

Rédaction de la
procédure de Validation
des méthodes
&
Mise en application
en Hémostase

Amélie DERICK DANIEL

Laboratoire du CH de Dreux

INTRODUCTION

➤ Laboratoire polyvalent - CH Dreux

↘ 26 millions de B (784 lits)

- 4 biologistes TP +/- 1 interne
 - ⇒ référent Hématologie et en charge de l'avancement de la démarche qualité dans ce secteur
- 3 cadres, 26 techniciens (ETP), 3 secrétaires
- 1 Dépôt de sang + 1 Laboratoire de PMA

➤ Audit organisationnel initial (sept.2010)

Soutien du laboratoire par la direction dans sa démarche d'accréditation :

- Engagement d'un organisme d'accompagnement
- Accréditation à coût constant ⇔ réorganisation du laboratoire (COQL)

INTRODUCTION (2)

➤ 3 portées à l'accréditation en 2013 :

- Hémostase
- Hématocytologie et
- Immuno-Hématologie

➤ But de ce travail :

⇒ Vérification des méthodes en Hémostase (TP, TCA, F)

- STA-R évolution® : avril 2007
- STA-Satellite® : décembre 2009

Méthodes normalisées « fournisseur » : portée flexible standard A

Gestion de projet selon le PDCA de Deming :

❖ Planification

	Avant le	Personnes impliquées
Rédaction 1^{ère} version de la procédure	11/03/11	Biologiste qualitiçienne et RAQ
État des lieux des documents existants	08/04/11	Biologiste et techniciens référents
Recherche bibliographique		Biologiste
Détermination du protocole de validation		Biologiste et techniciens référents
Expérimentations ou exploitation des 1^{ères} données & traitement statistique	02/05/11	Biologiste et techniciens référents
Validation opérationnelle Rédaction du dossier	20/05/11	Biologiste
Validation / amélioration de la procédure	31/05/11	Biologiste qualitiçienne et RAQ

❖ Réalisation : depuis mars

- Travail sur la documentation
- Travail sur la vérification des méthodes
 - Rédaction de la procédure de vérification des méthodes
 - Détermination des critères d'acceptabilité
 - Interprétation des 1ères données expérimentales
 - Validation opérationnelle
 - Constitution du dossier de validation

❖ Evaluation

- Etude du dossier de vérification des méthodes analytiques
- Audit du secteur par notre organisme accompagnateur

Par la suite

❖ Amélioration

TRAVAIL SUR LA DOCUMENTATION

- **Au préalable :**
 - Procédure des procédures
 - Maquette de procédure technique
- **Rédaction de la procédure de vérification des méthodes**
 - ⇒ afin de structurer notre travail par la suite
- **Etat des lieux de la documentation en Hémostase & mises à jour nécessaires**

Technicien référent en Hémostase, cadre qualité & consultante

- Création : MO Maintenance, MO Gestion des CQ, PT PDF
- MO analyses automatisées réduites à des fiches synthétiques
- Récupération de documents utiles auprès de notre fournisseur

[tableau de reconstitution et de stabilité des réactifs, données de sécurité, notices des réactifs sur « www.stago.fr ».]

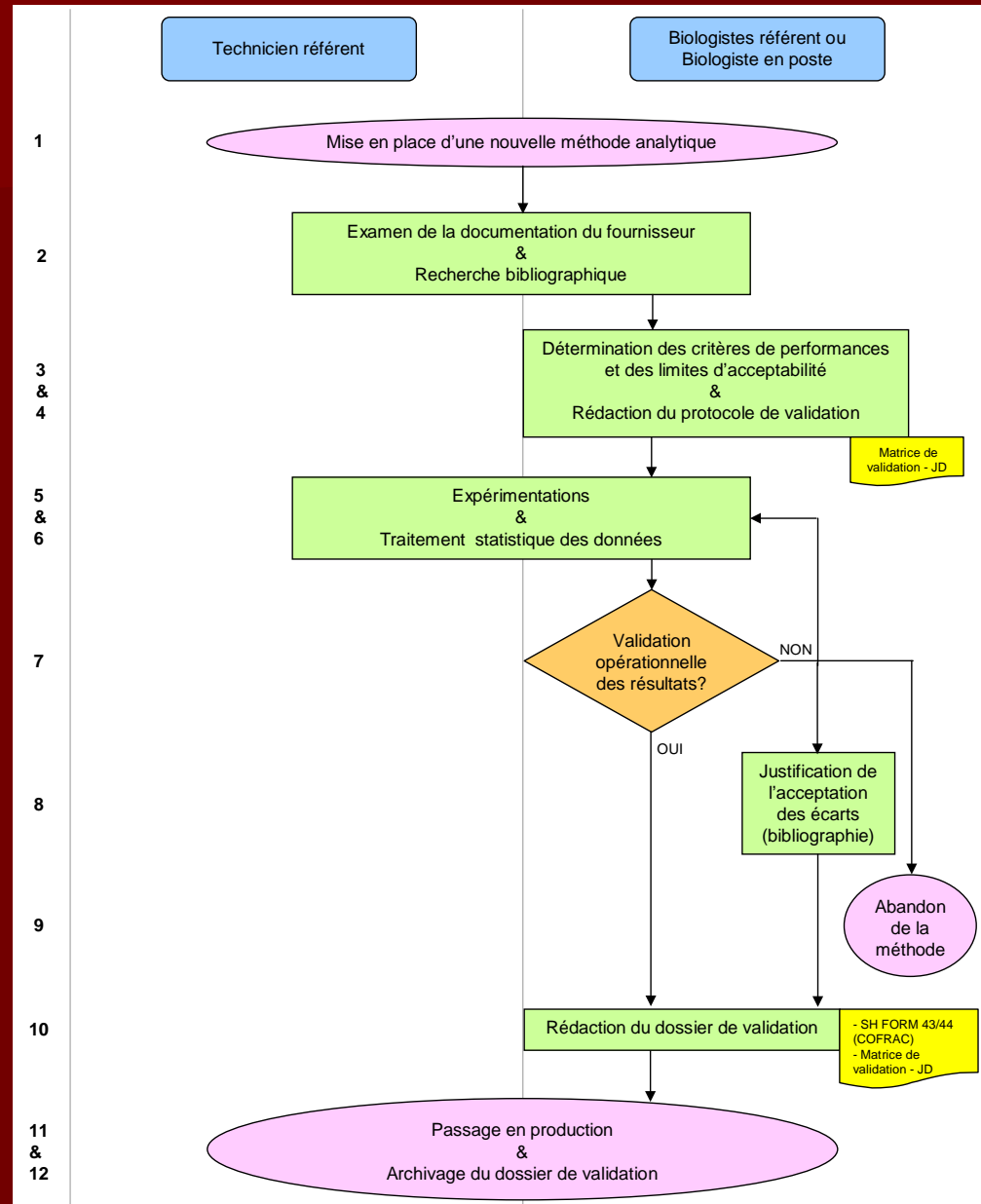
- **Recherche de sources bibliographiques afin de compléter et d'évaluer la documentation fournisseur = difficile**
 - ⇒ Détermination de l'aptitude des méthodes sans se référer à des recommandations, sociétés savantes...

TRAVAIL SUR LA VERIFICATION DES METHODES

➤ Procédure de vérification des méthodes

- PG applicable à tous les secteurs
- Présentation synthétique des éléments importants du SH GTA 04
- Après cette mise en application en Hémostase, la procédure sera revue et améliorée si besoin.

■ Etapes & responsabilités :



▪ Tableau récapitulatif :

Éléments que doit comporter le dossier de vérification selon le type de méthode

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU A CONNAITRE	Méthode d'analyse quantitative	Méthode d'analyse qualitative
Spécificité	Bibliographie	Bibliographie
Sensibilité	NA	Bibliographie
Fidélité (répétabilité et reproductibilité)	Bibliographie Vérification sur site	NA
Justesse	Bibliographie Vérification sur site dès que possible	NA
Intervalle de mesure (Limite de quantification et limites de linéarité)	Bibliographie Vérification sur site si nécessaire	NA
Incertitudes / facteurs de variabilité et évaluation	Bibliographie Vérification sur site	NA
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	Bibliographie Vérification sur site pour les paramètres sensibles	Bibliographie Vérification sur site pour les paramètres sensibles
Stabilité des réactifs (après ouverture, embarqués)	Bibliographie	Bibliographie
Robustesse	NA	Bibliographie
Interférences (Ilgémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments)	Bibliographie Vérification sur site si nécessaire	NA
Valeurs de référence	Bibliographie Vérification sur site dès que possible, si justifié	NA
Comparaison avec une méthode de référence	Bibliographie (si existe)	Bibliographie
Comparaison avec méthode déjà utilisée au LBM (appareil en miroir, EBMD)	Bibliographie (si existe) Vérification sur site (si possible)	Bibliographie (si existe) Vérification sur site (si possible)
Analyse des discordances Ex : Etude des faux positifs et des faux négatifs	Bibliographie Vérification sur site	NA

■ Méthodes de calcul des critères de performances

Critères de performance	Principe	Méthodes de calcul
Répétabilité	<ul style="list-style-type: none"> - Analyser un même échantillon dans les conditions suivantes : opérateur, lot de réactifs, instrument et étalonnage identique dans un délai court. - Utiliser au minimum 2 niveaux de concentration choisis en fonction des valeurs physiologiques dont un proche de la zone décisionnelle si possible. - A réaliser pour chacune des matrices (sérum, urine, LCR...) et pour chaque analyte. 	$CV (\%) = (s / m) \times 100$ Effectif idéal = 30 (justification dans le cas contraire : coût, durée d'analyse...)
Fidélité intermédiaire = Reproductibilité intra-laboratoire	<ul style="list-style-type: none"> - Analyser un même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs : opérateur, temps, lot de réactifs, étalonnage... - Classiquement évaluées à partir des résultats de CIQ. - 2 niveaux minimum. 	$CV (\%) = (s / m) \times 100$ Sur au moins 15 jours avec 30 déterminations
Justesse	<ul style="list-style-type: none"> - Quantifiée par le biais = comparaison de la moyenne de plusieurs dosages de CIQ à la valeur cible. - <u>En l'absence d'externalisation des CIQ</u> : le laboratoire établit l'inexactitude = comparaison des valeurs obtenues sur des EEQ aux valeurs cibles. La valeur cible retenue est la moyenne de l'ensemble des participants (si les seuils de décision sont standardisés) ou celle du groupe de pairs (même méthode). 	$Biais (\%) = (m-v)/v \times 100$ $Inexactitude (\%) = (x-v)/v \times 100$ v : valeur cible x : valeur pour l'EEQ
Estimation de l'incertitude (LAB GTA 14)	<ul style="list-style-type: none"> - La fidélité et la justesse permettent une approche de l'estimation de l'incertitude associée au résultat. U_1 : estimation de l'incertitude due à la fidélité (repro.) U_2 : estimation de l'incertitude due à la justesse U_o : estimation de l'incertitude combinée U : incertitude élargie conventionnellement calculée - <i>En l'absence de CIQ externalisés, l'incertitude de justesse (U_2) sera estimée avec les EEQ.</i> - Résultat : R = valeur mesurée +/- U (unité) 	$U_1 = S \text{ repro}$ $U_2 = \text{biais}/\sqrt{3}$ $U_o = \sqrt{(U_1^2 + U_2^2)}$ $U = 2.U_o$

➤ Détermination des critères d'acceptabilité

= Ensemble des critères de performances à étudier en Hémostase.

- Etabli au préalable afin de faciliter l'étape d'interprétation statistique des données analytiques.

- Servira au suivi des performances en routine.

- Manque de données bibliographiques
 ⇔ **incomplet**

Répétabilité									
	Echantillon	Nombre	CV (%) <i>Stago</i>	CV (%) <i>littérature</i>	CV (%) <i>retenu</i>				
TP/PT (sec.)	CQ N	≥ 30	< 1,5		< 1,5				
	CQ P	≥ 30	< 2,0		< 2,0				
TCA/APTT (sec.)	CQ N	≥ 30	< 1,5		< 1,5				
	CQ P	≥ 30	< 2,0		< 2,0				
F (g/L)	CQ N	≥ 30	< 4,0		< 4,0				
	CQ P	≥ 30	< 5,0		< 5,0				
Fidélité intermédiaire = Reproductibilité									
	Echantillon	(Nombre)	CV (%) <i>Stago</i>	CV (%) <i>S.MARION</i>	CV (%) <i>retenu</i>				
TP/PT (sec./%)	CQ N	≥ 30	< 5,0	< 7,0	< 5,0				
	CQ P	≥ 30	< 5,0	< 7,0	< 5,0				
TCA/APTT (sec.)	CQ N	≥ 30	< 5,0	< 7,0	< 5,0				
	CQ P	≥ 30	< 5,0	< 7,0	< 5,0				
F (g/L)	CQ N	≥ 30	< 6,0	< 7,0	< 6,0				
	CQ P	≥ 30	< 6,0	< 7,0	< 6,0				
Justesse (cas des contrôles internes externalisés)									
NA									
Exactitude (cas des contrôles externes ponctuels)									
	Echantillon	Nombre	Biais (%) <i>Probioqual</i>	Biais (%) <i>S.MARION</i>	Biais (%) <i>retenu</i>				
TQ (%)	EEQ ponctuel	1	Variable selon EEQ	Variable selon EEQ mais > biais fournisseur	Limites acceptables fournisseur				
TCA (sec.)	EEQ ponctuel	1	Variable selon EEQ	Variable selon EEQ mais > biais fournisseur	Limites acceptables fournisseur				
F (g/L)	EEQ ponctuel	1	Variable selon EEQ	Variable selon EEQ mais > biais fournisseur	Limites acceptables fournisseur				
Incertitudes									
Mode de calcul	$U = 2.U_c = 2.\sqrt{(U_1^2 + U_2^2)} = 2.\sqrt{[(S \text{ repro})^2 + (\text{biais}/\sqrt{3})^2]}$ Rq : En l'absence de CIQ externalisé, l'incertitude de justesse (U2) sera estimée avec les EEQ.								
Résultat	R = valeur mesurée + / - U (unité)								
		Incertitude due à la fidélité U1=S repro	Incertitude due à la justesse U2=biais/√3	Incertitude combinée U _c =√(U1 ² +U2 ²)	Incertitude élargie U=2.U _c	Interprétation littérature			
Exemple du TP/PT (%)	CQ N m=100,83	3,25	—	3,4	6,8				
	EEQ cible : 97,12	—	1,73						
	CQ P m=41,27	0,91	—	1,49	2,98				
	EEQ cible : 40,99	—	1,39						
Comparaison de méthodes - Y = a X + b et Nb de déviants									
	STAGO			Littérature			Critères retenus		
	Pente a	Ordonnée à l'origine b	%acceptable de valeurs discordantes	Pente a	Ordonnée à l'origine b	%acceptable de valeurs discordantes	Pente a	Ordonnée à l'origine b	%acceptable de valeurs discordantes
TP	0,9-1,1	+/- 5 %					0,9-1,1	+/- 5 %	
TCA	0,9-1,1	2 sec.					0,9-1,1	2 sec.	
F	0,8-1,2	0,25 g/L					0,8-1,2	0,25 g/L	

➤ Interprétation des 1ères données expérimentales

1/ Expérimentations réalisées à l'installation des automates (référent & Stago)

- Répétabilité & Reproductibilité
- Contamination
- Comparaison de technique

2/ Reste à établir :

Justesse & Incertitude de mesure

⇔ analyse de nos CQ (CIQ et EEQ)

Pas de CIQ externalisé chez Stago = pas d'évaluation de la justesse


➤ Validation opérationnelle

- Tableau récapitulatif de la conformité du TP, TCA, F sur le STA-R évolution® :
- A nuancer ⇔ essentiellement lim.fournisseur
- A compléter par les données de suivi en routine afin de visualiser l'évolution des performances analytiques
- ⇔ Actions correctives rapides et adaptées.

	Critères de performances	Résultats	Critères d'acceptabilité	Conclusion
TP	Répétabilité (TP en sec.)	CV CQ N = 0,94% CV CQ P = 0,80%	CV CQ N < 1,5% CV CQ P < 2%	Conforme
	Reproductibilité (TP en %)	CV CQ N = 3,22% CV CQ P = 2,20%	CV CQ N < 5% CV CQ P < 5%	Conforme
	Justesse	Absence de données		
	Exactitude (TP en %)	Biais CQN = ? Biais EEQ1 = 3 % Biais EEQ2 = -2,4 %	Biais ≤ ± 10 % Biais ≤ ± 12 %	? Conforme Conforme
	Comparaison de méthodes	Y = 0,93 X + 4,70 Nb. de déviants = 0	Pente(a) : 0.9-1.1 Ordonnée à l'orig. (b) : +/-5%	Conforme
TCA (sec.)	Répétabilité	CV CQ N = 0,96% CV CQ P = 0,60%	CV CQ N < 1,5% CV CQ P < 2%	Conforme
	Reproductibilité	CV CQ N = 3,50% CV CQ P = 3,07%	CV CQ N < 5% CV CQ P < 5%	Conforme
	Justesse	Absence de données		
	Exactitude	Biais CQN = - 3,69 % Biais EEQ1 = 6,1 % Biais EEQ2 = 3,6 %	Biais ≤ ± 15 % Biais ≤ ± 12 % Biais ≤ ± 12 %	Conforme
	Comparaison de méthodes	Y = 1,07 X - 3,22 Nb. de déviants = 2	Pente(a) : 0.9-1.1 Ordonnée à l'orig. (b) : +/-5%	Conforme
F (g/L)	Répétabilité	CV CQ N = 1,37% CV CQ P = 2,85%	CV CQ N < 4% CV CQ P < 5%	Conforme
	Reproductibilité	CV CQ N = 2,31% CV CQ P = 2,67%	CV CQ N < 6% CV CQ P < 6%	Conforme
	Justesse	Absence de données		
	Exactitude	Biais CQN = - 5,49 % Biais EEQ1 = - 1,0 % Biais EEQ2 = 1,6 %	Biais ≤ ± 20 % Biais ≤ ± 12 % Biais ≤ ± 17 %	Conforme
	Comparaison de méthodes	Y = 0,91 X + 0,19 Nb. de déviants = 3	Pente(a) : 0.9-1.1 Ordonnée à l'orig. (b) : +/-5%	Conforme

➤ Constitution du dossier de vérification des méthodes

Formulaire SH FORM 43 mise à la disposition des laboratoires depuis avril 2011

	FICHE TYPE QUANTITATIF VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE	RÉFÉRENCE : SH FORM 43 INDICE DE RÉVISION : 00 DATE D'APPLICATION : 15/04/11
---	---	--

Note : le laboratoire se référera au tableau du § 9.1.1 du Document Cofrac SH GTA 04 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera une fiche par examen de biologie médicale

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :

TP : Taux de Prothrombine

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte/Mesurande :	Temps de Quick
Principe de la Mesure :	Test chronométrique
Méthode de mesure :	Comparer, en présence de thromboplastine calcique, le temps de coagulation du plasma à étudier à celui d'un témoin normal servant de référence.
Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...) :	Plasma
Type de récipient, Additifs (tubes, ...) :	Tubes citratés 0.109 M BD 1 vol. de citrate pour 9 vol. de sang
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :	Centrifugation 2700g pendant 10 min thermostatée (18-22°C)
Unités :	Secondes (Taux de prothrombine en pourcentage)
Intervalles de référence ¹ :	> 70 %
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	4802G
Instrument (analyseur automatique, etc.) :	STA-R évolution
Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :	STA®-Néoplastine® Cl Ⓢ (réf 00886) Notice 26332 05 – Novembre 2009
Matériau d'étalonnage (références)/ Raccordement métrologique :	Etalon fournisseur
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Précalibration usine – Lot réservé à l'année

CONCLUSION

➤ Objectifs du planning prévisionnel pas tous réalisés :

- Difficultés rencontrées (pauvreté des sources bibliographiques)
- Actions préalables à mener :
 - réorganisation du laboratoire
 - mises à jour documentaires

	Avant le	Personnes impliquées	Etat d'avancement
Rédaction 1^{ère} version de la procédure	11/03/11	Biologiste qualitiçienne et RAQ	Réalisé
État des lieux des documents existants	08/04/11	Biologiste et techniciens référents	Réalisé
Recherche bibliographique		Biologiste	Informations incomplètes
Détermination du protocole de validation		Biologiste et techniciens référents	Réalisé partiellement avec les données recueillies
Expérimentations ou exploitation des 1^{ères} données & traitement statistique	02/05/11	Biologiste et techniciens référents	Bien avancé
Validation opérationnelle Rédaction du dossier	20/05/11	Biologiste	En cours
Validation / amélioration de la procédure	31/05/11	Biologiste qualitiçienne et RAQ	En cours

CONCLUSION (2)

➤ Travail en Hémostase

- Implication des techniciens dans la qualité (notamment les référents).
- A poursuivre pour l'ensemble des analyses.
- Meilleure maîtrise de la vérification des méthodes avant d'aborder les secteurs d'Hématocytologie et d'Immuno-Hématologie.
- Amélioration éventuelle de la procédure de vérification des méthodes et validation finale au prochain COQL.
- Nouvelles expérimentations nécessaires uniquement pour le suivi des performances en routine.

➤ Rédaction de la procédure de gestion de la portée flexible

⇒ A prévoir