAC Section santé humaine, [s.l.] ; septembre 2010.

📖₆ Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA) arrêté du 26 novembre 1999. JORF n°287 du 11 décembre 1999, [s.l.] .Modifié par l'arrêté du 26/04/2002. NOR : SANP0221588A.

📖₇ SH REF 08-REV.00. Expression et évaluation des portées d'accréditation. COFRAC Section santé humaine, [s.l.], juin 2010.

📖₈ SH INF 50-REV.00. Portées-types d'accréditation. COFRAC Section santé humaine, [s.l.], mai 2010.

🌐₉ SITE INTERNET ROCHE DIAGNOSTICS. My roche Diagnostics.fr, aide à l'accréditation.

📀₁₀ CD-ROM Aide à l'accréditation, Version 4. ROCHE - COBAS., [s.l.], septembre 2010. Réf : 00056002957.

📖₁₁ Piton A., Marais O., Imbert-Bismut F., Vail J.J., Delattre J. Elimination des interférences chromatiques par spectrophotométrie proche infrarouge : application à un analyseur multiparamétrique de biochimie. Annales de Biologie Clinique. Volume 57, Numéro 1, 98-102, Janvier - Février 1999. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 1999.

📖¹² Calatayud O., Tenias JM., Castells X. Détermination des électrolytes dans des échantillons de sérum et de plasma, et stabilité dans des tubes ouverts pendant 2 heures à température ambiante. Annales de Biologie Clinique. Volume 64, Numéro 2, 157-61, Mars-Avril 2006. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 2006.

📖¹³ SH GTA 04-REV.00. Guide technique d'accréditation de vérification (portée A)/validation (portée B) des méthodes en biologie médicale. COFRAC Section santé humaine, [s.l.], avril 2011.

📖¹⁴ Société Française de Biologie Clinique(SFBC), Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, phase analytique. . Annales de Biologie Clinique, Volume 68, hors série n^o1, décembre 2010, John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 2010.

📖¹⁵ SH FORM 43-REV00. Fiche type-quantitatif de vérification (portée A)/validation (portée B) des méthodes en biologie médicale. COFRAC Section santé humaine, [s.l.], avril 2011.

📖¹⁶ LAB GTA 14-REV.00. Guide d'évaluation des incertitudes de mesure des analyses de biologie médicale. COFRAC Section laboratoire, [s.l.], novembre 2006.

📖¹⁷ Giroud C., Dumontet M., Vassault A., Braconnier F., Férard G. Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F). Annales de Biologie Clinique. Volume 65, Numéro 2, 185-200, Mars-Avril 2007. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 2007.

📖¹⁸ Vassault A. Maîtrise de la phase analytique : contrôle interne de qualité et incertitude de mesure ; cours DU : « assurance qualité au LBM » année 2011. [s.l.], [s.n.], janvier 2011.


📖¹⁹ LAB GTA 06-REV.00. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. COFRAC Section laboratoire, [s.l.], juillet 2005.


📖²⁰ Vassault A., Grafmeyer D., de Graeve J., Cohen R., Beaudonnet A., Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. Annales de Biologie Clinique. Volume 57, Numéro 6, 685-95, Novembre - Décembre 1999. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 1999.

📖²¹ Scherrer F., Boisson RC., Cartier R., Cohen R., Eynard JC., Poggi B. Grafmeyer D., Bénite P. Réflexion sur le choix des limites acceptables dans les programmes d'évaluation

externe de la qualité. Annales de Biologie Clinique. Volume 65, Numéro 6, 677-84, Novembre-Décembre 2007. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^é, 2007.

²² cf. TABLEAU 5 du ²⁰.

²³ cf. TABLEAU : BIOLOGICAL VARIATION DATABASE REFERENCE LIST (revue en 2010) sur site internet <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.

²⁴ SH GTA 01-REV.00. Guide technique d'accréditation en biologie médicale. COFRAC Section santé humaine, [s.l.], mai 2011.

SITES INTERNET CONSULTES PENDANT LA REDACTION DE CE MEMOIRE :

- ✓ www.sfbc.asso.fr
- ✓ www.westarg.com
- ✓ www.cofrac.fr
- ✓ www.bioqualite.org

7 LISTE DES ANNEXES

<u>ANNEXE I</u> D4 - ENR 13 Version A	41
Fiche d'enregistrement des valeurs cibles et des limites d'acceptabilités des CQI en biochimie fidélité intermédiaire -intégra 400®-	
<u>ANNEXE II</u> D4 - ENR 14 Version A	45
Fiche d'enregistrement des anomalies des CQI en biochimie -intégra 400®-	
<u>ANNEXE III</u> D4 - ENR 15 Version A	47
Fiche d'enregistrement et de suivi des CQE en biochimie -intégra 400®-	
<u>ANNEXE IV</u> D4 - PR 03 Version A	49
Procédure de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) de type quantitatif -en biochimie-	
<u>ANNEXE V</u> D4 - FOR 21 Version A	58
Formulaire d'enregistrement de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) de type quantitatif -en biochimie-	
<u>ANNEXE VI</u> D4 - ENR 16 Version A	63
Fiche d'enregistrement des tests de répétabilité en biochimie -intégra 400®- 30 tests	
<u>ANNEXE VII</u> D4 - ENR 16 Version A	65
Fiche d'enregistrement des tests de répétabilité en biochimie -intégra 400®- 5, 10, 15, 20 tests	
<u>ANNEXE VIII</u> Tableaux comparatifs	69
Analyse statistique sur l'étude de la répétabilité de l'analyte calcium	
<u>ANNEXE IX</u> D4 - ENR 17 Version A	71
Fiche d'enregistrement des tests de fidélité intermédiaire en biochimie -intégra 400®-	
<u>ANNEXE X</u> D4 - ENR 18 Version A	73
Fiche d'enregistrement de l'approche de l'inexactitude en biochimie -intégra 400®	

<u>ANNEXE XI</u> D4 - ENR 19 Version A	77
Fiche d'enregistrement de vérification des intervalles de références en biochimie -intégra 400®-	
<u>ANNEXE XII</u> D4 - ENR 20 Version A	79
Fiche d'enregistrement de l'approche de l'incertitude de mesure élargie en biochimie -intégra 400®-	
<u>ANNEXE XIII</u> D4 - ENR 21 Version A	82
Fiche d'enregistrement de vérification des performances d'une méthode d'analyse (portée A) de type quantitatif -en biochimie	

ANNEXE I

FICHE D'ENREGISTREMENT

**DES VALEURS CIBLES ET DES LIMITES D'ACCEPTABILITES DES
CQI EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®- fidélité intermédiaire**

Rédigé le 02-03-11 par A. DELAFOND technicienne

Mise en application : 07-03-11

POUR CONTROLE PNU et PPU

AVRIL 2011

Contrôles PNU PPU	ROCHE DIAGNOSTIC			C.V.% de Reproductibilité Limites d'acceptabilités -état de l'art- SFBC	LABORATOIRE CMS P. ROUQUES					
	Analytes	Valeur cible	S.D.		C.V.	n de valeurs	Moyenne mensuelle	E.T. mensuel	C.V. mensuel	ET sur 8 mois
AU	263	13	5%	3,2%	24	263	2	0,57%	4,6	
	618	31	5%	2,8%	24	625	4	0,64%	9,8	
AMYLASE	80,5	4,8	6%	6%	13 (4 mois)	81	1	0,99%	1,3	
	196	12	6%	5%	13 (4mois)	196	3	1,57%	2,6	
BILID	10,6	0,8	8%	6,8%	22 (2 mois)	10,5	0,2	1,89%	0,3	
	33,8	2,7	8%	5,6%	22 (2 mois)	31,8	0,7	2,14%	0,9	
BILI T	19,0	1,1	6%	6,8%	24	18,4	0,5	2,61%	0,5	
	61,2	3,7	6%	5,6%	24	62,2	1,2	1,93%	1,2	
CA	2,17	0,09	4%	1,6%	24	2,16	0,03	1,02%	0,03	
	3,60	0,14	4%	1,6%	24	3,61	0,04	1,05%	0,05	
CL	83,6	2,5	3%	1,6%	24	85	1	0,88%	1,1	
	117	4	3%	1,6%	24	118	1	0,71%	1,1	
CH TOTAL	2,52	0,13	5%	4,0%	24	2,47	0,05	1,91%	0,04	
	4,59	0,23	5%	4,0%	24	4,53	0,07	1,45%	0,07	

Contrôles PNU PPU	ROCHE DIAGNOSTIC			C.V.% de Reproductibilité Limites d'acceptabilités -état de l'art- SFBC	LABORATOIRE CMS P. ROUQUES					
	Analytes	Valeur cible	S.D.		C.V.	n de valeurs	Moyenne mensuelle	E.T. mensuel	C.V. mensuel	ET sur 8 mois
CPK	148	9	6%	6%	24	151	3	1,66%	4,3	
	461	28	6%	5%	24	461	9	1,99%	14,9	
CR	95,3	5,7	6%	4,5%	24	95	2	2,63%	2,5	
	342	21	6%	2,4%	24	334	4	1,33%	6,5	
FER	20,9	1,3	6%	5%	24	20,7	0,4	2,08%	0,7	
	43,9	2,6	6%	4%	24	44,6	0,5	1,02%	0,8	
GGT	44,5	2,7	6%	6%	24	44	0	1,02%	0,8	
	204	12	6%	5%	24	203	2	0,78%	3,2	
GLY	5,20	0,26	5%	2,4%	24	5,16	0,05	1,06%	0,1	
	13,6	0,7	5%	1,6%	24	13,45	0,17	1,29%	0,23	
LDH	168	10	6%	6%	21 (2 mois)	169	1	0,65%	4,5	
	300	18	6%	6%	21 (2 mois)	298	3	1,10%	9,7	
PAL	77,1	4,6	6%	6%	24	78	0,9	1,15%	2,3	
	227	14	6%	5%	24	229	1,9	0,85%	3,4	
PHOS	1,30	0,07	5%	3,3%	22 (2 mois)	1,31	0,01	0,88%	0,03	
	2,13	0,11	5%	3,3%	22 (2 mois)	2,16	0,02	0,72%	0,06	
POTASSIUM	3,59	0,11	3%	1,2%	24	3,6	0,1	1,04%	0,04	
	6,47	0,19	3%	1,6%	24	6,6	0,0	0,76%	0,05	
PROTIDES	65,4	2,6	4%	3,2%	24	65,6	0,7	1,10%	1,32	
	47,7	1,9	4%	2,4%	24	47,6	0,8	1,63%	1,11	
SODIUM	123	4	3%	1,3%	24	122	1	0,71%	1,1	
	148	4	3%	1,1%	24	148	1	0,60%	1,3	
TRANSA PT	46,2	2,8	6%	6%	24	46	1	1,34%	1,2	
	131	8	6%	5%	24	132	1	1,00%	1,3	
TRANSA OT	46,6	2,8	6%	6%	24	45	1	2,36%	1,3	
	155	9	6%	5%	24	152	3	1,93%	3*	5

Contrôles PNU PPU	ROCHE DIAGNOSTIC			C.V.% de Reproductibilité Limites d'acceptabilités -état de l'art- SFBC	LABORATOIRE CMS P. ROUQUES					
	Analytes	Valeur cible	S.D.		C.V.	n de valeurs	Moyenne mensuelle	E.T. mensuel	C.V. mensuel	ET sur 8 mois
TG	1,11	0,06	5%	4,8%	24	1,11	0,01	0,95%	0,01	
	2,04	0,10	5%	4,8%	24	2,05	0,01	0,71%	0,02	
UREE	7,09	0,35	5%	4%	24	6,74	0,12	1,72%	0,15 *	0,2
	25,9	1,3	5%	2,5%	24	23,78	0,26	1,10%	0,40*	0,6

N° de lot du PNU 153701 Version1 utilisé du 11/05/10 au 30/04/11

Fait le 02/05/11 par AD

N° de lot du PPU 154120 Version1 utilisé du 15/04/10 au 30/04/11

Valeurs recueillies du 01/04/11 au 30/04/11

* valeurs modifiées le 09/03/11 car les écarts-type recalculés étaient trop étroits.

Tous nos C.V. de reproductibilité ont des valeurs inférieures aux limites d'acceptabilités définies par le fournisseur et l'état de l'art (S.F.B.C.) ce qui nous permet de les valider.

ANNEXE II

D4 - ENR 12 Version A

FICHE D'ENREGISTREMENT DES ANOMALIES DES CQI EN BIOCHIMIE -INTEGRA 400®-



Rédigé le 07-02-11 par A. DELAFOND, technicienne

mise en application : 03-03-11

N°1 ANNEE 2011

DATE	TECHNICIEN	ANALYTE	CQI	N°LOT	ANOMALIE	ACTIONS
08/03/11	SS	OT	PPU	154 120	Entre +2 et +3 ET de la moyenne dû au chgt de valeur ET (valeurs trop étroites).	CQI validés aujourd'hui, à vérifier demain ;
	SS	UREE	PNU	153 701	Entre +2 et +3 ET de la moyenne dû au chgt de valeur ET (valeurs trop étroites).	
09/03/11	AD	OT	PPU	154 120	Entre +2 et +3 ET de la moyenne dû au chgt de valeur ET (valeurs trop étroites).	Elargir les valeurs d' ET trop étroites pour ces deux analytes (voir annexe I)
	AD	UREE	PNU PPU	153 701 154 120	Entre +2 et +3 ET de la moyenne dû au chgt de valeur ET (valeurs trop étroites).	Nouvelles valeurs <u>OT</u> PPU : 5 <u>UREE</u> PNU : 0,02 PPU : 0,06
06/04/11	AD	PAL	PNU PPU	153 701 154 120	+3 ET de la moyenne pour les deux contrôles	Calibration faite le jour même ; refaire la calibration avec nouveau réactif puis repasser les 2 CQI Résultats de CQI OK →validation de la série.

ANNEXE III

D4 - ENR 15 Version A

FICHE D'ENREGISTREMENT ET DE SUIVI DU CQE

EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400® -

Rédigé le 25-01-11 par A.DELAFOND technicienne

mise en application : 25/01/11

Programme ponctuel ASQUALAB biochimie

AVRIL

	Remarques	Date	Signature
Réception des échantillons	Expédier le : 19/01/11 Reçu le : 21/01/11 Anomalies : NON	21/01 /11	AD
Identification et enregistrement	BIO1 107 et BIO1 108	21 /01/11	AD
Liste des analyses à pratiquer	AU , ALBS , BILIT , CA , CH , HDL , CR , GGT , GLU , PAL , PROTEINES TOTALES , K , NA , TGO , TGP , TRF , TG , UR <u>PAS TECHNIQUE</u> : LACTATE,LIPASE,MAGNESIUM	07/04/11	AD
Reconstitution et exécution	Reconstitution avec 3 ml d'eau distillée, attendre 30 min homogénéiser et techniquer. Après passage, aliquoter par 500µl et congeler à – 18°C pendant 5 ans.	07/04/11	SS
Validation et transmission des résultats	Date limite d'expédition des résultats : avant le 15/04/11. La transmission est faite par internet sauf en cas de problème informatique.	07/04/11	SS + AD
Réception et diffusion du compte-rendu	Réception des résultats par email, enregistrement informatique des données dans le dossier ASQUALAB, impression et affichage du tableau récapitulatif.	11/05/11	AD
Analyse des résultats	Appréciation « BON » pour tous les paramètres sauf les PROTEINES TOTALES.	11/05/11	AD
Anomalies constatées	Protéines totales= ER = erreur de reproductibilité sur un niveau.	11/05/11	AD
Recherche des causes	Le rapport de la valeur du LBM sur la valeur cible permet de conclure à une erreur systématique proportionnelle.	13/05/11	AD
Actions correctives et suivi	S'il n'y a pas d'erreur au niveau des valeurs de l'étalon, il faut recalibrer la technique et repasser le spécimen congelé des CQE BIO1 107. OK le résultat rentre dans la fourchette (49,5).	13/05/11	AD
Validation par la biologiste	Vu et approuvé.	17/05/11	BM

Le compte rendu et cette fiche sont conservés pour une période de 5 ans

ANNEXE IV

**PROCEDURE DE VERIFICATION DES PERFORMANCES
D'UNE METHODE D'ANALYSE (PORTEE A) DE TYPE
QUANTITATIF DE BIOLOGIE MEDICALE
-EN BIOCHIMIE-**

Sommaire :

1. Objet et domaine d'application

Cette procédure décrit les modalités de vérification des performances d'une méthode d'analyse quantitative donnée ; utilisée dans un système normalisé (marquage C.E.) et non modifiée (portée flexible standard A). La constitution d'un dossier technique de vérification d'une méthode est indispensable à l'accréditation selon la norme ISO 15189. Cette évaluation est faite sur site et elle concerne le secteur de la biochimie. L'automate testé est l'intégra 400 de la société ROCHE DIAGNOSTICS ; il a été mis en service en décembre 2010.

La vérification doit être effectuée initialement, à l'installation de l'automate au LBM et avant son utilisation en routine. Si l'automate est déjà en fonction, on effectue une confirmation des performances qui permet de vérifier le fonctionnement correct de l'appareil, dans un cadre normal et quotidien. Dans ce cas il s'agit d'une **vérification rétrospective**.

2. Documents de références et associés

-DOCUMENTS DE REFERENCES : Norme ISO 15189, RES SH 02, SH GTA 04, SH FORM 43, GTA 14 et ANNALES DE BIOLOGIE CLINIQUE HORS SERIE N° du S.F.B.C.

- DOCUMENTS ASSOCIES

- B4 - PR04 A « Procédure de gestion de la portée standard flexible A ».
- D4 - PR05 A « Procédure de vérification après intervention du fournisseur ».
- D4 - PR01 A « Procédure de la gestion des contrôles de qualité et des étalons en biochimie »

Version A	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
<i>Objet de la modification</i> : Création du document	<i>Fonction, date et visa</i> : Mme DELAFOND Andréa	<i>Fonction, date et visa</i> : Docteur BENAILY Nathalie	<i>Fonction, date et visa</i> : Docteur MECHAIN Bénédicte
<i>Date de diffusion</i> : 28-03-11	Technicienne référente Biochimie et assurance qualité	Biologiste, Responsable Assurance Qualité RAQ	Biologiste, Responsable du laboratoire
<i>Date de mise en application</i> : 11-04-11	Le 23 mars 2011	Le 24 mars 2011	Le 25 mars 2011
<i>Nombre de pages</i> : 8			

- G3 - PR01 A « procédure d'habilitation des techniciens pour la validation de méthode ».
- D4 - MO01 B « utilisation de la centrifugeuse ».
- D4 - MO02 A « utilisation et maintenance de l'osmoseur ».
- D4 - INS01 A « préparation des échantillons ».
- D4 - INS05 A « préparation des C.Q.I. en biochimie ».
- D4 - ENR15 A « fiche d'enregistrement et de suivi du C.Q.E. ».
- D4 - INS07 A « fiche d'instruction des vérifications de performance ».

3. Responsabilités

La responsabilité du choix de la méthode de biologie médicale utilisée incombe au biologiste. Il doit évaluer les informations fournies par la société avec laquelle il veut travailler, et les comparer aux recommandations réglementaires, aux attentes des prescripteurs et aux critères de performances proposés par les sociétés savantes. Le biologiste doit définir les critères de performances pertinents à établir pour la méthode ainsi que le choix des limites d'acceptabilités auxquelles les comparer.

La réalisation des vérifications expérimentales est effectuée par le technicien référent en assurance qualité, et selon le protocole préétabli.

Le responsable assurance qualité (RAQ) et le biologiste référent du secteur technique à accréditer sont responsables de la validation des méthodes et de la constitution du dossier technique.

Les techniciens sont responsables des commandes (gestion, réception et stockage), de la préparation des CQ, de leur dosage et de leur interprétation immédiate. Ils doivent mettre en place les actions curatives et correctives si nécessaire et transmettre les résultats obtenus, puis les mettre à jour et les archiver. Ils sont aussi responsables du recyclage des limites d'acceptabilités.

4. Déroulement de l'activité

4.1 Principes

La vérification de performances d'une méthode de biologie médicale consiste à démontrer que l'utilisation de cette technique au sein du L.B.M. permet d'obtenir des résultats sûrs et fiables pour les patients. Dans un premier temps il faut effectuer une recherche bibliographique sur cette méthode, ce qui va permettre d'identifier les différents paramètres à étudier pour vérifier son bon fonctionnement. Les paramètres retenus doivent être pertinents par rapport à la méthode utilisée et doivent refléter l'état de l'art. En second lieu il faut mettre en œuvre un protocole expérimental pour étudier les critères à vérifier. Enfin il faut comparer les résultats obtenus, aux limites d'acceptabilités et conclure à la conformité ou la non-conformité de la méthode.

De plus chaque résultat de mesure est affecté d'une erreur qu'il convient d'identifier en recherchant ses composantes. C'est l'approche de l'estimation de l'incertitude de mesure.

4.2 Critères de performance à vérifier

Les paramètres à vérifier pour ce protocole sont :

- LA FIDELITE avec la REPETABILITE et la FIDELITE INTERMEDIAIRE
 - LA JUSTESSE approche de la justesse avec le programme du CIL ou calcul de L'INEXACTITUDE
 - L'INTERVALLE DE REFERENCE
 - LA COMPARAISON AVEC UNE AUTRE METHODE
- Auxquels nous rajoutons L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE

4.3 Choix des limites d'acceptabilité

Nous décidons de comparer nos résultats aux recommandations du fournisseur (ROCHE DIAGNOSTICS) et du SFBC pour l'état de l'art. Quand nous aurons intégré un programme de CQI externalisé, les valeurs obtenues seront également comparées aux tables de RICOS pour intégrer une approche liée aux variations biologiques.

4.4 Vérification expérimentale

Cette étude permet de vérifier le bon fonctionnement du système analytique dans des conditions d'utilisation usuelles.

➤ LA FIDELITE AVEC LA REPETABILITE ET LA FIDELITE INTERMEDIAIRE

La fidélité permet d'évaluer la dispersion des résultats, elle détecte les erreurs aléatoires.

1. LA REPETABILITE

Le protocole consiste à effectuer 20 analyses (après étude comparative) d'un même échantillon (au minimum 10 en fonction du contexte) dans des conditions d'utilisation identiques et sur une période de temps très courte. Cette évaluation est pratiquée, de préférence, sur 2 niveaux de concentration différents. Les échantillons testés sont des plasmas hépariné (ou de sang total pour HBA1C) de patient.

Après le recueil et l'enregistrement des données, il y a une exploitation des résultats qui permet de déterminer la moyenne **m**, l'écart-type **s** et le coefficient de variation **cv** pour les différentes concentrations. Le **cv** est ensuite comparé aux limites d'acceptabilités, du fournisseur et de l'état de l'art.

pour n < 30 essais

$$m = \frac{\sum xi}{n} \quad s = \sqrt{\frac{\sum (xi - m)^2}{n - 1}} \quad cv = \frac{s}{m} \times 100$$

Voir fiche d'enregistrement D4 ENR16 Version A.

2. LA FIDELITE INTERMEDIAIRE

Le protocole consiste à effectuer 30 analyses d'un même échantillon (sur au moins 15 séries différentes) par la même méthode, dans le même laboratoire mais avec des conditions opératoires différentes et pendant un laps de temps plus long. Pour ce faire nous utilisons les 2 niveaux de C.Q.I. techniqués tous les matins à la mise en route de l'automate (ces CQI doivent avoir le même lot sur une longue période). Les données sont recueillies, exploitées et enregistrées de la même façon que pour l'étude de la répétabilité. Le cv obtenu est comparé à l'état de l'art.

Voir fiche d'enregistrement D4 ENR17 Version A

➤ LA JUSTESSE

La justesse met en évidence le biais d'une méthode ou une différence systématique entre 2 méthodes. Elle donne des informations sur les erreurs systématiques.

Pour mettre en application cette étude, qui reflète l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue au laboratoire et une valeur considérée comme « vraie », il faut.

- soit disposer d'un échantillon de référence certifié.
- soit adhérer à un programme de comparaison inter-laboratoire C.I.L. (utilisation du CQI inter labo ou CQE).

1. CQI EXTERNALISE

Beaucoup de fournisseurs proposent des programmes de comparaison basés sur l'étude des CQI inter laboratoire, ce qui n'entraîne aucun frais, ni charge de travail supplémentaire. De plus les 2 échantillons ont des niveaux de concentration correspondant à des zones de décision médicales.

On recueille, exploite et enregistre les données. La justesse est estimée en comparant la moyenne obtenue **m** lors de l'étude, à la valeur cible assimilée à la valeur « vraie » **v** de l'échantillon testé. La justesse est quantifiée en biais.

$$\text{BIAIS en unité} = m - v$$

$$\text{BIAIS en \%} = \frac{m - v}{v} \times 100$$

2. L'INEXACTITUDE

Pour les L.B.M. n'ayant pu intégrer un programme d'externalisation de CQI, le COFRAC conseille d'établir l'inexactitude de leurs méthodes en comparant les valeurs obtenues sur les échantillons d'EEQ (évaluation externe de qualité) aux valeurs cibles. L'inexactitude permet de faire une approche de l'écart par rapport à la valeur cible. Pour toutes les techniques standardisées en biochimie la valeur « vraie » retenue est la moyenne cumulée de tous les participants.

Après le recueil et l'enregistrement des valeurs, on les exploite. L'inexactitude est calculée en comparant la valeur obtenue x lors de l'étude, à la valeur « vraie » v de l'échantillon testé. Elle est quantifiée en biais.

$$\text{INEXACTITUDE en \%} = \frac{x-v}{v} \times 100$$

Voir fiche d'enregistrement D4 ENR18 Version A

➤ **L'INTERVALLE DE REFERENCES**

Nous utilisons le protocole de l'IFCC-LM pour comparer nos intervalles de références.

Après une présélection, au moment du prélèvement, il faut recueillir les résultats de « patient sain » pour l'analyte étudié. Le groupe des valeurs obtenues doit être homogène (élimination des valeurs aberrantes), il doit refléter l'ensemble de la population pour lesquelles les valeurs sont utilisées. De plus les conditions pré et analytiques de l'étude doivent être similaires au fonctionnement habituel du L.B.M.

On utilise les valeurs de 20 échantillons qui sont comparées aux intervalles de références :

*si le nombre de résultats en dehors des limites est inférieur ou égal à 2 les limites de références sont validées.

*si le nombre est supérieur à 3, refaire une nouvelle sélection de 20 échantillons

Dans le cas où 4 résultats sont en dehors des limites il est conseillé de suivre le protocole d'origine.

Voir fiche d'enregistrement D4 ENR19 Version A

➤ LA COMPARAISON AVEC UNE AUTRE METHODE

Il faut techniquer au minimum 40 échantillons de patients (recommandations du COFRAC), répartis et couvrant de façon homogène l'étendue du domaine physiopathologique, en n'oubliant pas d'analyser des spécimens particuliers (présence de trouble, d'hémolyse ou ictère). Ces sérums doivent être « frais », il faut les analyser par les deux méthodes dans les délais les plus courts possible et selon le protocole défini par le fournisseur. Tous les résultats sont examinés au fur et à mesure et lorsque les discordances sont jugées supérieures aux limites d'acceptabilité préétablies (en général 3 écart-type ou se référer aux tables du SFBC), on repasse les échantillons pour infirmer ou confirmer les résultats.

Pour estimer la différence entre deux méthodes :

- **Calculer les différences observées** entre les résultats de la technique A (de référence) x_i et ceux de la technique B (à tester) y_i .
- **Calculer les rapports y_i/x_i** pour chaque résultat.
- **Représenter sur un graphe** les différences et/ou les rapports en fonction des valeurs de x . Les limites d'acceptabilités doivent apparaître sur le graphe.
- **Identifier et noter** le nombre de spécimens discordants après leur vérification. On recherche l'origine de cette discordance.
- **Analyser visuellement le graphe** pour :
 - vérifier l'homogénéité de la répartition des spécimens en fonction de la concentration
 - reconnaître l'existence d'une erreur systématique et l'identifier (erreur constante ou proportionnelle).
 - étudier le comportement des spécimens en fonction de leur caractéristique.
- **Calculer la droite de régression** qui est la mieux adaptée pour définir la relation statistique liant les résultats de la technique A avec ceux de la technique B. Il existe plusieurs types de droite de régression. La droite des moindres rectangles permet une exploitation facile et efficace, mais il faudra utiliser des spécimens ayant des niveaux de concentration couvrant de façon homogène l'étendue du domaine d'analyse.

$$y = bx + a$$

$$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x}$$

$$b = \frac{s_y}{s_x}$$

\bar{y} = moyenne résultats méthode testée

\bar{x} = moyenne résultats méthode référence

s_y = écart-type méthode testée

s_x = écart-type méthode référence

b = pente

L'interprétation des graphes permet de détecter une éventuelle différence entre les deux techniques. Si cette différence est significative il faut en **définir la nature, la quantifier et y remédier**.

➤ L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE

Tout résultat de mesure est « faussé » par une erreur analytique totale, qui est l'addition des erreurs aléatoires (mis en évidence par l'étude de la fidélité intermédiaire) et des erreurs systématiques (détecté par l'approche de la justesse).

L'incertitude de mesure permet de définir l'intervalle dans lequel se situe, avec une probabilité donnée (95% pour une distribution normale), la « valeur supposée vraie » du résultat que l'on rend.

Les composantes de l'incertitude de mesure sont :

1. LA COMPOSANTE D'INCERTITUDE DUE A LA FIDELITE

Qui est l'écart-type de la fidélité intermédiaire :

$$U1 = S \text{ repro}$$

2. LA COMPOSANTE D'INCERTITUDE DUE A LA JUSTESSE

Qui peut être donné par la relation suivante (loi rectangle) ; en absence de matériaux de référence, le laboratoire peut utiliser les données de CQE pour estimer l'incertitude de justesse :

$$U2 = \frac{\text{biais}}{\sqrt{3}}$$

3. LA COMPOSANTE D'INCERTITUDE DUE A L'ETALONNAGE

Qui est donnée par le fournisseur

$$U_{et}$$

La somme quadratique de ces composantes permet une estimation de l'incertitude combinée.

$$U_c = \sqrt{U1^2 + U2^2 + U_{et}^2}$$

L'incertitude élargie U est conventionnellement calculée : $U = 2 \times U_c$

Le résultat de la mesure analytique R s'exprimera :

$$R = \text{valeur mesurée} \pm U \text{ en unité}$$

Voir fiche d'enregistrement D4 ENR20 Version A

4.5 Analyse et comparaison des résultats obtenus

Actuellement nous utilisons un tableur EXCEL de MICROSOFT pour effectuer tous les analyses statistiques nécessaire à l'étude des différents critères à vérifier.

Après l'obtention de ces résultats nous les comparons aux résultats attendus par le fournisseur, par l'état de l'art (du SFBC) et plus tard, quand nous aurons intégré un CQI externalisé, par rapport aux variations biologiques (RICOS et al).

4.6 Enregistrement des résultats

Les résultats sont recueillis et enregistrés dans les différents formulaires prévus à cet effet.

- D4-ENR16-A ENREGISTREMENT DES TESTS DE REPETABILITE
- D4-ENR17-A ENREGISTREMENT DES TESTS DE FIDELITE INTERMEDIAIRE
- D4-ENR18-A ENREGISTREMENT DE L'APPROCHE DE L'INEXACTITUDE
- D4-ENR19-A ENREGISTREMENT DES INTERVALLES DE REFERENCES
- D4-ENR20-A ENREGISTREMENT DE L'APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE
- D4-ENR21-A ENREGISTREMENT DE LA VERIFICATION DES PERFORMANCES D'UNE METHODE D'ANALYSE (PORTEE A) DE TYPE QUANTITATIF EN BIOCHIMIE

5. Classement et archivage

Les fiches d'enregistrements des procédures de vérification de performances de méthode sont conservées durant toute la durée d'utilisation de la méthode plus 2 ans.

6. Evaluation

Il faut mettre en place au moins un indicateur. Pour cette procédure il faut effectuer l'étude de 10 analytes par mois avec un pourcentage d'exigence de réussite de 75%.

ANNEXE V

D4-FOR 21 Version A



FORMULAIRE D'ENREGISTREMENT DE VERIFICATION DES PERFORMANCES D'UNE METHODE D'ANALYSE (PORTEE A) DE TYPE QUANTITATIF - EN BIOCHIMIE -

Révisée par DELAFOND A. Technicienne

le 27/04/11

DOMAINE DE BIOLOGIE MEDICALE

SOUS DOMAINE : BIOCHIMIE

EXAMEN :

FAMILLE : biochimie générale et spécialisée

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte	
Principe de la mesure	
Méthode de la mesure	
Type d'échantillon primaire	
Type de récipient, additifs	
Prétraitement de l'échantillon	
Unités	
Intervalles de référence	
Marquage CE	
Code C.N.Q.	
Analyseur	
Référence du réactif	
Référence de l'étalon	
Raccordement métrologique	
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs	

MISE EN ŒUVRE	
Technicien habilité ayant effectué la vérification de méthode	
Procédure de validation	
Procédure de gestion de la portée flexible	
Période d'évaluation	
Date de validation	
Méthode validé par	

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maitriser	Modalités de maitrise
Type d'échantillon primaire		
Prétraitement de l'échantillon		
Main d'œuvre (habilitation)		
Conditions ambiantes requises		
Matériau de référence		
Equipements		

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

REPETABILITE

SERUM

Echantillons	Nombre N	Moyenne M -mmol/l	Ecart-type E.T.	C.V.%	C.V.% fournisseur	C.V.% limite Etat de l'art S.F.B.C.	Conclusion
Sérum niveau 1							
Sérum niveau 2							
Sérum niveau 3							

CONCLUSIONS :

FIDELITE INTERMEDIAIRE

CQI

Echantillons	Nombre N	Moyenne M mmol/l	Ecart-type E.T.	C.V.%	C.V.% fournisseur	C.V.% limite Etat de l'art S.F.B.C	Conclusion
C.Q.I. niveau 1							
C.Q.I. niveau 2							

CONCLUSIONS :

JUSTESSE (APPROCHE DE LA)

CQI EXTERNALISES

Echantillons	Nombre N	Valeurs Labo mmol/l	Cible mmol/l (groupe de pairs)	Moyenne général mmol/l (toutes techniques)	Biais % /groupe de pairs	Biais% /moyenne général	Biais% limite SFBC	Conclusion
C.Q.I. niveau 1								
C.Q.I. niveau 2								

CONCLUSIONS :

EXACTITUDECQE PONCTUELS

Echantillons	Nombre N	Valeurs Labo mmol/l	Cible mmol/l (groupe de pairs)	Moyenne général mmol/l (toutes techniques)	Biais % /groupe de pairs	Biais% /moyenne général	Biais% limite SFBC/ RICOS	Conclusion
C.Q.I. niveau 1								
C.Q.I. niveau 2								

CONCLUSIONS :

INCERTITUDES

Mode de calcul	
Quantification de l'incertitude NIVEAU 1	
Quantification de l'incertitude NIVEAU 2	

CONCLUSIONS :

COMPARAISON DE METHODES

Données bibliographiques	
Méthode précédente Ou autre méthode utilisée dans le laboratoire Ou appareil en miroir Ou EBMD	
Nombre de mesures	
Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire	
Méthode d'exploitation des résultats	
Equation de la droite de régression	
Diagramme des différences et/ou des rapports	
Conclusions et dispositions	

CONCLUSIONS :

ANNEXE VI

**FICHE D'ENREGISTREMENT DES TESTS DE
REPETABILITE EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®-**

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le12/04/11

Analyte étudié : LE CALCIUM analyses effectuées le 12/04/2011 à partir d'échantillons de sérum

Passage de l'échantillon 1	Résultat en mmol/L
1	2,31
2	2,33
3	2,28
4	2,3
5	2,29
6	2,3
7	2,27
8	2,29
9	2,28
10	2,3
11	2,27
12	2,29
13	2,28
14	2,27
15	2,3
16	2,3
17	2,29
18	2,28
19	2,29
20	2,29
21	2,29
22	2,27
23	2,29
24	2,29
25	2,28
26	2,28
27	2,29
28	2,28
29	2,29
30	2,29
MOYENNE	2,289
ECART TYPE	0,013
C.V.	0,56%
C.V. fournisseur : 1,2%	
C.V. SFBC : 1,2%	

Passage de l'échantillon 2	Résultat en mmol/L
1	2,91
2	2,92
3	2,93
4	2,87
5	2,9
6	2,91
7	2,86
8	2,91
9	2,89
10	2,9
11	2,88
12	2,9
13	2,9
14	2,89
15	2,89
16	2,88
17	2,89
18	2,89
19	2,86
20	2,89
21	2,89
22	2,89
23	2,90
24	2,89
25	2,86
26	2,89
27	2,88
28	2,92
29	2,88
30	2,89
MOYENNE	2,892
ECART TYPE	0,017
C.V.	0,59%
C.V. fournisseur : 1,2%	
C.V. SFBC : 1,2%	

Conclusion : Conforme aux limites d'acceptabilité de l'état de l'art.

ANNEXE VII

D4 – ENR 16 Version A



FICHE D'ENREGISTREMENT DES TESTS DE REPETABILITE EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®-

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le12/04/11

Analyte étudié : LE CALCIUM analyses effectuées le 12/04/2011 à partir d'échantillons de sérum

5 échantillons

Passage de l'échantillon 1	Résultat en mmol/L
1	2,31
2	2,33
3	2,28
4	2,3
5	2,29
MOYENNE	2,302
ECART TYPE	0,019
C.V.	0,84%
C.V. SFBC	1,2%

Passage de l'échantillon 2	Résultat en mmol/L
1	2,91
2	2,92
3	2,93
4	2,87
5	2,9
MOYENNE	2,906
ECART TYPE	0,023
C.V.	0,79%
C.V. SFBC	1,2%

10 échantillons

Passage de l'échantillon 1	Résultat en mmol/L
1	2,31
2	2,33
3	2,28
4	2,3
5	2,29
6	2,3
7	2,27
8	2,29
9	2,28
10	2,3
MOYENNE	2,295
ECART TYPE	0,017
C.V.	0,75%
C.V. SFBC	1,2%

Passage de l'échantillon 2	Résultat en mmol/L
1	2,91
2	2,92
3	2,93
4	2,87
5	2,9
6	2,91
7	2,86
8	2,91
9	2,89
10	2,9
MOYENNE	2,900
ECART TYPE	0,022
C.V.	0,74%
C.V. SFBC	1,2%

**FICHE D'ENREGISTREMENT DES TESTS DE
REPETABILITE EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®-**

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le12/04/11

Analyte étudié : LE CALCIUM analyses effectuées le 12/04/2011 à partir d'échantillons de sérum

15 échantillons

Passage de l'échantillon 1	Résultat en mmol/L
1	2,31
2	2,33
3	2,28
4	2,3
5	2,29
6	2,3
7	2,27
8	2,29
9	2,28
10	2,3
11	2,27
12	2,29
13	2,28
14	2,27
15	2,3
MOYENNE	2,291
ECART TYPE	0,017
C.V.	0,73%
C.V. SFBC	1,2%

Passage de l'échantillon 2	Résultat en mmol/L
1	2,91
2	2,92
3	2,93
4	2,87
5	2,9
6	2,91
7	2,86
8	2,91
9	2,89
10	2,9
11	2,88
12	2,9
13	2,9
14	2,89
15	2,89
MOYENNE	2,897
ECART TYPE	0,018
C.V.	0,63%
C.V. SFBC	1,2%

**FICHE D'ENREGISTREMENT DES TESTS DE
REPETABILITE EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®-**

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le12/04/11

Analyte étudié : LE CALCIUM analyses effectuées le 12/04/2011 à partir d'échantillons de sérum

20 échantillons

Passage de l'échantillon 1	Résultat en mmol/L
1	2,31
2	2,33
3	2,28
4	2,3
5	2,29
6	2,3
7	2,27
8	2,29
9	2,28
10	2,3
11	2,27
12	2,29
13	2,28
14	2,27
15	2,3
16	2,3
17	2,29
18	2,28
19	2,29
20	2,29
MOYENNE	2,291
ECART TYPE	0,015
C.V.	0,64%
C.V. SFBC	1,2%

Passage de l'échantillon 2	Résultat en mmol/L
1	2,91
2	2,92
3	2,93
4	2,87
5	2,9
6	2,91
7	2,86
8	2,91
9	2,89
10	2,9
11	2,88
12	2,9
13	2,9
14	2,89
15	2,89
16	2,88
17	2,89
18	2,89
19	2,86
20	2,89
MOYENNE	2,894
ECART TYPE	0,018
C.V.	0,63%
C.V. SFBC	1,2%

ANNEXE VIII

ANALYSE STATISTIQUE SUR L'ETUDE DE LA REPETABILITE
DE L'ANALYTE CALCUIM
 SUR L'AUTOMATE DE BIOCHIMIE
 INTEGRA 400 DE LA SOCIETE ROCHE DIAGNOSTICS

Nombre de répétât de l'échantillon 1	Moyenne en mmol/l	Ecart-type	CV de répétabilité en %
5	2,302	0,019	0,84
10	2,295	0,017	0,75
15	2,291	0,017	0,73
20	2,291	0,015	0,64
30	2,289	0,013	0,56

Nombre de répétât de l'échantillon 2	Moyenne en mmol/l	Ecart-type	CV de répétabilité en %
5	2,906	0,023	0,79
10	2,900	0,022	0,74
15	2,897	0,018	0,63
20	2,894	0,018	0,63
30	2,892	0,017	0,59

Cette étude prouve que le CV de répétabilité diminue avec l'augmentation du nombre d'essai.

ANNEXE IX

**FICHE D'ENREGISTREMENT DES TESTS DE FIDELITE
INTERMEDIAIRE EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®-**

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le 03/05/11

LE CALCIUM analyse effectuée du 24/03/2011 au 01/05/11

Passage du CQ 1	Résultat en mmol/L
1	2,15
2	2,16
3	2,16
4	2,15
5	2,17
6	2,14
7	2,13
8	2,19
9	2,18
10	2,17
11	2,15
12	2,18
13	2,16
14	2,19
15	2,19
16	2,16
17	2,18
18	2,15
19	2,15
20	2,19
21	2,16
22	2,15
23	2,12
24	2,15
25	2,17
26	2,11
27	2,17
28	2,19
29	2,13
30	2,16
MOYENNE	2,160
ECART TYPE	0,021
C.V.	0,97%
C.V. fournisseur : 1,6% C.V. SFBC : 1,6%	

Passage du CQ2	Résultat en mmol/L
1	3,57
2	3,61
3	3,59
4	3,55
5	3,59
6	3,57
7	3,67
8	3,61
9	3,61
10	3,54
11	3,64
12	3,63
13	3,65
14	3,62
15	3,60
16	3,61
17	3,59
18	3,58
19	3,63
20	3,56
21	3,64
22	3,57
23	3,60
24	3,60
25	3,56
26	3,55
27	3,68
28	3,69
29	3,61
30	3,63
MOYENNE	3,607
ECART TYPE	0,038
C.V.	1,05%
C.V. fournisseur : 1,6% C.V. SFBC : 1,6%	

Conclusion : Conforme aux limites d'acceptabilité de l'état de l'art.

ANNEXE X

**FICHE D'ENREGISTREMENT DE L'APPROCHE DE
L'INEXACTITUDE EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400®-**

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le 13/05/11

CALCUL DE L'INEXACTITUDE EN UTILISANT EVALUATION EXTERNE DE QUALITE

		ECHANTILLON		
		CQE n°1 du 09/03	CQE n°1 du 07/04	CQE n°2 du 07/04
Nombre de valeur		1	1	1
VALEUR en mmol /l	LABO	2,86	2,20	1,66
	CIBLE groupe de pair	2,90	2,20	1,66
	MOYENNE GENERALE	2,86	2,21	1,68
BIAIS en %	GROUPE DE PAIRS	-1,4	0	0
	MOYENNE GENERALE	0	-0,45	-1,19
	ETAT DE L'ART -SFBC-	2,3	2,3	2,3
BIAIS relatif	GROUPE DE PAIRS	-0,4	0	0
	MOYENNE GENERALE	0	-0,01	-0,02
CONCLUSION		CONFORME	CONFORME	CONFORME



Assurance qualité des laboratoires de biologie médicale

Bâtiment Leriche - 96, Rue Didot - 75014 PARIS
Tél : +33 1 45 40 35 75 Fax : +33 1 45 40 36 55 E-mail : asqualab@wanadoo.fr

Contrôle Ponctuel Biochimie Mars 2011



Dr. Bénédicte MECHIN

1605A

Laboratoire Pierre Rouquès

Centre Municipal de Santé

94400 VITRY SUR SEINE

Analyse	Tech.	App.	Unité	Sérum BIO1105						Sérum BIO1106						Appré- ciation	
				U SI [U Conv]	NPTT NPPT	Valeurs extrêmes Observées	Moyenne Gen. U SI	CV %	R/m %	U SI [U Conv]	NPTT NPPT	Valeurs extrêmes Observées	Moyenne Gen. U SI	CV %	R/m %		
AB	NG	DQH	F	μmol/l	92	118	83 - 143	96	6,7	95,8	466	118	434 - 571	468	3,2	99,6	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						28 NG	91	2,6	101,1			28 NG	455	2,5	102,4	BON	
ACIDE URIQUE																	
AD	WA	DQH	Z	U/l 37 °C	57	90	-				436	90	-				
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						21 WA	59	2,8	96,6			21 WA	449	2,1	97,1	BON	
AMYLASE																	
BB	EZ	DQH	F	μmol/l	40,4	113	35,9 - 65,0	43,4	7,2	93,1	42,3	113	39,8 - 72,5	46,7	8,2	90,6	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						11 EZ	41,4	3,0	97,6			11 EZ	44,6	4,2	94,8	BON	
BILIRUBINE totale																	
BD	AC	DQH	F	μmol/l	17,4	93	8,6 - 32,3				23,7	93	17,0 - 51,3	26,4	17,5		
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						10 AC	15,9	9,8	109,4			10 AC	24,8	3,5	95,6	BON	
BILIRUBINE conjuguée (directe)																	
CA	EZ	DQH	E	mmol/l	1,68	116	1,60 - 2,03	1,77	2,8	94,9	2,86	117	2,68 - 3,18	2,86	2,5	100,0	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						28 EZ	1,75	2,0	96,0			28 EZ	2,90	1,9	98,6	BON	
CALCIUM																	
CC	E4	DQH	E	mmol/l	1,92	123	1,50 - 2,38	1,99	4,5	96,5	6,20	123	5,68 - 7,16	6,33	2,8	97,9	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						27 E4	2,04	3,2	94,1			27 E4	6,36	1,9	97,5	BON	
CHOLESTEROL																	
HC	VZ	DQH	E	mmol/l	0,64	119	0,48 - 0,75	0,63	7,8	101,6	1,92	119	1,55 - 2,72	1,99	6,5	96,5	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						4 DQH	0,64	2,2	100,0			4 DQH	2,03	6,9	94,6	BON	
CHOLESTEROL HDL																	
LC	CX	DQH	E	mmol/l	1,03	53	0,30 - 2,20	1,09	12,1		3,29	53	1,10 - 3,66	3,24	8,1	101,5	
Cobas Integra 400/400 +/calcul (Friedwald)						31 C_	1,11	8,0	92,8			31 C_	3,34	5,3	98,5	BON	
CHOLESTEROL LDL																	
CF	RD	DQH	F	μmol/l	205	132	178 - 294	233	5,2	88,0	339	131	281 - 488	378	6,0	89,7	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						19 RD	222	2,9	92,3			19 RD	357	2,5	95,0	BON	
CREATININE																	
GG	FZ	DQH	Z	U/l 37 °C	352	130	-				95	130	-				
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						10 FZ	351	1,7	100,3			10 FZ	95	0,9	100,0	BON	
GAMMA-GT																	
GE	2B	DQH	E	mmol/l	1,3	132	1,2 - 1,8	1,4	4,4	92,9	13,4	132	12,5 - 15,7	13,9	2,4	96,4	BON
Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics						24 2B	1,4	2,7	92,9			24 2B	13,8	2,0	97,1	BON	
GLUCOSE																	

NPTT = Nombre de Participants Toutes Techniques
NPPT = Nombre de Participants Pour la Technique
[U Conv] = Laboratoires ayant exprimé leurs résultats en unité conventionnelle

R/m = Votre résultat/Moyenne générale
ESE = erreur systématique d'exactitude
U SI = unités du système international

Le responsable scientifique : C. PALETTE
ER = erreur de reproductibilité
24/03/2011

1/2



Assurance qualité des laboratoires de biologie médicale

Bâtiment Leriche - 96, Rue Didot - 75014 PARIS
 Tél : +33 1 45 40 35 75 Fax : +33 1 45 40 36 55 E-mail : asqualab@wanadoo.fr
Contrôle Ponctuel Biochimie Avril 2011



Dr. Bénédicte MECHIN
 Laboratoire Pierre Rouqués
 Centre Municipal de Santé
 94400 VITRY SUR SEINE

1605A

		Sérum BIO1107						Sérum BIO1108						
Analyse	Tech. App. Unité	Votre résultat (R)		Valeurs extrêmes Observées	Moyenne Gen. U SI	CV %	R/m %	Votre résultat (R)		Valeurs extrêmes Observées	Moyenne Gen. U SI	CV %	R/m %	Appréciation
		U SI [U Conv]	NPTT NPPT					U SI [U Conv]	NPTT NPPT					
AB	NG DQH F µmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	180	114	148 - 256	183	5,9	98,4	418	114	357 - 467	412	3,6	101,5	BON
ACIDE URIQUE			29 NG		176	2,1	102,3		29 NG		406	2,2	103,0	BON
AC	HZ DQH A g/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	47,0	101	33,0 - 56,0	50,5	6,2	93,1	28,9	101	23,0 - 40,0	31,7	8,7	91,2	BON
ALBUMINE			13 HZ		46,4	5,0	101,3		13 HZ		28,7	2,3	100,7	BON
BB	EZ DQH F µmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	16,0	108	14,2 - 39,0	19,6	15,9		150,0	108	138,5 - 189,8	155,8	4,9	96,3	
BILIRUBINE totale			10 EZ		16,7	3,9	95,8		10 EZ		155,5	2,8	96,5	BON
CA	EZ DQH E mmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	2,20	115	2,03 - 2,48	2,21	2,8	99,5	1,66	115	1,55 - 1,93	1,68	3,0	98,8	BON
CALCIUM			29 EZ		2,20	1,9	100,0		29 EZ		1,66	2,3	100,0	BON
CC	E4 DQH E mmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	5,87	121	4,98 - 6,63	5,83	2,2	100,7	4,10	121	3,52 - 5,60	4,09	4,9	100,2	BON
CHOLESTEROL			28 E4		5,87	1,6	100,0		28 E4		4,15	2,2	98,8	BON
HC	VZ DQH E mmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	0,68	115	0,51 - 2,31		7,8	89,5	1,06	115	0,75 - 3,57	1,18	10,2		
CHOLESTEROL HDL			5 DQH		0,76				5 DQH		1,09	1,9	97,2	BON
LC	CX DQH E mmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	3,49	50	0,83 - 3,72	2,90	15,6		2,46	54	0,60 - 3,13	2,33	8,4	105,6	
CHOLESTEROL LDL			29 C_		2,97	14,2			33 C_		2,36	6,1	104,2	
CF	RD DQH F µmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	122	129	112 - 174	135	8,7	90,4	54	127	13 - 124				
CREATININE			8 DQH		120	2,7	101,7		7 DQH		53	3,1	101,9	BON
GG	FZ DQH Z U/l 37 °C Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	17	127	-				252	127	-				
GAMMA-GT			12 FZ		18	3,5	94,4		12 FZ		251	2,3	100,4	BON
GE	2B DQH E mmol/l Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	7,4	131	6,8 - 8,7	7,8	3,2	94,9	9,1	131	7,2 - 10,2	9,3	2,6	97,8	BON
GLUCOSE			25 2B		7,6	2,4	97,4		25 2B		9,3	1,8	97,8	BON
PD	ZZ DQH Z U/l 37 °C Cobas Integra 400/400 +/ROCHE Diagnostics	37	111	-				258	111	-				
PHOSPHATASE ALCAINE			29 ZZ		37	2,9	100,0		29 ZZ		257	2,8	100,4	BON

NPTT = Nombre de Participants Toutes Techniques
 NPPT = Nombre de Participants Pour la Technique
 [U Conv] = Laboratoires ayant exprimé leurs résultats en unité conventionnelle

R/m = Votre résultat/Moyenne générale
 ESE = erreur systématique d'exactitude
 U SI = unités du système international

Le responsable scientifique
 ER = erreur de reproductibilité
 28/04/2011

ANNEXE XI

D4-ENR 19 Version A



FICHE D'ENREGISTREMENT DE VERIFICATION DES INTERVALLES DE REFERENCE EN BIOCHIMIE-INTEGRA 400®-

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le22/04/11

VERIFICATION DES INTERVALLES DE REFERENCE

Application : dosage du calcium dans le plasma

Mise en œuvre : du 24 /01/11 au 22/04/11

Intervalles de référence définis au L.B.M. : femmes et hommes de 15 à 50 ans de 2,09 à 2,54 mmol/L

Echantillons	sexe	âge	valeurs
1	Féminin	15	2,33
2	Féminin	16	2,43
3	Féminin	20	2,32
4	Féminin	21	2,24
5	Masculin	23	2,33
6	Masculin	24	2,30
7	Féminin	27	2,24
8	Féminin	29	2,25
9	Féminin	30	2,29
10	Féminin	32	2,34
11	Féminin	34	2,40
12	Masculin	35	2,44
13	Féminin	36	2,23
14	Masculin	41	2,30
15	Féminin	42	2,13
16	Féminin	44	2,40
17	Féminin	45	2,25
18	Masculin	47	2,50
19	Masculin	48	2,29
20	Masculin	49	2,27

INTERVALLES DE REFERENCE OBTENUS
de 2,13 à 2,50 mmol /L

Conclusion : Le biologiste responsable valide les intervalles de référence utilisés.

ANNEXE XII

**FICHE D'ENREGISTREMENT DE L'APPROCHE DE
L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE
EN BIOCHIMIE - INTEGRA 400® -**

Rédigé par A.DELAFOND technicienne

le20/05/11

I-FIDELITE INTERMEDIAIRE

CQI

Echantillons	Nombre N	Moyenne M mmol/l	Ecart-type E.T.	C.V.%	C.V.% fournisseur (ROCHE)	C.V.% limite Etat de l'art SFBC	Conclusion
C.Q.I. niveau 1	30	2,16	0,02	0,97	1,6	1,6	Conforme
C.Q.I. niveau 2	30	3,61	0,04	1,05	1,6	1,6	Conforme

CONCLUSION : Conforme (analyses effectuées du 24/03 au 01/05/11)

II-EXACTITUDE

CQE

Echantillons	Nombre N	Valeurs Labo mmol/l	Cible mmol/l (groupe de paires)	Moyenne général mmol/l	Biais % /groupe de paires	Biais% /moyenne général	Biais% limite SFBC	Conclusion	
Du 09/03 2011	C.Q.E. 1106	1	2,86	2,90	2,86	-1,4	0	2,3	Conforme
Du 07/04 2011	C.Q.E. 1107	1	2,20	2,20	2,21	0	- 0,45% ou -0,01 V.A.	2,3	Conforme
	C.Q.E. 1108	1	1,66	1,66	1,68	0	-1,19	2,3	Conforme

CONCLUSION : Conforme (analyses effectuées le 9/03 et le 7/04)

III-INCERTITUDE DU CALIBRATEUR

Valeur indiquée par le fournisseur : la société ROCHE® calibrateur calcium : 2,60 mmol/l

incertitude : **0,0281** mmol/

IV-APPROCHE INCERTITUDE DE MESURE ELARGIE

$$U_c = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_{et}^2}$$

$$U_1 = ET \text{ fidelité intermé} = 0,02$$

$$U_c = \sqrt{0,02^2 + (-0,0057)^2 + 0,0281^2} = 0,0349$$

$$U_2 = \frac{\text{biais}}{\sqrt{3}} = \frac{-0,01}{\sqrt{3}} = -0,0057$$

$$U = U_c \times 2 = 0,069 \text{ mmol / l}$$

$$U_{ét} = 0,0281$$

Soit 3,1% d'incertitude de mesure pour une concentration en calcium de 2,20mmol/l.

TRACEABILITY and UNCERTAINTY ⁷

COBAS INTEGRA® / cobas c 111 - C.f.a.s.

Cat. No. 10 759 350 190



Roche Diagnostics GmbH

February 2010

Routine Method COBAS INTEGRA® Systems	Reference Method	Reference Material	Selected Measurement Procedure	Calibrator Value	Uncertainty	Unit
BUN Blood urea nitrogen <i>Urease/GLDH</i>		SRM 909b ³ calculated		47.3	1.14	mg/dL
				16.9	0.408	mmol/L
CA Calcium <i>o-cresolphthalein complexone</i>		SRM 909b ³		2.60	0.0281	mmol/L
CHE2 Cholinesterase <i>butyrylthiocholine Gen.2</i>			Roche reagent, manual measurement	4700	63.6	U/L
				78.5	1.06	µkat/L
CHOL2 Cholesterol total <i>CHOD-PAP ID/MS</i>	ID-MS ⁴			165	0.800	mg/dL
				4.27	0.0207	mmol/L
CHOL2 Cholesterol total <i>CHOD-PAP Abell-Kendall</i>	Abell-Kendall			163	0.790	mg/dL
				4.21	0.0204	mmol/L
CKL Creatine kinase <i>IFCC liquid</i>	Original formulation IFCC ⁴ (2002), manual measurement			307	6.66	U/L
				5.13	0.111	µkat/L
CREP2 Creatinine <i>plus ver.2</i>	ID-MS ⁴			3.58	0.0381	mg/dL
				317	3.37	µmol/L
CREJ2 Creatinine <i>Jaffé Gen. 2</i> <i>INTEGRA 400 / cobas c 111</i>	ID-MS ⁴			3.74	0.0112	mg/dL
				331	0.990	µmol/L
CREJ2 Creatinine <i>Jaffé Gen. 2</i> <i>INTEGRA 800</i>	ID-MS ⁴			3.94	0.0285	mg/dL
				349	2.52	µmol/L

ANNEXE XIII

**FICHE D'ENREGISTREMENT DE VERIFICATION DES
PERFORMANCES D'UNE METHODE D'ANALYSE (PORTEE A)
DE TYPE QUANTITATIF - EN BIOCHIMIE-**

Rédigée par DELAFOND A. Technicienne

le 27-05-2011

DOMAINE DE BIOLOGIE MEDICALE

SOUS DOMAINE : BIOCHIMIE

EXAMEN : CALCÉMIE

FAMILLE : biochimie générale et spécialisée

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte	Calcium
Principe de la mesure	Spectrophotométrie d'absorption à 552 nm
Méthode de la mesure	Ortho-crésol-phtaléine-complexon
Type d'échantillon primaire	Plasma
Type de récipient, additifs	Héparinate de lithuim
Prétraitement de l'échantillon	Centrifugation 1300g / 10mn / à 20°C
Unités	mmol/l
Intervalles de référence	Homme, femme de 15 à 50 ans 2,13 à 2,50mmol/l
Marquage CE	Oui
Code C.N.Q.	EZ
Analyseur	Intégra 400 ® Roche Diagnostics
Référence du réactif	Cassette 300 tests Réf : 20763128 322 version 1
Référence du calibrateur	CFAS Réf : 10759350 190
Raccordement métrologique	SRM 909b
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs	Régression linéaire en deux points 0 et 2,60

MISE EN ŒUVRE	
Technicien habilité ayant effectué la vérification de méthode	Mme DELAFOND Technicienne référente en biochimie
Procédure de validation	D4-PR03-A
Procédure de gestion de la portée flexible	B4-PR02-A
Période d'évaluation	Du 24/01/11 au 01/05/11
Date de validation	25/08/2011
Méthode validé par	Mme BENAILY Biologiste RAQ

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Type d'échantillon primaire	<p>-<u>Recommandé</u> plasma recueilli sur héparinate de lithuim</p> <p>-<u>Acceptable</u> sérum fraîchement prélevé à jeun sur tube sec ou gel</p> <p>-<u>Non acceptable</u> EDTA oxalate, citrate</p>	<p>Vérification des conditions de prélèvement (voir manuel de prélèvement)</p> <p>D4-INS01-A préparation des échantillons</p>
Prétraitement de l'échantillon	<p>-<u>Tube hépariné</u> : centrifugation <60 mn après le prélèvement et < 4h après le prélèvement</p> <p>-<u>Tube sec</u> attendre au moins 60 mn après le prélèvement</p> <p><u>Centrifugation</u> : 10min à 20-25°C entre 1000 à 1300 g</p>	<p>Conservation des différents analytes dans le temps (voir manuel de prélèvement)</p> <p>D-MO01-B utilisation de la centrifugeuse</p> <p>Voir recommandation fournisseur de tube B.D. ®</p>
Main d'œuvre (habilitation)	G3-PR01-A G3-ENR01-A	Habilitation
Conditions ambiantes requises	<p><u>Conservation or utilisation</u> : température ambiante entre +15 et +25°C (jusqu'à date de péremption)</p> <p><u>Conservation dans l'analyseur</u> : Si température entre +10 et +15°C conservation 12 semaines</p>	<p>Vérification quotidienne des températures</p> <p>Vérification de la date de péremption et de la date limite d'utilisation après ouverture (gestion automatique de l'automate)</p>
Matériau de référence	1 sérum étalon lyophilisé	<p>-Pipette pour régénérer l'étalon</p> <p>-Qualité de l'eau utilisée</p> <p>-Respecter le délai de reconstitution</p> <p>-Conditions de conservation : température ...</p> <p>Voir D4-INS04-A préparation des étalons</p>
Equipements	Qualité de l'eau	<p>Vérification de la qualité de l'eau osmosée</p> <p>Voir D4-MO02-A utilisation et maintenance de l'osmoseur</p>

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

REPETABILITE

SERUM

Echantillons	Nombre N	Moyenne M mmol/l	Ecart-type E.T.	C.V.%	C.V.% fournisseur (ROCHE)	C.V.% limite Etat de l'art S.F.B.C.	Conclusion
Sérum niveau 1	20	2,29	0,012	0,64	1,2	1,2	Conforme
Sérum niveau 2	20	2,89	0,017	0,63	1,2	1,2	Conforme

CONCLUSIONS : Conforme aux recommandations du fournisseur et du S.F.B.C.

(Analyses effectuées le 12/04/11)

FIDELITE INTERMEDIAIRE

CQI

Echantillons	Nombre N	Moyenne M mmol/l	Ecart-type E.T.	C.V.%	C.V.% fournisseur (ROCHE)	C.V.% limite Etat de l'art SFBC	Conclusion
C.Q.I. niveau 1	30	2,16	0,02	0,97	1,6	1,6	Conforme
C.Q.I. niveau 2	30	3,61	0,04	1,05	1,6	1,6	Conforme

CONCLUSIONS : Conforme aux recommandations du fournisseur et du S.F.B.C.

(Analyses effectuées du 24/03 au 01/05/11)

JUSTESSE (APPROCHE DE LA)

CQI EXTERNALISEES

N'ayant pas encore intégré de programme de contrôle de qualité interne externalisé, nous ne sommes pas en mesure de faire une approche de la justesse.

EXACTITUDE

CQE PONCTUELS

Echantillons		Nombre N	Valeus Labo mmol/l	Cible mmol/l (groupe de pairs)	Moyenne général mmol/l (toutes techniques)	Biais % /groupe de pairs	Biais% /moyenne général	Biais% limite SFBC	Conclusion
Du 09/03 2011	C.Q.E. 1106	1	2,86	2,90	2,86	-1,4	0	2,3	Conforme
Essai du 07/04 2011	C.Q.E. 1107	1	2,20	2,20	2,21	0	- 0,5	2,3	Conforme
	C.Q.E. 1108	1	1,66	1,66	1,68	0	-1,2	2,3	Conforme

CONCLUSIONS : Conforme aux recommandations du S.F.B.C.

(Analyses effectuées le 9/03 et le 7/04)

INCERTITUDES

Mode de calcul	Utilisation du CQI et de l'EEQ
Quantification de l'incertitude NIVEAU 1 - 2,20 mmol/l-	2,20 +/- 0,069mmol/l Soit 3,1%

CONCLUSIONS : Nous obtenons une incertitude de mesure élargie de +/- 0,069mmol pour une concentration de calcium à 2,20mmol/l.

RESUME

Dans le cadre de la réforme de la biologie médicale, les LBM vont être soumis à l'obtention obligatoire de l'accréditation NF EN ISO 15189 pour pouvoir exercer. Ce mémoire répond à certaines exigences techniques du chapitre 5 de la norme NF EN ISO 15189-2007. Le projet s'attache à mettre en œuvre la procédure de vérification des performances d'une méthode d'analyse (couple analyseur/réactif), de portée standard flexible A, de type quantitatif, dans le domaine de la biochimie, et ceci dans les conditions d'utilisation usuelles du laboratoire. La roue de DEMING a été utilisée comme support pour décrire les différentes étapes.

Pour commencer il a fallu PLANIFIER le projet :

- en effectuant des recherches sur la méthode.
- en évaluant les ressources nécessaires à cette étude.
- et en programmant un plan d'action.

Puis le REALISER :

- en définissant les critères à étudier.
- en prévoyant le traitement des données.
- en rédigeant la procédure et les fiches d'enregistrement.

Dans un deuxième temps, les mesures sont effectuées selon la procédure établie.

Ensuite EVALUER les résultats :

- en analysant les valeurs obtenues et en les exploitant de manière statistique.
- en comparant nos résultats par rapport aux limites d'acceptabilités prédéfinies, et en concluant ou non à la conformité de notre méthode d'analyse.
- en évaluant notre processus par la mise en place d'indicateur de qualité.
- en étudiant nos résultats en revue de direction.

Enfin AJUSTER notre procédure pour obtenir une amélioration continue :

- en corrigeant les non conformités.
- en déclenchant des actions correctives et /ou préventives.
- et en révisant notre base documentaire régulièrement.

Cette vérification de performances a permis de démontrer la conformité de notre méthode d'analyse par rapport à l'état de l'art., pour le dosage de la calcémie.