

UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE
PARIS 6

MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE

« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE

DE BIOLOGIE MÉDICALE »

**VERIFICATION DES PERFORMANCES ANALYTIQUES :
APPLICATION AUX AUTOMATES SYSMEX XE5000**

Auteur :

Laure IGOUT

Technicienne de laboratoire

CHU Charles Nicolle Rouen

2010/2011

Note au lecteur

Les mémoires des étudiants 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 :

Laure IGOUT

Technicienne de laboratoire-CHU Charles Nicolle ROUEN

IBC

1 rue de Germont-76000 Rouen

Remerciements

Je remercie tout particulièrement Jérôme, mon mari, qui m'a soutenu durant toute cette année.

Je remercie les biologistes d'Hématologie et mon chef de service pour m'avoir accordé leur confiance lors de la mise en œuvre des tests sur les analyseurs mais aussi pour leur disponibilité, leur aide et leurs conseils.

Je remercie Martine Di Zazzo pour m'avoir épaulé et pour ces précieux conseils.

Je remercie l'ensemble du personnel non médical, mes collègues pour leur soutien.

Je remercie Camille Giverne notre RAQ et Annie Vidal notre cadre supérieur de Pôle pour leur aide et leurs conseils.

Je remercie ma cadre de santé pour m'avoir libéré du temps afin de mener à bien mon travail.

Je remercie toutes mes amies pour leur soutien.

Sommaire

Glossaire.....	1
1-Introduction.....	2
1.1-Présentation des lieux.....	2
1.1.1 Le Centre Hospitalo Universitaire Régional de Rouen (CHRU)	2
1.1.2 Le Pôle de Biologie Clinique	2
1.1.3 L'institut de Biologie Clinique (IBC).....	3
1.1.4 Le secteur d'Hématologie.....	4
1.2-La Qualité.....	4
1.2.1 Au niveau du pôle.....	4
1.2.2 Au niveau de l'Hématologie.....	6
1.3 Choix du sujet de mémoire.....	6
1.4 Objectifs	6
2-Méthodologie	8
2.1-Références et documents associés.....	8
2.2 Le Plan d'actions.....	9
2.2.1 Le Qui ? Le Quoi ? Le Où ?	9
2.2.2 Le Quand? Le Comment? Le Pourquoi?	10
2.3-Synthèse	18
3-Synthèse des résultats.....	19
3.1-La Répétabilité	19
3.2 La Fidélité intermédiaire	22
3.3-La comparaison des 2 XE5000	24
3.4 La contamination inter-échantillons.....	26
3.5 Evaluation de la limite de détection	26
3.6 Evaluation du seuil de quantification	27
3.7 La comparaison du XE 5000 et du LH750.....	28
3.8 Synthèse	28
4 Conclusion et perspectives	29

LISTE DES ANNEXES

Glossaire

Back-up : Analyseur utilisé ponctuellement en cas de panne des analyseurs principaux.

CIL : Comparaison Inter Laboratoire.

COFRAC : Comité Français d'Accréditation.

CQI : Contrôle Interne de la Qualité.

CRTH : Centre de Référence du Traitement de l'Hémophilie

Coefficient de variation : Rapport entre l'écart type et la moyenne, exprimé en pourcentage.

DU : Diplôme Universitaire.

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

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité.

GB : Globules Blancs

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

GR Optiques : Globules Rouges comptés en méthode optique sur les XE5000.

GTA : Guide Technique d'Accréditation.

Hb : Hémoglobine.

IBC : Institut de Biologie Clinique.

LH 750 : Analyseur d'Hématologie Beckman-Coulter.

Plaquettes Optiques : Plaquettes comptées en méthode optique sur les XE5000.

QQOQCP ?: Qui ? Quoi ? Où ? Quand ? Comment ? Pourquoi ?

RAQ : Responsable de l'Assurance Qualité.

Schizocytes : Les Schizocytes sont des fragments d'hématies.(Bessis M. Réinterprétation des frottis sanguins. Paris : Masson Springer, 1976 : 92-5)

Technicien Référent : Technicien ayant reçu une formation pointue sur les analyseurs. C'est aussi l'interlocuteur privilégié de l'encadrement médical et paramédical. Il a en charge la formation des utilisateurs et le suivi des analyseurs.(

1-Introduction

1.1-Présentation des lieux

1.1.1 Le Centre Hospitalo Universitaire Régional de Rouen (CHRU)

Le CHRU de Rouen est un établissement public de santé, il est composé de différents établissements :

Etablissements de santé et d'Hébergement.	Etablissements Industriels	Ecoles
Hôpital Charles Nicolle Plus de 1200 Lits Plus de 7000 Agents 23 Services de soins 11 Blocs Opératoires	-Blanchisserie -Unité Centrale de production (UCP)	-Institut de Formation Ambulancier -Aides Soignants -Auxiliaires de Puériculture -Soins d'Urgences (CESU) -Cadres de Santé (IFCS) -Infirmiers Anesthésistes (IADE) -Infirmiers de Bloc Opératoire (IBODE) -Infirmiers (IFSI) -Kinésithérapeutes (IFMK)
Hôpital de Bois Guillaume 590 Lits 10 Services de soins (Médecine convalescence et rééducation fonctionnelle)		-Puéricultrices -Sages Femmes -Techniciens Supérieurs en Imagerie Médicale et Radiologie Thérapeutique
Hôpital St Julien (Le Petit Quevilly) 223 Lits 7 Services de soins		
Hôpital de Oissel 120 Lits 4 Services de soins (prise en charge de la personne âgée)		
Etablissement d'Hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) Boucicaut (Mont St Aignan) 150 Lits		

1.1.2 Le Pôle de Biologie Clinique

Le Pôle de Biologie Clinique rassemble dix services de Biologie Clinique :

- Le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

- Le service de Biochimie
- Le service de Génétique moléculaire et clinique
- Le service d'Hématologie
- Le service d'Histologie
- Le service d'Immunologie
- Le service de Microbiologie
- Le service de Neurophysiologie
- Le service de Pharmacologie
- Le service de Physiologie digestive respiratoire urinaire et sportive.

Le Pôle de Biologie Clinique est piloté par un chef de Pôle, un cadre supérieur de Pôle, un cadre administratif de Pôle (le trio de Pôle) et d'un directeur référent.

1.1.3 L'institut de Biologie Clinique (IBC)

Les laboratoires de diagnostic de routine ont été regroupés en un même bâtiment appelé l'Institut de Biologie Clinique (IBC) en 2007. Il réunit une partie des dix services du Pôle Biologie dont: la Biochimie, l'Hématologie, la Microbiologie et la Pharmacologie et, le préanalytique de chaque laboratoire regroupé en deux secteurs d'accueil des échantillons biologiques. Deux cent quarante cinq personnels non médicaux dont six cadres et cadres supérieurs de santé, soixante personnels médicaux travaillent à l'IBC. Plus de 2,5 millions d'examens biologiques y sont effectués chaque année.

L'IBC dispose d'une Unité de Prélèvement et le Centre de Référence de Traitement de l'Hémophilie (CRTH) également situé dans l'IBC ainsi que des secteurs logistiques : le Centre de Régulation des Examens et le Magasin. Le laboratoire polyvalent situé à l'Hôpital St Julien (près de Rouen) est rattaché au laboratoire d'Hématologie.

Dans le cadre du remplacement des analyseurs de Biochimie et d'Hématologie, le Pôle de Biologie Clinique s'est engagé dans une procédure de dialogue compétitif et au terme d'une année de réflexion, une solution mutualisée a été retenue. Il s'agit de l'acquisition et de l'installation de plateforme technologique à haut débit :

- une plateforme de Biochimie Pharmacologie
- une plateforme d'Hémostase
- une plateforme d'Hématologie Cytologie
- Un secteur mutualisé d'accueil des échantillons de l'IBC : la Biochimie et l'Hématologie, la Bactériologie et la Virologie qui sera également automatisé.

Cette plateforme appelée IBCore va regrouper les laboratoires d'Hématologie, de Biochimie, de Pharmacologie pour les diagnostic de la biologie dite de "routine" avec une

automatisation et une mutualisation du préanalytique. Nous y effectuerons les analyses d'urgences et du quotidien 24h/24 et sept jours sur sept.

1.1.4 Le secteur d'Hématologie

Le service d'Hématologie est organisé en six secteurs :

- L'Hématologie Cytologique
- L'Hémostase vasculaire
- L'Hémostase cellulaire
- Le secteur des cultures des progéniteurs cellulaires
- Le secteur des Immunophénotypages (des hémopathies)
- Le secteur des Globules Rouges où l'on étudie les maladies touchant les globules rouges

Le service est constitué de quinze biologistes, d'un cadre de santé, de quarante deux techniciens, d'une aide de laboratoire, de cinq agents administratifs et de cinq agents d'entretien (cf Annexe 1).

Le service d'Hématologie a acquis au mois de Mai des nouveaux analyseurs :

- En Hémostase, il a été installé deux nouveaux STAR reliés à une chaîne préanalytique appelée MPA.
- En Cytologie, il a été installé une nouvelle chaîne analytique Sysmex composée de deux XE5000 avec des étaleurs colorateurs, d'un automate effectuant la lecture des Vitesses de Sédimentation et d'un analyseur de Formules Sanguines automatisé (Cella Vision DM96). En complément de cette chaîne, nous avons un back-up le XT4000 et un autre XT4000 a été installé sur le site de St Julien.

A l'occasion de l'arrivée de ces nouveaux analyseurs, quatre référents techniques dont je fais partie ont été formés sur la chaîne et sur les XT4000.

1.2-La Qualité

1.2.1 Au niveau du pôle

Le Pôle de biologie s'est engagé dans la démarche qualité dans un premier temps en réponse au référentiel GBEA (26 Novembre 1999), puis à la norme EN ISO 15189 (Août 2007).

En 2006, une commission qualité est créée, elle est constituée du Chef de Pôle, des chefs de service, des cadres supérieurs de santé et des cadres de santé. Elle est pilotée par un cadre de santé et un praticien hospitalier (PH) formés à la qualité. Elle a pour rôle de mettre en place une démarche qualité centralisée et harmonisée au niveau du Pôle : à cette époque

la démarche qualité des différents services est hétérogène. A l'issue d'une année, la commission qualité a demandé la création d'un poste de biologiste responsable qualité transversal pour le Pôle.

Le responsable assurance qualité (RAQ) nouvellement nommé est alors assisté par les deux pilotes de la commission qualité initiale et le COPIL qualité du pôle est désormais composé de :

- Un PH responsable qualité du pôle
- Un PH responsable qualité adjoint
- la cadre supérieure de Pôle responsable qualité adjoint

Le rôle du COPIL est de manager la qualité au sein du Pôle, de définir les axes stratégiques pour le Pôle en terme de qualité, d'accompagner les différents services dans leurs démarches individuelles, d'animer et d'organiser les réunions de la commission qualité. Cette commission a également organisé une formation, destinée au personnel médical et non médical, sur les exigences de la norme EN ISO 15189. Avant fin 2012, cent trente agents auront suivi cette formation. Cette commission se réunit toutes les six semaines et invite à chaque fois le directeur de pôle, les chefs de service, les cadres supérieurs de santé et les cadres de santé.

Des responsables et co-responsables qualité sont nommés dans chaque service. Ils ont tous suivis une formation sur le GBEA et sur la Norme EN ISO 15189.

Puis la constitution de la commission qualité a évolué, elle est constituée des responsables et co-responsables qualité de chaque service. Cette commission se réunit toutes les six semaines et invite à chaque fois le directeur de pôle, les chefs de service, les cadres supérieurs de santé et les cadres de santé.

Lors de ces réunions, la commission propose des objectifs pour le Pôle et définit un plan d'actions. La commission qualité participe et organise les plans d'audits internes.

Un logiciel de gestion documentaire de qualité transversal a été acheté par l'Hôpital

Dans chaque service, un responsable et un co-responsable qualité sont nommés par le chef de service. Ils ont tous suivis une formation sur le GBEA et sur la Norme EN ISO 15189. Leur rôle est de décliner la politique qualité du pôle au sein de chaque service.

En 2011, un pilote (un biologiste) et un co-pilote (un cadre de santé) pour le processus métrologie du Pôle ont été nommés ainsi que des responsables métrologie dans chaque service. Leur rôle est d'harmoniser la gestion de ce processus au sein du Pôle.

Par ailleurs, à partir du 1^{er} Octobre 2011, un poste de technicien à 100% dédié à la qualité a été ouvert au sein de l'IBC : une technicienne, ayant obtenu un DU qualité cette année, a été nommée sur ce poste.

Une première revue de direction a eu lieu au mois de Février de cette année et a fixé des objectifs pour l'année 2011.

1.2.2 Au niveau de l'Hématologie

Au sein de l'Hématologie, la qualité était gérée par le chef de service, assisté d'un biologiste diplômé d'un DU Qualité. Suite à son départ, il y a eu une période de latence sur la qualité. Compte tenu de ma formation au DU qualité, le chef de service m'a proposé de prendre le poste de co-responsable qualité.

Compte tenu de l'importance du travail à réaliser, le service d'Hématologie a priorisé les missions qualité :- constituer la base documentaire.

- libérer, à raison d'une journée par semaine, du temps technicien dédié à la qualité.

Le premier dossier d'accréditation pour Mai 2012 concernera la plateforme d'Hématologie Cytologie.

1.3 Choix du sujet de mémoire

Suite à l'arrivée des nouveaux analyseurs nous avons réalisé la validation de méthode de ces analyseurs, en réponse à la Norme 15189, validation qui « *correspond à une vérification des performances annoncées par le fabricant ou souhaitées par le laboratoire, lors de la mise en application (routine) dans son laboratoire du couple automate-réactif. Cette vérification confirme au laboratoire la validité des résultats attendus (« aptitude à l'emploi »), par rapports à ses propres besoins.* ».¹

Après concertation entre le chef de service et les autres biologistes du service, il semblait opportun que mon mémoire porte sur la vérification des performances analytiques des nouveaux analyseurs de cytologie. Compte-tenu du nombre d'analyseurs arrivant en même temps et la charge de travail, nous avons décidé de limiter le sujet de mon mémoire aux XE5000. Tous les analyseurs du service feront l'objet d'une vérification de méthode. J'ai reçue une habilitation pour effectuer la validation des méthodes des XE5000 (cf Annexe 2).

1.4 Objectifs

L'objectif principal de ce mémoire est de vérifier les analyseurs XE 5000 en vue d'une validation de méthode. Pour ce faire, nous avons établi, les biologistes et moi-même, un plan d'actions.

¹ SH GTA 04-rév.00-Chapitre 03 page 5

Plan d'actions

OBJECTIF PRINCIPAL	RESSOURCES HUMAINES	MATERIAUX	DELAI D'EXECUTION
Vérifier les analyseurs XE 5000 en vue d'une validation de méthode	Responsable Qualité Co-responsable Qualité Biologistes	CQI Fournisseurs Echantillons de patients XE5000, LH750	6 mois d'Avril à Septembre 2011
OBJECTIFS SECONDAIRES	RESSOURCES HUMAINES	MATERIAUX	DELAI D'EXECUTION
Définir les critères de performances attendues	Responsable Qualité Co-responsable Qualité Biologistes	Bibliographie : XE5000 et RICOS	1 mois: Avril 2011
Etablir le protocole de vérification des XE5000	Responsable Qualité Co-responsable Qualité Biologistes	SH GTA 04 : Guide technique d'accréditation de vérification (portée A)/Validation (portée B) des méthodes en Biologie Médicale.	1 mois: Avril 2011
Mettre en œuvre les expériences	Co-responsable Qualité Ingénieur d'application SYSMEX	CQI Fournisseurs Echantillons de patients XE 5000, LH 750	1 mois : Mai 2011
Faire la compilation et les statistiques des résultats obtenus	Co-responsable Qualité	Logiciel SYSMEX SH GTA 04	2 mois : Mai, Juin 2011
Rédiger le rapport de validation	Co-responsable Qualité Biologiste responsable du secteur d'Hématologie		2 mois : Août Septembre 2011
Approuver le rapport de validation	Biologiste responsable du secteur d'Hématologie Responsable Qualité		Septembre 2011

2-Méthodologie

2.1-Références et documents associés

Nous nous sommes référés au SH GTA 04 et à la Norme NF EN ISO 15189 pour définir les performances que nous avons vérifiées.

Le SH GTA 04 précise les informations à connaître par le laboratoire afin de définir la portée à choisir et le type de méthode (qualitative ou quantitative) que le laboratoire doit vérifier. Ici nous sommes dans le cas d'une méthode quantitative fournisseur dite adoptée donc de portée flexible A qui nécessite uniquement une vérification de performances sur site.

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site / Portée de type A
<i>Spécificité analytique</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
<i>Justesse (approche de la)</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui, dès que possible</i>
<i>Intervalle de mesure (Limite de quantification et limites de linéarité)</i>	<i>Oui</i>	<i>A vérifier si nécessaire</i>
Incertitudes /facteurs de variabilité et évaluation	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	<i>Oui</i>	<i>Oui, pour les paramètres sensibles</i>
Stabilité réactifs (après ouverture, embarqués)	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
Robustesse	<i>Non</i>	<i>Non</i>
Interférences (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments)	<i>Oui</i>	<i>A vérifier si nécessaire</i>
Valeurs de référence « ex- valeurs normales »	<i>Oui</i>	<i>A vérifier dès que possible, si justifié</i>
Comparaison avec une méthode de référence	<i>Oui (si existe)</i>	<i>Non</i>
Comparaison avec méthode déjà utilisée au LBM ou autre méthode du LBM (appareil en miroir, EBMD)	<i>Oui</i>	<i>Oui (si possible)</i>
Analyse des discordances	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude de la méthode ou du système analytique.		

« Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc), correctement identifiés et accessibles. »²

2.2 Le Plan d'actions

Nous avons choisi la méthode du **QOQCP** ? qui répond aux questions que l'on doit se poser pour effectuer la validation de méthode : **Qui** doit faire **Quoi** ? **Où** ? et pour les critères à vérifier **Quand** ? doit on le faire, **Comment** ? et **Pourquoi** ?

2.2.1 Le Qui ? Le Quoi ? Le Où ?

A partir des référentiels cités auparavant, il a été rédigé depuis quelques temps maintenant une procédure générale de validation de méthodes qui est actuellement en cours de révision (cf Annexe 3) Nous nous sommes appuyés sur ce document pour mettre en forme notre plan d'actions qui répond au **Qui** ?, **Quoi** ? et **Où** ?

Quoi ?	Qui?	Où ?
Bibliographie sur les automates	Technicienne	IBCore: secteur d'Hématologie
Détermination des critères de performances et limites d'acceptabilité	Biologiste responsable du secteur d'Hématologie	IBCore: secteur d'Hématologie
Rédaction du protocole de validation	Co-responsable Qualité	IBCore: secteur d'Hématologie
Approbation et validation du protocole de validation	Biologiste responsable du secteur d'Hématologie	IBCore: secteur d'Hématologie
Mise en œuvre des plans d'expériences	Co-responsable Qualité	IBCore: secteur d'Hématologie
Compilation et statistiques des résultats obtenus	Co-responsable Qualité	IBCore: secteur d'Hématologie
Rédaction du rapport de validation avec conclusions par rapport aux limites d'acceptabilités fixées initialement	Co-responsable Qualité Biologiste responsable du secteur d'Hématologie	IBCore: secteur d'Hématologie

² SH GTA 04-rév.00-Avril 2011-Chapitre 9.1.1-page 11

Quoi ?	Qui?	Où ?
Approbation du rapport de validation	Biologiste responsable du secteur d'Hématologie Responsable Qualité	IBCore: secteur d'Hématologie

2.2.2 Le Quand? Le Comment? Le Pourquoi?

A partir du SH GTA 04, nous avons défini point par point les critères qui étaient à vérifier en précisant Quand il était nécessaire de le faire, Comment? et Pourquoi?

(cf Annexe 4)

- **La répétabilité**

Quand?

La répétabilité doit être la première chose à vérifier avant toute mise en route d'une nouvelle technique quantitative. Elle a été effectuée selon les modalités données par le SH GTA 04.

Comment?

« 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 et réactifs, même instrument, même calibrateur. »³. En pratique on analyse l'échantillon plusieurs fois dans une même série et il est recommandé d'utiliser plusieurs niveaux de concentration (bas, moyen, élevé), ici en l'occurrence, nous avons décidé de faire les essais sur nos CQI. Nous avons utilisé les 3 niveaux de notre CQI que nous avons passé, en référence au SH GTA 04, 30 fois de suite chacun dans les mêmes conditions: même opérateur, même lot de réactifs et dans une même série.

L'exploitation des résultats consiste à déterminer la moyenne(m), l'écart type(σ) et le coefficient de variation (CV) des résultats obtenus.

$$m = \frac{\sum xi}{n} \qquad \sigma = \frac{\sqrt{\sum (xi - m)^2}}{n-1} \qquad CV = \frac{\sigma}{m} \times 100$$

Le coefficient de variation sera alors comparé prioritairement aux valeurs de référence indiquées par RICOS et éventuellement aux CV limites annoncés dans la notice d'utilisation fournisseur des XE5000.

³ SH GTA 04-rév.00-Avril 2011-Chapitre 11.1-page 15

Pourquoi?

L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible dans les conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système analytique

- **La reproductibilité (ou fidélité intermédiaire)**

Quand?

Comme la répétabilité, la reproductibilité doit être (dans la mesure du possible) évaluée avant la mise en route d'une nouvelle technique quantitative. Elle a été évaluée au mois de Juillet et Août selon les modalités décrites dans le SH GTA 04.

Comment?

« L'essai de reproductibilité (ou fidélité intermédiaire) consiste à analyser un même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs : l'opérateur, les lots de réactifs, les étalonnages »⁴

En pratique, on a utilisé les 3 niveaux du CQI qui ont été passés tous les jours par les techniciens au poste. Nous avons utilisé les 2 niveaux de notre CQI que nous avons passés chacun 2 fois par jour dans des conditions différentes et dans des modes différents (automatique et manuel) pendant 30 jours afin à minima 30 valeurs, chiffre préconisé par le SH GTA 04.

L'exploitation des résultats, tout comme la répétabilité, consiste à déterminer la moyenne (m_{fi}), l'écart type (σ_{fi}) et le coefficient de variation (CV_{fi}) des résultats obtenus.

$$m_{fi} = \frac{\sum xi}{n} \qquad \sigma_{fi} = \sqrt{\frac{\sum (xi - m)^2}{n - 1}} \qquad CV = \frac{\sigma}{m} \times 100$$

Le coefficient de variation sera alors comparé prioritairement aux valeurs de référence indiquées par RICOS et éventuellement aux CV limites annoncés dans la notice d'utilisation fournisseur des XE5000.

Pourquoi?

L'objectif est d'évaluer la fidélité en incluant des variables telles que l'opérateur et les lots de réactif, ce qui est représentatif du fonctionnement en routine.

La reproductibilité est évaluée régulièrement avec le passage quotidien de nos CQI à raison d'un passage des 2 niveaux en début de série (l'un en mode automatique et l'autre en mode manuel) et d'un autre passage des mêmes niveaux en fin de série.

⁴ SH GTA 04-rév.00-Avril 2011-Chapitre 11.2-page16

- **La justesse**

« La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essai et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnelle vraie, soit comme une valeur de référence acceptée. La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques. »⁵

Quand?

La justesse doit être évaluée de manière continue afin d'évaluer le biais de notre méthode

Comment?

D'après la SFBC, les échantillons retenus peuvent être ceux utilisés pour l'évaluation de la fidélité (répétabilité et reproductibilité) dont les valeurs cibles sont connues: moyennes des valeurs obtenues par plusieurs laboratoires (CIL :Comparaison Inter Laboratoires).

La justesse sera donc évaluée après quelques mois de fonctionnement en utilisant l'évaluation externe de nos CQI (EEQ) qui doit être mise en place au mois de Septembre 2011. L'exploitation des résultats de l'échantillon se fait par la quantification du biais qui existe entre notre moyenne obtenue par l'étude de la fidélité intermédiaire (m_{fi}) et la valeur cible (v) obtenue par la moyenne des différents laboratoires.

$$\text{Biais(\%)} = \frac{(m_{fi} - v)}{v} \times 100$$

Nous évaluerons la justesse environ tous les 2 mois ce qui correspond à la durée de vie de nos CQI.

Pourquoi?

L'évaluation de la justesse permet de mettre en évidence un biais éventuel de notre méthode ou entre nos deux méthodes.

- **L'incertitude de mesure**

Quand?

Le laboratoire doit déterminer l'incertitude sur les résultats quand c'est pertinent, c'est-à-dire surtout pour les valeurs proches d'un seuil décisionnel. Elle ne peut être faite qu'après l'étude de la fidélité et de la justesse.

⁵ Annales de Biologie Clinique 2010 ; 68 (Hors série n°1) :Qualité et accréditation en Biologie Médicale : SG2-07 :Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse-Module 2-page 261.

Comment?

Les deux composantes de l'approche de l'incertitude de mesure sont les paramètres de la fidélité (reproductibilité) d'une part et de justesse (biais) d'autre part.

Pour calculer cette approche nous ne prendrons en compte que ces deux composantes car dans notre cas il n'existe pas de composantes d'incertitude dues à un matériau de référence, à un étalonnage.

Ainsi notre incertitude de mesure (u_c) n'a que deux composantes : l'incertitude liée à la fidélité intermédiaire (u_1) et l'incertitude liée à la justesse (u_2).

$$u_1 = \sigma_{\text{repro}} \quad u_2 = \text{biais} / \sqrt{3}$$

σ_{repro} = écart type de reproductibilité

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$$

Il convient de calculer l'incertitude élargie U : $U = 2u_c$

L'incertitude élargie correspond à une erreur de 5% soit un rendu d'une valeur « vraie » à 95%. Le résultat analytique est alors exprimé selon la formule suivante :

R = valeur mesurée \pm U

Le nombre d'échantillons passés est celui qui est décrit pour l'évaluation de la reproductibilité d'une part et pour l'évaluation de la justesse d'autre part.

Pourquoi?

Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats dans l'éventualité d'une modification d'une thérapeutique ou d'une prise éventuelle de décision due au résultat rendu quand celui-ci est proche d'un seuil décisionnel.

L'incertitude de mesure ne sera évaluée qu'après la détermination de la justesse car elle en découle.

- **Evaluation de la contamination**

Quand?

Il y a plusieurs sortes de contamination qui peuvent entrer en compte :

- Contamination inter réactifs

L'évaluation est à faire quand le système automatisé utilise le même système de distribution pour les réactifs, ce qui n'est pas notre cas ici pour les XE5000 qui ne disposent pas de système de distribution de réactifs.

Contamination inter échantillons

L'évaluation est à faire sur tous les systèmes analytiques automatisés

Comment?

Une évaluation de contamination se fait de la façon suivante selon le SH GTA 04. Après rinçage de l'automate, un échantillon ayant une valeur élevée est analysé trois fois de suite (H1, H2, H3, de moyenne mH) suivi d'un échantillon ayant une valeur basse également analysé trois fois de suite (B1, B2, B3). Cette opération peut être renouvelée cinq fois de suite afin d'établir la moyenne des B1 (mB1) et la moyenne des B3 (mB3). De là le pourcentage de contamination entre les échantillons est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Contamination en \%} = \frac{(mB1 - mB3)}{(mH - mB3)} \times 100$$

Nous avons analysé nos échantillons en séquence comme nous l'avons décrit ci-dessus et nous avons fait cinq passages de cette séquence H1, H2, H3, B1, B2, B3 et ce pour chaque paramètre étudié.

Pourquoi?

Cette étude est nécessaire pour les paramètres sensibles et pour lesquels il existe des seuils décisionnels dans les valeurs basses qui pourraient engendrer une décision thérapeutique. Par exemple pour l'analyse quantitative des Globules Blancs chez un patient en aplasie, une contamination inter échantillon pourrait donner un résultat de Globules Blancs légèrement plus élevé que le résultat antérieur et faire penser à une sortie d'aplasie du patient.

- **Evaluation de la limite de détection**

Il s'agit du plus petit signal exprimé en quantité qui peut être distingué avec une probabilité donnée d'un blanc. La limite de détection est l'analyse statistique de la différence des signaux observés pour les blancs et les échantillons.

Quand?

Elle est nécessaire pour les paramètres dont la valeur normale physiologique est zéro ou proche de zéro comme l'hémoglobine plasmatique ainsi que les Globules Blancs dans les liquides divers tels que les liquides d'ascite, pleuraux, articulaires,

Comment?

La limite de détection s'effectue en passant une série de blancs (ici le diluant) dans une même série, ce qui revient à faire une répétabilité sur le blanc. On calcule alors la moyenne m_b et l'écart type σ_b .

La limite de détection peut être calculée selon la formule suivante:

$$\underline{\text{Limite de détection}} = m_b + (3 \times \sigma_b)$$

Pour évaluer la limite de détection nous avons passé, selon les recommandations du SH GTA 04, 30 fois un blanc (diluant) dans une même série.

Pourquoi?

La limite de détection permet de déterminer la valeur la plus basse que peut rendre l'analyseur, valeur en dessous de laquelle nous ne pourrions pas répondre de valeur.

- **Evaluation du seuil de quantification**

Le seuil de quantification est la plus petite valeur qui peut être répondue pour un paramètre par l'automate avec un niveau de confiance acceptable et d'incertitude connue.

Quand?

Il est judicieux de déterminer le seuil de quantification quand on mesure un paramètre qui a de très faibles taux a un intérêt diagnostic (par exemple : hémoglobine plasmatique et globules blancs dans les liquides divers: ascites, pleuraux, par exemple).

Comment?

Le seuil de quantification peut être évalué de deux manières :

- ① $\text{Seuil de quantification} = m_b + (10 \times \sigma_b)$ (σ_b qui est évalué lors de la détermination de la limite de détection)
- ② Le seuil de quantification peut être évalué en effectuant des dilutions d'un étalon ou du CQI le plus bas avec le diluant selon le schéma suivant : 100+0 ; 90+10 ; 80+20 ; ... ; 10+90 ; 0+100. soit 11 échantillons mesurés chacun 10 fois dans une même série. Pour chaque série des différentes dilutions, on calcule la moyenne, l'écart type (σ), le coefficient de variation (CV) et l'écart de la moyenne (m) à la valeur théorique

A partir de la courbe des CV, en fonction des concentrations, est déterminée la concentration correspondant à un CV de 10% et représentant la limite de quantification.

Nous avons pris l'initiative d'adapter le protocole cité ci-dessus aux différents paramètres étudiés de la numération globulaire en fonction de leurs valeurs critiques et décisionnelles pour la prise en charge du patient (cf Annexe 5).

Il a été décidé d'effectuer les deux méthodes d'évaluation du seuil de quantification puis de discuter les résultats obtenus.

Pourquoi?

Le seuil de quantification permet de connaître la plus petite valeur fiable qui peut être rendue par notre analyseur pour l'échantillon d'un patient.

- **Evaluation de la limite supérieure de linéarité**

Ce point n'étant pas obligatoire, nous avons choisi de ne pas vérifier les limites supérieures de linéarité des paramètres rendus par les analyseurs car ces limites se trouvent à un niveau largement au dessus des valeurs rencontrées dans notre laboratoire.

- **Interférences**

Ce point n'étant pas obligatoire, nous avons choisi de ne pas le vérifier et de nous référer à la documentation du fournisseur.

- **Intervalle de références**

Ce point sera vérifié après l'utilisation de notre nouvelle méthode pendant quelques mois.

- **Comparaison de méthodes**

Quand?

La comparaison de méthode, en référence au SH GTA 04, ne peut intervenir qu'après la vérification de la répétabilité, de la fidélité intermédiaire, de la justesse, de la limite de détection et/ou du seuil de quantification et des limites de linéarité.

Ici par contrainte d'un planning serré dû à retard d'installation de la chaîne analytique Sysmex, nous ne pourrons pas vérifier tous ces éléments, hormis la répétabilité, avant le passage en routine des automates.

Comment?

Pour comparer deux méthodes analytiques, il suffit de passer des échantillons de patients couvrant le domaine physiopathologique rencontré au laboratoire et de les analyser en simple par les deux méthodes comparées dans les délais les plus courts.

Ensuite les résultats sont examinés au fur et à mesure. On vérifie s'il ya des discordances, si oui elles ne doivent pas excéder les limites de suivies préétablies comme suit :

$$\underline{\text{Limites de suivi}} = \pm \sqrt{(3\sigma \text{ FI technique testée})^2 + (3\sigma \text{ FI technique de comparaison})^2}$$

FI= écart type de la fidélité intermédiaire des CQI

Si $\sigma_{\text{FI technique testée}} = \sigma_{\text{FI technique de comparaison}} = \sigma$

Alors les limites de suivi = $\pm 4.24 \sigma$

On établit à partir des valeurs x_i et y_i obtenues par les méthodes X et Y :

Le graphe des rapports (x_i/y_i) en fonction de x_i

Le graphe des différences ($x_i - y_i$) en fonction de x_i

Graphes sur lesquels sont reportées les limites de suivi retenues auparavant.

On note alors s'il y a lieu les points discordants et on en recherche la cause si elle persiste après vérification (interférences....)

On établit aussi le graphe x_i en fonction de y_i afin d'obtenir l'équation de la droite de régression dont la pente et l'ordonnée exprimeront la similitude des deux méthodes comparées. Si la pente est proche ou égale à 1 et que l'ordonnée à l'origine est proche ou égale à 0 alors les deux méthodes sont similaires.

Si l'on met en évidence des différences significatives nous en informerons les cliniciens et modifierons les valeurs de références afin que ceux-ci prennent en compte ces différences lors d'éventuelles décisions thérapeutiques.

En Hématologie, nous travaillons depuis 7 ans avec 3 Automates LH 750 de Beckman-Coulter. Au moment de l'arrivée des LH750 en Hématologie les exigences en terme de validation de méthode n'étant pas les mêmes qu'aujourd'hui nous n'avons pas conservé les essais de comparaison qui ont été réalisés. Nous avons décidé de prendre un des trois LH750 pour pouvoir effectuer la comparaison avec les 2 XE5000.

Sur ces 3 LH750, nous en avons un (appelé LH1) qui est destiné exclusivement aux gardes de nuit et de week-end l'après midi donc celui-ci n'a pas été retenu et nous en avons un autre (appelé LH3) qui depuis quelque mois nous pose régulièrement des problèmes de

fonctionnement et de pannes régulières donc il n'a pas non plus été retenu. De ce fait c'est le LH2 qui nous paraît le plus fiable techniquement qui a été retenu pour effectuer la comparaison avec les XE5000.

De même, nous avons comparé les modes automatiques et les modes manuels de chaque XE5000 et nous avons comparé les deux XE5000 entre eux en mode automatique.

Nous avons comparé nos méthodes avec environ 40 échantillons sélectionnés de la façon suivante : 20 échantillons pris au hasard dans des valeurs moyennes.

10 échantillons dont les paramètres principaux de l'hémogramme (Globules Blancs, Globules Rouges, Hémoglobine, Plaquettes) sont dans les valeurs basses

10 échantillons dont les paramètres principaux de l'hémogramme sont dans les valeurs hautes.

Pourquoi?

Tout d'abord cette comparaison permet au biologiste d'affirmer ou d'infirmer si la nouvelle méthode correspond bien à ses attentes, si ce n'est pas le cas il peut rejeter la méthode. Dans notre cas cette comparaison a été faite pour mettre en évidence des écarts significatifs sur certains paramètres, auquel cas le biologiste peut alors modifier les intervalles de références de ces paramètres et en informer les cliniciens pour que ceux-ci adaptent leur prise de décision.

Les comparaisons faites sur les XE5000 nous paraissent importantes car nous les utilisons indifféremment l'un comme l'autre et dans les deux modes de passage d'un échantillon.

2.3-Synthèse

Les Biologistes m'ont accordé toute leur confiance pour élaborer le protocole de vérification des XE5000. Pour établir ce protocole, je me suis appuyée sur le SH GTA 04 ainsi que sur la documentation des XE5000. Comme je l'ai expliqué dans ma méthodologie, il a fallu adapter le protocole décrit dans le SH GTA 04 pour les paramètres d'Hématologie notamment pour l'évaluation du seuil de quantification. Ce protocole a été étudié et validé par les Biologistes (cf Annexe 6).

L'installation des nouveaux automates dans les secteurs de Biochimie et d'Hématologie du quotidien 24H/24 a été un énorme changement pour l'IBC, tant sur le plan de l'organisation du travail que sur celui des habitudes de travail. Le Tsunami du Japon a retardé le démarrage des analyseurs de Biochimie et a eu pour conséquence un retard dans l'installation des chaînes d'Hématologie. A la suite de ce dysfonctionnement une action corrective a été mise en place, à savoir la modification du plan d'actions initial (voir tableau page 7 et annexe 7). Le nouveau plan d'action élaboré ne suit pas dans la totalité les

recommandations du SH GTA 04. En effet, les tests de répétabilité et les comparaisons de méthode ont pu être effectués avant la mise en production des analyseurs, et les autres critères ont été vérifiés après le passage en production. Cette décision a été prise après concertation des biologistes, en prenant en considération ce qui leur paraissait le plus important à vérifier. Il faut savoir que les résultats des comparaisons de méthode ont été étudiés dans un premier temps sans normes de suivi par manque d'écart type de la reproductibilité.

3-Synthèse des résultats

3.1-La Répétabilité

La répétabilité a été vérifiée pendant les semaines 20 et 21. La réception tardive et incomplète du kit de validation de Sysmex a engendré d'autres retards sur la vérification de la répétabilité. Je n'ai pas pu vérifier la répétabilité du XE A2327 sur le niveau bas du CQI en mode manuel avant la mise en production.

Mode automatique XE A2327 (XE2)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,84	1,71	0,88	3	1,95	3,91	5,86	OUI
Globules Rouges (T/L)	0,84	0,80	0,75	1.5	0,6	1,20	1,6	OUI
Globules Rouges Optique (T/L)	1,32	1,04	1,26	Non fourni	Non fourni			OUI
Hémoglobine (g/dL)	1,28	0,50	0,66	1	0,53	1,05	1,58	OUI
Hématocrite	0,86	0,84	0,79	1.5	0,53	1,05	1,58	OUI
Plaquettes (G/L)	3,91	2,66	1,33	4	1,71	3,42	5,13	OUI
Plaquettes Optiques (G/L)	3,53	2,44	1,31	Non fourni	Non fourni			OUI
Réticulocytes (G/L)	2,83	3,27	6,04	15	2,07	4,14	6,2	OUI
Erythroblastes (G/L)	12,89	6,57	3,57	25	NA	NA	NA	OUI
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	4,07	2,61	1,68	8	3,03	6,05	9,08	OUI
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	9,52	7,90	6,57	25	3,95	7,89	11,84	OUI
Polynucléaires Basophiles (G/L)	3,64	2,40	1,21	40	5,26	10,53	15,79	OUI
Lymphocytes (G/L)	5,35	2,93	2,43	8	1,95	3,91	5,86	OUI
Monocytes (G/L)	9,53	5,73	4,42	20	3,35	6,69	10,04	OUI

Mode Manuel XE A2327 (XE2)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,55	1,78	1,61	3	1,95	3,91	5,86	OUI
Globules Rouges (T/L)	0,61	0,86	0,44	1.5	0,6	1,2	1,6	OUI
Globules Rouges Optique (T/L)	1,28	1,55	2,02	Non fourni	Non fourni			OUI
Hémoglobine (g/dL)	0,95	0,64	0,61	1	0,53	1,05	1,58	OUI
Hématocrite	0,64	0,88	0,48	1.5	0,53	1,05	1,58	OUI
Plaquettes (G/L)	3,57	1,49	1,06	4	1,71	3,42	5,13	OUI
Plaquettes Optiques (G/L)	3,6	2,25	2,47	Non fourni	Non fourni			OUI
Réticulocytes (G/L)	2,27	2,89	5,38	15	2,07	4,14	6,2	OUI
Erythroblastes (G/L)	11,12	6,77	3,98	25	NA	NA	NA	OUI
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	4,15	2,5	2,99	8	3,03	6,05	9,08	OUI
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	8,12	8,19	6,66	25	3,95	7,89	11,84	OUI
Polynucléaires Basophiles (G/L)	3,06	2,42	1,63	40	5,26	10,53	15,79	OUI
Lymphocytes (G/L)	5,01	3,23	4,08	8	1,95	3,91	5,86	OUI
Monocytes (G/L)	9,77	5,12	4,63	20	3,35	6,69	10,04	OUI

Mode Automatique XE A2326 (XE1)

Paramètres	CV Obtenus %			CV fournisseurs %	CV RICOS %			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,54	1,96	0,88	3	1,95	3,91	5,86	OUI
Globules Rouges (T/L)	0,87	0,63	0,75	1.5	0,6	1,20	1,6	OUI
Globules Rouges Optique (T/L)	1,3	1,2	1,26	Non fourni	Non fourni			OUI
Hémoglobine (g/dL)	0,33	0,52	0,66	1	0,53	1,05	1,58	OUI
Hématocrite	0,92	0,67	0,77	1.5	0,53	1,05	1,58	OUI
Plaquettes (G/L)	4,23	1,83	1,33	4	1,71	3,42	5,13	OUI
Plaquettes Optiques (G/L)	4,12	2,21	1,31	Non fourni	Non fourni			OUI
Réticulocytes (G/L)	2,83	2,62	6,04	15	2,07	4,14	6,20	OUI
Erythroblastes (G/L)	9,79	6,37	3,57	25	NA	NA	NA	OUI
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	3,98	3,09	1,68	8	3,03	6,05	9,08	OUI
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	7,96	7,85	6,57	25	3,95	7,89	11,84	OUI
Polynucléaires Basophiles (G/L)	3,14	2,93	1,21	40	5,26	10,53	15,79	OUI
Lymphocytes (G/L)	4,43	2,92	2,43	8	1,95	3,91	5,86	OUI
Monocytes (G/L)	7,68	5,45	4,42	20	3,35	6,69	10,04	OUI

Mode Manuel XE A2326 (XE1)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,81	1,74	1,35	3	1,95	3,91	5,86	OUI
Globules Rouges (T/L)	0,90	0,62	0,53	1.5	0,6	1,20	1,6	OUI
Globules Rouges Optique (T/L)	1,21	1,64	2,28	Non fourni	Non fourni			OUI
Hémoglobine (g/dL)	0,62	0,54	0,34	1	0,53	1,05	1,58	OUI
Hématocrite	0,82	0,71	0,53	1.5	0,53	1,05	1,58	OUI
Plaquettes (G/L)	4,01	1,91	1,35	4	1,71	3,42	5,13	OUI
Plaquettes Optiques (G/L)	4,73	3,14	2,73	Non fourni	Non Fourni			OUI
Réticulocytes (G/L)	2,83	3,59	4,54	15	2,07	4,14	6,20	OUI
Erythroblastes (G/L)	13,04	6,73	4,18	25	NA	NA	NA	OUI
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	4,14	2,72	2,41	8	3,03	6,05	9,08	OUI
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	6,95	7,66	5,1	25	3,95	7,89	11,84	OUI
Polynucléaires Basophiles (G/L)	4,09	1,94	1,71	40	5,26	10,53	15,79	OUI
Lymphocytes (G/L)	4,58	3,15	2,78	8	1,95	3,91	5,86	OUI
Monocytes (G/L)	10,81	6,58	4,57	20	3,35	6,69	10,04	OUI

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que les tests de répétabilité répondent bien aux exigences que nous nous étions fixées au préalable. Cependant, il y a un point qu'il nous a fallu expliquer. En effet, le XE 5000 propose une technologie assez innovante qui consiste à pouvoir effectuer un deuxième compte des Globules Rouges et des Plaquettes sur un canal appelé Canal Optique. Le paramètre appelé les Globules Rouges Optiques est assimilé à un paramètre de recherche que nous pourrions être amenés à répondre lors de détection d'interférences sur un échantillon par des Agglutinations des Globules Rouges à froid. Hors la société Sysmex ne fournit aucun CV pour ces paramètres.

Pour les GR Optiques, les résultats de CV (CV<3%) obtenus sont considérés comme tout à fait acceptables, n'ayant aucun impact sur le suivi du patient et vu que ce paramètre de recherche est réservé à des situations particulières et rares, les biologistes ont décidé de valider la répétabilité des GR optiques. Ainsi, le critère d'acceptabilité des GR Optiques pour la répétabilité est : CV<3%. Le paramètre appelé Plaquettes Optiques est aussi assimilé à un paramètre de recherche que nous répondons lors de la détection d'interférences (Plaquettes géantes, présence de Schizocytes) pouvant fausser le chiffre de Plaquettes répondu par défaut (Plaquettes comptées par Impédance). Le CV des Plaquettes Optiques ne dépasse pas le CV des plaquettes comptées en Impédance et donc les biologistes ont décidé de valider la répétabilité de ce paramètre et de définir comme CV le même que celui des Plaquettes comptées par Impédance. Ainsi, le critère d'acceptabilité des Plaquettes Optiques pour la répétabilité est : CV<4%

3.2 La Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire a été vérifiée durant les mois de Juillet et d'Août lors du travail en routine de nos automates afin d'avoir les 30 valeurs préconisées par le Cofrac.

Mode Automatique XE A2326 (XE1)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	%	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,95	1,66		3.99	1,95	3,91	5,86	oui
Globules Rouges (T/L)	0,73	0,62		2	0,6	1,20	1,6	oui
Globules Rouges Optique (T/L)	1,27	0,95		Non fourni	Non fourni			oui
Hémoglobine (g/dL)	0,62	0,6		1.33	0,53	1,05	1,58	oui
Hématocrite	1,16	1,27		2	0,53	1,05	1,58	oui
Plaquettes (G/L)	3,7	2,05		5.32	1,71	3,42	5,13	oui
Plaquettes Optiques (G/L)	3,01	2,3		Non fourni	Non fourni			oui
Réticulocytes (G/L)	2,97	3,52		19.95	2,07	4,14	6,2	oui
Erythroblastes (G/L)	12,64	5,79		33.25	NA	NA	NA	oui
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	3,7	2,92		10.64	3,03	6,05	9,08	oui
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	7,84	8,54		33.25	3,95	7,89	11,84	oui
Polynucléaires Basophiles (G/L)	3,64	2,18		53.20	5,26	10,53	15,79	oui
Lymphocytes (G/L)	4,85	2,39		10.64	1,95	3,91	5,86	oui
Monocytes (G/L)	10,41	4,61		26.60	3,35	6,69	10,04	oui

Mode Manuel XE A2326 (XE1)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	3,27	1,61		3.99	1,95	3,91	5,86	oui
Globules Rouges (T/L)	0,76	0,66		2	0,6	1,20	1,6	oui
Globules Rouges Optique (T/L)	1,20	1,47		Non fourni	Non fourni			oui
Hémoglobine (g/dL)	0,68	0,52		1.33	0,53	1,05	1,58	oui
Hématocrite	1,37	1,06		2	0,53	1,05	1,58	oui
Plaquettes (G/L)	4,08	1,9		5.32	1,71	3,42	5,13	oui
Plaquettes Optiques (G/L)	3,71	3,22		Non fourni	Non fourni			oui
Réticulocytes (G/L)	2,71	3,26		19.95	2,07	4,14	6,2	oui
Erythroblastes (G/L)	12,18	5,75		33.25	NA	NA	NA	oui
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	3,56	2,58		10.64	3,03	6,05	9,08	oui
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	10,66	6,58		33.25	3,95	7,89	11,84	oui
Polynucléaires Basophiles (G/L)	3,84	1,89		53.20	5,26	10,53	15,79	oui
Lymphocytes (G/L)	4,49	2,4		10.64	1,95	3,91	5,86	oui
Monocytes (G/L)	7,19	4,21		26.60	3,35	6,69	10,04	oui

Mode Automatique XE A2327 (XE2)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,65	1,81		3.99	1,95	3,91	5,86	OUI
Globules Rouges (T/L)	0,82	0,91		2	0,6	1,20	1,6	OUI
Globules Rouges Optique (T/L)	1,09	1,22		Non fourni	Non fourni			OUI
Hémoglobine (g/dL)	0,45	0,58		1.33	0,53	1,05	1,58	OUI
Hématocrite	1,28	1,17		2	0,53	1,05	1,58	OUI
Plaquettes (G/L)	3,96	1,96		5.32	1,71	3,42	5,13	OUI
Plaquettes Optiques (G/L)	2,03	5,31		Non fourni	Non fourni			OUI
Réticulocytes (G/L)	3,01	2,77		19.95	2,07	4,14	6,2	OUI
Erythroblastes (G/L)	10,92	5,54		33.25	NA	NA	NA	OUI
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	3,97	3,06		10.64	3,03	6,05	9,08	OUI
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	7,48	7,45		33.25	3,95	7,89	11,84	OUI
Polynucléaires Basophiles (G/L)	2,3	2,60		53.20	5,26	10,53	15,79	OUI
Lymphocytes (G/L)	3,05	2,74		10.64	1,95	3,91	5,86	OUI
Monocytes (G/L)	7,57	5,04		26.60	3,35	6,69	10,04	OUI

Mode Manuel XE A2327 (XE2)

Paramètres	CV Obtenus			CV fournisseurs %	CV RICOS			Acceptation
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau élevé		optimal	souhaitable	minimal	
Globules Blancs (G/L)	2,95	1,87		3.99	1,95	3,91	5,86	OUI
Globules Rouges (T/L)	0,81	0,72		2	0,6	1,2	1,60	OUI
Globules Rouges Optique (T/L)	1,57	1,12		Non fourni	Non fourni			OUI
Hémoglobine (g/dL)	0,45	0,59		1.33	0,53	1,05	1,58	OUI
Hématocrite	0,88	0,95		2	0,53	1,05	1,58	OUI
Plaquettes (G/L)	3,6	2,18		5.32	1,71	3,42	5,13	OUI
Plaquettes Optiques (G/L)	4,11	2,82		Non fourni	Non fourni			OUI
Réticulocytes (G/L)	2,8	3,36		19.95	2,07	4,14	6,2	OUI
Erythroblastes (G/L)	9,73	7,43		33.25	NA	NA	NA	OUI
Polynucléaires Neutrophiles (G/L)	3,62	2,96		10.64	3,03	6,05	9,08	OUI
Polynucléaires Eosinophiles (G/L)	9,87	8,42		33.25	3,95	7,89	11,84	OUI
Polynucléaires Basophiles (G/L)	3,35	2,39		53.20	5,26	10,53	15,79	OUI
Lymphocytes (G/L)	3,46	2,97		10.64	1,95	3,91	5,86	OUI
Monocytes (G/L)	9,41	6,04		26.60	3,35	6,69	10,04	OUI

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que les tests de répétabilité répondent bien aux exigences que nous nous étions fixées au préalable. Et comme pour la répétabilité, les GR Optiques et les Plaquettes Optiques sont validés par les biologistes pour les mêmes raisons et ils ont défini les mêmes critères d'acceptabilité. Ainsi, le critère d'acceptabilité des Plaquettes Optiques pour la reproductibilité est : $CV < 5.32\%$ et le critère d'acceptabilité des GR Optiques pour la répétabilité est : $CV < 4\%$

3.3-La comparaison des 2 XE5000

J'ai effectué en parallèle la comparaison du mode manuel et du mode automatique de chaque XE 5000 (cf Annexe 9 et 10) et la comparaison des deux XE 5000 en mode automatique (cf Annexe 11), afin de montrer que ces deux automates donnent des résultats similaires, que l'échantillon de sang soit passé en mode manuel ou en mode automatique sur l'un ou l'autre analyseur.

Nous nous sommes réunis, les biologistes et moi-même, au mois d'Août afin de discuter des résultats obtenus.

Comparaison du XE1 mode manuel vs mode automatique (cf Annexe 9)

Globalement, les deux modes de passage sur le XE1 rendent des résultats similaires. Toutefois, nous avons observé quelques écarts sur quatre paramètres : les Globules Blancs, l'Hémoglobine (Hb), les Lymphocytes et les Monocytes.

- **GB** : Nous avons une dizaine de points qui sortent des limites de suivi (cf Annexe 9, graphe des différences des GB). Il y a 6 points qui sont très proches des limites et dont l'écart entre le mode manuel et automatique est de 1.5 G/L au maximum et 2 points dont l'écart est entre 2 et 3 G/L de GB. Ces différences sont observées pour des GB supérieurs à 20 G/L. Ces discordances sont à replacer dans le contexte et à moduler par le taux souvent élevé des GB et du faible retentissement de ces différences sur le suivi et la prise en charge du patient. (cf Annexe 9, points rouges, graphe des différences).
- **Hb** : Nous observons, sur le graphe des différences, cinq points qui sortent de très peu des limites et avec des différences de taux d'hémoglobine modérées (au maximum 0.4g/dL de différence).(cf Annexe 9, graphe des différences)
- **Lymphocytes et Monocytes** : Pour ces deux paramètres les discordances sont modérées pour les 3 à 5 points sortant des limites de suivi, sauf pour un point (point rouge) dont la différence est de 1.58 G/L pour les lymphocytes et de 0.72 G/L pour les monocytes. Après observation des feuilles de résultats correspondantes, ce patient avait un nombre de GB élevé avec une différence de 2 G/L entre le mode

manuel et automatique ce qui joue sur la valeur de nos lymphocytes et de nos monocytes. De plus, l'automate a déclenché des alarmes qualitatives sur le résultat de cette formule sanguine qui aurait déclenché une quantification manuelle de la formule sanguine.

La conclusion de cette comparaison est satisfaisante au regard des résultats obtenus.

Comparaison du XE2 mode manuel vs mode automatique (cf Annexe 10)

Les résultats de cette comparaison sont relativement similaires à ceux trouvés par le XE1, il en ressort les mêmes discordances pour les mêmes échantillons sur les GB, les Lymphocytes, les Monocytes et la Myélémie (IG). Les biologistes en ont tiré les mêmes conclusions que précédemment pour le XE1.

Nous avons observé d'autres écarts :

- **GR** : Nous avons observé un point qui sort des limites de suivi (cf Annexe 10 point rouge). Cet écart est modéré (0.20 T/L pour des GR à 5.49 T/L) et n'a aucun retentissement sur la prise d'éventuelles décisions thérapeutiques.
- **GR Optiques** : Nous avons observé des écarts encore là modérés et n'ayant pas d'impact sur la prise en charge du patient, d'autant plus que ce paramètre est un paramètre de recherche très peu répondu comme nous l'avons déjà expliqué. Toute fois, nous avons remarqué un écart systématique qui montre que le mode manuel rend des valeurs de GR Optiques toujours légèrement plus élevées. Pour palier à cela nous avons demandé au fournisseur de régler l'automate.
- **Plaquettes** : Nous avons observé un point discordant dont l'écart n'est pas significatif car il se situe dans des valeurs très en de çà des valeurs normales et n'entraîne pas de modification d'attitude thérapeutique (cf Annexe, 10 point rouge). La conclusion de cette comparaison est satisfaisante au regard des résultats obtenus.

Comparaison des XE1 et XE2 en mode automatique (cf Annexe 11)

Nous avons observé les mêmes écarts pour le même échantillon sur les Lymphocytes et les Monocytes et les biologistes sont arrivés aux mêmes conclusions.

De cette comparaison, il est ressorti qu'il y avait deux paramètres à vérifier :

- Les GR optiques qui sont systématiquement plus élevés sur le XE1 mais de façon modérée.
- L'Hémoglobine qui est systématiquement plus faible sur le XE1 mais là aussi de façon modérée.

Les biologistes ont considéré que ces écarts n'auraient pas d'impacts sur le suivi des patients et donc ne retarderaient pas la mise en routine des analyseurs. Suite à ce dysfonctionnement, une action corrective a été mise en place : nous avons demandé qu'un

réglage des automates soit effectué. J'ai vérifié à nouveau ces paramètres fin Août. Il en ressort toujours une dérive systématique des GR optiques sur le XE1. Une nouvelle intervention de la part du fournisseur a été demandée.

Après exploitation des résultats, nous avons observé une bonne corrélation.

Suite à cette démonstration de corrélation entre les deux XE 5000, nous avons décidé de choisir le XE 5000 A2326 (XE1) comme automate de référence pour effectuer les autres critères de vérification (contamination, seuil de quantification et limite de détection)

3.4 La contamination inter-échantillons

L'évaluation de la contamination inter-échantillon n'a été effectuée que sur le XE A2326 (XE1) en mode manuel.

J'ai obtenu des résultats tous inférieurs à 1,5% en pourcentage de contamination (cf tableau ci-dessous), ce qui est tout à fait négligeable. Toutefois, en ce qui concerne les Globules Blancs le pourcentage de contamination est de 0,11% ce qui donne une contamination de 0,1 G/L sur notre résultat si notre échantillon est précédé d'un autre échantillon contenant 100 G/L. Ainsi, les biologistes ont décidé de contrôler par deuxième passage tout échantillon ayant des Globules Blancs inférieurs à 1 G/L qui est précédé d'un échantillon ayant des Globules Blancs supérieurs à 100 G/L afin d'éliminer cette petite contamination qui dans des chiffres très bas de Globules Blancs peut être significative pour le suivi du patient.

Cela signifie que nous pouvons rendre les résultats de l'automate pour nos échantillons sans tenir compte des résultats des échantillons précédents hormis ceux des Globules Blancs pour les raisons expliquées ci-dessus.

Paramètres étudiés	Contamination %
Globules Blancs G/L	0,11
Globules Rouges T/L	0,33
Globules Rouges Optiques T/L	1,42
Hémoglobine g/dL	0,19
Hématocrite L/L	0,20
Plaquettes G/L	0,11
Plaquettes Optiques G/L	0,62
Réticulocytes	0,39

3.5 Evaluation de la limite de détection

D'après les résultats obtenus, la limite de détection pour tous les paramètres étudiés est à zéro.

Cela signifie que nous pouvons répondre zéro sur un paramètre si l'automate nous le rend à zéro.

Paramètres étudiés	Moyenne (m)	Ecart type	Limite de détection	Seuil de quantification
Globules Blancs G/L	0	0	0 G/L	0 G/L
Globules Rouges T/L	0	0	0 T/L	0 T/L
Hémoglobine g/dL	0	0	0 g/dL	0 g/dL
Hématocrite %	0	0	0	0
Plaquettes G/L	0	0	0 G/L	0 G/L
Réticulocytes	0	0	0 G/L	0 G/L

Limite de détection = $m + 3 \times \text{écart type}$

3.6 Evaluation du seuil de quantification

Les résultats obtenus nous ont beaucoup étonnés et ont engendré des questions sur les actions à mettre à place.

En effet, si on évalue le seuil de quantification à partir de l'écart type de la limite de détection, on obtient un seuil de quantification à zéro pour tous nos paramètres.

Par contre, si l'on évalue le seuil de quantification par la méthode des dilutions, alors le seuil de quantification de chaque paramètre étudié est différent de zéro et nous impose de définir les valeurs en dessous desquelles nous ne pouvons plus répondre les résultats de l'automate.

Evaluation par dilution du CQI niveau bas			
Paramètres étudiés	Dilution maximale du CQI niveau bas afin d'obtenir un CV < 10%	CV Obtenus	Valeurs minimales pouvant être répondues
Globules Blancs G/L (GB)	10%	9,58	0,3 G/L
Globules Rouges T/L (GR)	0%	0	0 T/L
Hémoglobine g/dL (Hb)	5%	0	0,3 g/dL
Hématocrite % (Hte)	0%	0	0
Plaquettes G/L (PLT)	10%	8,75	6 G/L
Plaquettes Optiques G/L (PLTop)	50%	4,23	30 G/L
Réticulocytes (RET)	20%	8,04	2,136 G/L

Actions mises en place			
Si $0 < GB < 0,3$ G/L	répondre	GB < 0,3 G/L	
Si GR=0 T/L	répondre	GR=0 T/L	
Si $0 < Hb < 0,3$ g/dL	répondre	Hb < 0,3 g/dL	
Si Hte=0 %	répondre	Hte=0 %	
Si $0 < PLT < 6$ G/L	répondre	PLT < 6 G/L	
Si $0 < PLT Op < 30$ G/L	répondre	PLT Op < 30 G/L	
Si $0 < RET < 2,15$ G/L	répondre	RET < 2,15 G/L	

3.7 La comparaison du XE 5000 et du LH750

J'ai comparé le XE5000 A2326 au LH750 AG42602 en mode automatique comme nous l'avons décrit précédemment dans la méthodologie avec une quarantaine d'échantillons patients.

Après synthèse des résultats, il ne ressort pas de différences significatives entre les deux automates qui aurait conduit les biologistes à avertir les services cliniques à ce sujet, hormis deux écarts mis en évidence sur les paramètres plaquettaires que sont le Volume Moyen Plaquettaire (VMP) et l' Indice de Distribution Plaquettaire (IDP) pour lesquels les biologistes ont suspendu temporairement un rendu de résultat, le temps de recalculer les valeurs de références de ces deux paramètres.(cf Annexe 12)

Afin d'avoir une centaine de valeurs comme le préconise le COFRAC, nous avons décidé de sélectionner des patients exempts de pathologie.

A partir de ces résultats, nous suivrons la méthodologie décrite dans le SH GTA 04⁴. Nous nous sommes fixés la fin de l'année pour recalculer ces valeurs de référence.

3.8 Synthèse

Tous les critères vérifiés répondent aux exigences que nous avons établies initialement. Il nous reste d'autres critères à évaluer ainsi que les procédures et les modes opératoires, se référant à la méthode, à écrire afin de nous assurer du bon fonctionnement et de la bonne utilisation des analyseurs.

Nous avons alors défini les objectifs à venir :

Quoi ?	Matériaux	Qui ?	Date d'échéance
Ecrire les Modes Opérateurs des nouveaux analyseurs	Guide d'utilisation des XE5000	Techniciens référents analyseurs	Décembre 2011
Ecrire la Procédure de gestion des CQI	LAB GTA 06	Co-responsable qualité Techniciens référents analyseurs	Décembre 2011
Ecrire la Procédure de gestion de la portée flexible A	SH GTA 04	Responsable qualité Biologistes	Décembre 2011
Evaluer de la justesse	EEQ des CQI	Co-responsable qualité	Février 2012
Evaluer de l'incertitude de mesure	Justesse Reproductibilité	Co-responsable qualité	Mars 2012
Remplir le SH FORM 43	Résultats de la vérification des XE5000	Biologistes Responsable qualité Co-responsable qualité	En cours (Annexe 12) Fin pour Mars 2012

Nos nouveaux analyseurs sont maintenant vérifiés mais nous devons nous assurer au quotidien de leur bon fonctionnement. Pour cela, nous suivrons les CQI passés quotidiennement avec une externalisation des résultats (EEQ des CQI) et il y a l'évaluation externe de nos automates tous les deux mois.

4 Conclusion et perspectives

A ce jour l'objectif principal « vérifier les XE5000 en vue de la validation de méthode », est atteint.

Ce travail, réalisé dans le cadre du DU qualité, a été l'occasion pour moi d'un fort investissement dans la mise en production des nouveaux analyseurs. Cette vérification de méthode a été une expérience très enrichissante pour moi ainsi que pour l'ensemble du personnel du laboratoire (Biologistes et techniciens). Ce travail a été un point de dynamisation de la démarche qualité au sein du Service d'Hématologie, il a fait prendre conscience aux équipes médicales et paramédicales de l'importance du travail à fournir et des enjeux liés à la démarche qualité. De plus chacun a pu constater que bien que considérable, ce travail est tout à fait réalisable s'il est planifié, organisé et piloté. Les biologistes m'ont apporté leur soutien et ont participé activement à chaque réunion pour préparer et valider cette vérification de méthode. Cette expérience m'a confortée et crédibilisée dans ma fonction de co-responsable qualité au sein du service et me motive pour persévérer et poursuivre dans l'amélioration continue de la qualité au sein du service d'Hématologie. Je souhaite transmettre ma motivation à mes collègues pour dynamiser la démarche qualité au sein du service d'Hématologie.

J'ai pu bénéficier d'une formation référent analyseur sur les XE5000 et le XT4000 et j'ai eu la responsabilité, avec les autres référents, de former mes collègues et les internes du service.

Ce travail a un grand intérêt technique pour la constitution du dossier de validation de la chaîne d'Hématologie notamment pour remplir le SH FORM 43.

Par ailleurs, ce travail m'a permis de mesurer tous les imprévus et dysfonctionnements qu'il pouvait y avoir lors d'une mise en production d'analyseurs et de faire le lien avec les enseignements de cette année et notamment de voir une application pratique de la roue Deming : PDCA : To Plan, To Do, To Check, To Act (Planifier, Faire, Vérifier, Agir). Cela m'a permis de voir sur le terrain comment s'adapter tout en maintenant l'objectif fixé.

Je pense que mon travail pourra être modélisé pour la vérification des autres analyseurs du service voire du Pôle. Le responsable qualité du Pôle m'a demandé de mettre le protocole de validation des analyseurs d'Hématologie sur notre logiciel de gestion documentaire (GED) pour que le personnel du Pôle puisse le consulter et s'en servir comme support pour leurs validations de méthodes.

Ce mémoire est la finalité du DU qualité que j'ai suivi. Durant cet enseignement, j'ai acquis des connaissances essentielles à la mise en place et à la pérennité de la démarche qualité, j'ai fait des rencontres enrichissantes parmi les enseignants et les participants qui ont su partager leurs expériences et leurs connaissances.

Bibliographie

Textes réglementaires

- 1 SH GTA 04-rév 00-Avril 2011-Chapitre 3
2. SH GTA 04-rév 00-Avril 2011-Chapitre 9.1.1
- 3 SH GTA 04-rév 00-Avril 2011-Chapitre 8
- 4 SH GTA 04-rév 00-Avril 2011-Chapitre 11
- 5- SH FORM 43 : Document Cofrac SH GTA 04

Articles et Documentation

- 1 RICOS : site internet : <http://www.westgard.com>
- 2 Spécifications analytiques des XE5000
- 3 Qualité et accréditation en biologie médicale-Annales de Biologie Clinique 2010 68 (Hors série n°1)

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : Organigramme

ANNEXE 2 : Fiche d'habilitation à la validation des méthodes.

ANNEXE 3 : Procédure générale de validation des méthodes analytiques

ANNEXE 4 : Protocole de vérification des XE 5000.

ANNEXE 5 : Protocole d'évaluation du seuil de quantification.

ANNEXE 6 : Critères à vérifier par paramètres.

ANNEXE 7 : Plan d'actions de la mise en œuvre des expériences.

ANNEXE 8 : Comparaison du mode automatique et du mode manuel du XE A2326 (XE1).

ANNEXE 9 : Comparaison du mode automatique et du mode manuel du XE A2327 (XE2).

ANNEXE 10 : Comparaison du XE A2326 (XE1) et du XE A2327 (XE2) en mode automatique.

ANNEXE 11 : Comparaison du XE A2326 (XE1) et du LH 750 (AG42602) en mode automatique.

ANNEXE 12: SH FORM 43.

ANNEXE 1

Organigramme

ORGANIGRAMME DU LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE 2011

Dr Bernard Lenormand PH

Chef de service

CRTH	UNITE HEMOSTASE VASCULAIRE	UNITE HEMOSTASE CELLULAIRE	UNITE DE CYTOLOGIE	UNITE DE BIOLOGIE POLYVALENTE St Julien
Responsable Unité Dr J.Y. BORG (2) PH	Responsable Unité Dr J.Y. BORG (2) PH	Responsable Unité Pr M. VASSE (3) PU/PH	Responsable Unité Dr B. LENORMAND (1) PH	Responsable Unité Dr F. JOUEN (3) PH 50%
Médecins - Dr. P CHAMOUNI (2) PH - Dr V. LECAM DUCHEZ (1) PH	<p>Biologistes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr JY BORG (2) PH - Dr V. LE CAM-DUCHEZ (1) PH. - Pr M. VASSE (3) PU/PH - Dr V. BARBAY PH contractuel <p>Attachés :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme M.H.CHRETIEN (3) 7vacations - Dr M FRESEL (3) 4 vacations <p>Consultations / Prélèvements</p> <p>Hémostase vasculaire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr JY BORG (2) PH - Dr V. LE CAM-DUCHEZ (1) PH - Pr M. VASSE (3) PU/PH - Mme M.H.CHRETIEN (3) Attaché - Internes d'Hématologie 	<p>Biologiste</p> <p>Secteur cultures cellulaires</p> <p>Pr M VASSE (3) PU/PH</p>	<p>Biologistes</p> <p>Secteur analyses de base</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr B. LENORMAND (1) PH <p>Secteur myélogrammes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr G. BUCHONNET (1) MCU-PH - Mme M.P CALLAT (3) PH. - Dr A. GREEN AHU <p>Secteur Globules Rouges</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr A. LAHARY (2) PH. <p>Secteur typages lymphocytaires</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr B. LENORMAND (1) PH <p>Attaché :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr J. IGOUT (3) 1 vacation - Dr C. BOUTET (3) 5 vacations <p>Consultations / Prélèvements</p> <p>Globules Rouges</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr A. LAHARY (2) PH. 	<p>Biologiste</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr F. JOUEN (3) PH 50% - Dr B. LENORMAND (1) PH
(1) Médecin Biologiste (2) Médecin Hémostasiologiste (3) Pharmacien Biologiste				
Cadre supérieur de santé O. AUBERT				
Infirmière DE : 1 (1 ETP)	Techniciens de laboratoire 18 (13,6 ETP)	Technicien de laboratoire : 0.4 ETP	Techniciens de laboratoire 18 (14,3 ETP) Aides de laboratoire : 1 (1 ETP)	Techniciens de laboratoire : 6 (5 ETP)
Secrétariat médical : 1 (1 ETP)	Secrétariat médical : 4 (3.8 ETP)			Secrétariat médical : 1 (0.8 ETP)
	Personnel d'entretien : 3 (2.8 ETP)			Personnel d'entretien : 1 (1 ETP)
(ETP = Equivalent Temps Plein)				

ANNEXE 2

Fiche d'habilitation à la validation des méthodes

ANNEXE 3

Procédure générale de validation des méthodes analytiques



Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Appliqué(e) le
03- Procédure (2 signatures)	003	4544	001	13/10/2010

Pôle Biologie Clinique

Pôle Biologie: Procédure générale de validation des méthodes analytiques

Description de la dernière évolution :

Création

	Rédaction	Approbation
Nom(s) et fonction(s)	Lise GOURICHON (Gedi : Rédacteur - CHU\Pôles - Directions\Pôles Médicaux\Biologie Clinique)	Camille GIVERNE (Gedi : Approbateur - CHU\Pôles - Directions\Pôles Médicaux\Biologie Clinique), Francois TRON (Gedi : Approbateur - CHU\Pôles - Directions\Pôles Médicaux\Biologie Clinique)
Date	08/10/2010 16:52:14	11/10/2010 14:08:17,12/10/2010 13:18:54

Sommaire

1	Objet.....	1
2	Domaine d'application	1
3	Références et documents associés	1
4	Définitions et abréviation	1
5	Responsabilités et personnes ressources.....	3
5.1	Responsabilités.....	3
5.2	Personnes ressources	3
6	Contenu.....	3
6.1	Pré-requis	3
6.2	Méthode normalisée adaptée ou utilisée en dehors de son domaine d'application, méthode interne.....	4
6.3	Méthode normalisée ou jugée équivalente	8
6.4	Remarques diverses.....	9

1 Objet

Cette procédure présente les étapes à suivre pour la validation des méthodes d'analyses de biologie médicale.

2 Domaine d'application

Analyses de biologie médicale réalisées par les laboratoires du pôle de Biologie

3 Références et documents associés

Norme NF EN ISO 15189

Guide de validation des méthodes en biologie médicale – LAB GTA 04 - Révision 00 – Juin 2004

Fiche d'habilitation à la validation (GEDI n°4083)

4 Définitions et abréviation

Validation (validation des méthodes) : étape de vérification consistant à comparer les valeurs des critères de performance telles que déterminées au cours de l'étude de caractérisation ou de mise en œuvre expérimentale (phase de test) de la méthode analytique à celles attendues ou assignées au préalable (limites acceptables), puis à déclarer la méthode d'analyse valide ou non valide.

Analyte : composant, substance, matériau à mesurer dans un milieu éventuellement complexe

Analyses de type quantitatif vrai : elles fournissent un résultat chiffré, sur une échelle continue dont les limites basses et hautes sont connues, en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte à mesurer.

Analyses de type qualitatif : le résultat de ce type d'analyse n'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte, mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif), ou éventuellement sur une présence ou une activité supérieure à celle d'un témoin donné (cas des titrages). On peut classer dans cette catégorie toutes les analyses dont le résultat est obtenu par la lecture de la réaction par un observateur, par comparaison avec des témoins positif, négatif ou de titre donné, et donc avec une part de subjectivité.

Analyses assimilables à des analyses quantitatives (semi-quantitatives) : il s'agit des analyses fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable, avec un effet de seuil.

Spécificité analytique : capacité de la méthode à déterminer uniquement le marqueur cible

Fidélité : étroitesse d'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées. Elle comprend deux aspects qui sont la répétabilité et la reproductibilité.

Répétabilité : la répétabilité exprime la fidélité pour les mêmes conditions opératoires (même mode opératoire, même observateur, même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions, même lieu) dans un court intervalle de temps.

Reproductibilité (fidélité intermédiaire) : la reproductibilité, en Biologie Médicale, exprime la fidélité dans des conditions opératoires différentes (opérateurs, lots de réactifs, intervalles de temps importants), c'est à dire la variabilité interne au laboratoire.

Justesse : étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée ou aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications exemptes d'erreur systématique.

Domaine d'analyse : intervalle de concentrations (ou autres quantités) d'un analyte pour lequel la technique est applicable sans modification. Son évaluation nécessite l'établissement des limites de linéarité et de la limite de détection de la technique.

Limite de détection : plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc (avec une probabilité donnée), mais non nécessairement quantifiée

Limite de quantification : plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans les conditions expérimentales décrites dans la méthode

Linéarité : capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon.

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

Valeurs de référence : résultats obtenus pour un constituant donné dans une population de référence dont les individus sont exempts de pathologie ou de traitement susceptibles de modifier leurs valeurs.

Équipement critique : équipement nécessaire à la réalisation d'un examen ou d'une mesure ayant une incidence significative sur l'exactitude et la fiabilité du résultat de l'analyse, qu'elle soit quantitative ou qualitative.

CIQ : contrôle interne de qualité ou **CQI** : contrôle de la qualité interne

CEQ ou EEQ : contrôle externe de qualité ou évaluation externe de la qualité

5 Responsabilités et personnes ressources

5.1 Responsabilités

La validation d'une méthode d'analyse est réalisée par une personne habilitée (technicien, ingénieur...) sous la responsabilité du biologiste également habilité.

5.2 Personnes ressources

Biologiste responsable de l'unité

Pilote du processus analytique

6 Contenu

6.1 Pré-requis

6.1.1 Habilitation des personnes réalisant la validation

La validation d'une méthode devra être réalisée par un personnel habilité.

Les critères permettant l'habilitation sont:

- Pour les techniciens:

Formation théorique spécifique (DU, formation extérieure...)

Expérience dans le domaine : personne ayant participé à la mise au point de techniques au cours des 3 dernières années

Connaissance théorique et/ou pratique de la technique

Habilitation signée par le biologiste

- Pour les biologistes:

Être référent pour la technique

Avoir suivi des formations (congrès, réunions scientifiques...) récentes dans le domaine de la technique à valider

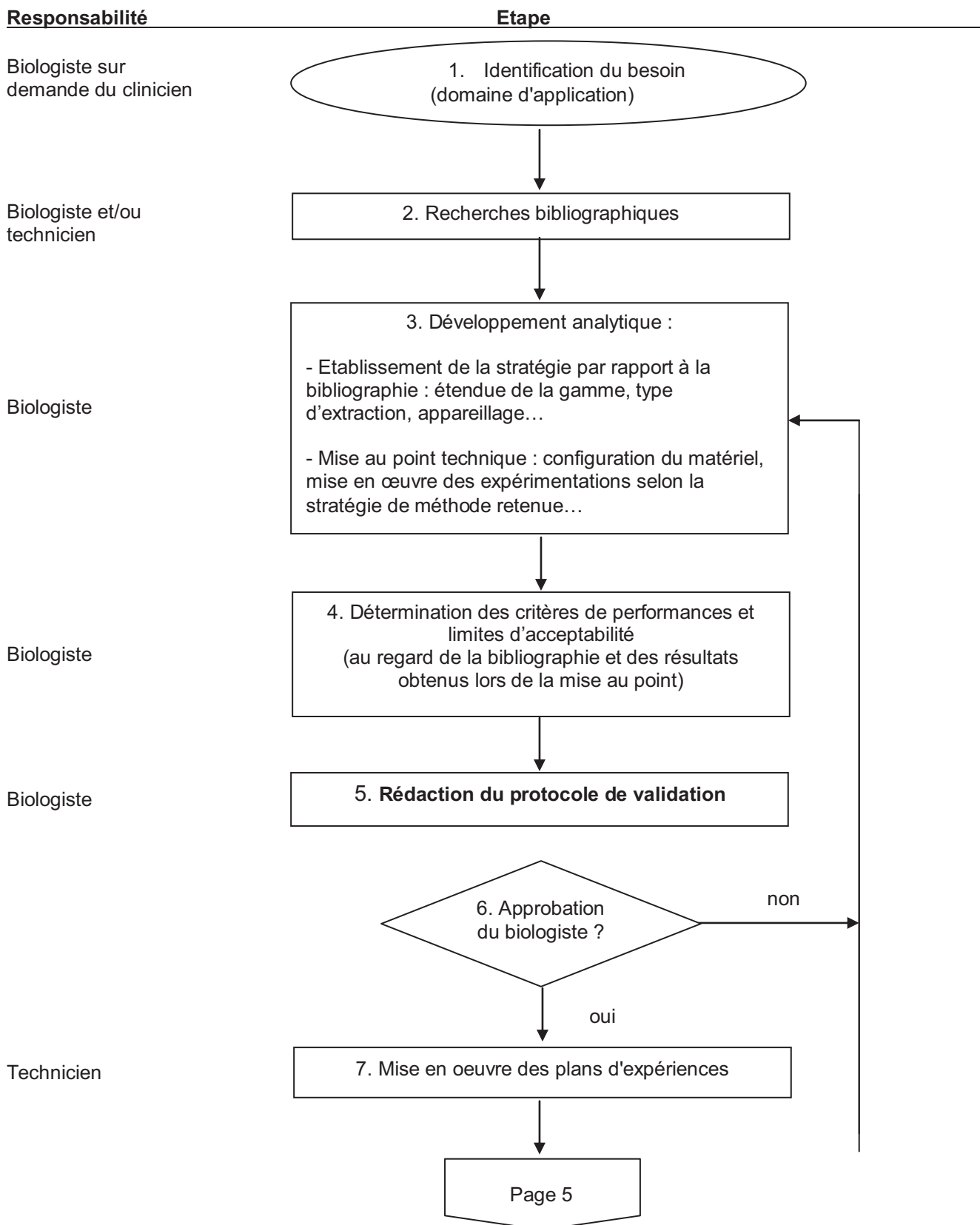
Une fiche d'habilitation [N°GED1 4083](#) doit être complétée pour chaque personne et analyse ou groupe d'analyses regroupant les mêmes compétences.

6.1.2 Identification des équipements critiques

Préalablement à la validation, il convient de lister les équipements, instruments ou systèmes analytiques critiques et de vérifier que ces équipements bénéficient d'un programme de maintenance régulière.

6.2 Méthode normalisée adaptée ou utilisée en dehors de son domaine d'application, méthode interne

6.2.1 Vérification initiale

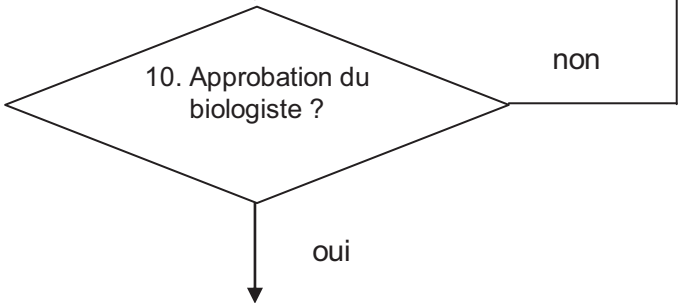


Technicien
Biologiste

8. Compilation et traitement statistique des résultats
obtenus

Technicien
Biologiste

9. Rédaction du rapport de validation
avec conclusions par rapport aux limites
d'acceptabilité fixées initialement



Biologiste

11. Rédaction/révision de la procédure
analytique, le cas échéant

Archivage du dossier de validation
constitué du protocole, du rapport de
validation et des documents
d'enregistrements

Informations complémentaires

4 : le choix des critères de performances et limites d'acceptabilité associés d'une méthode doit se faire préalablement à l'étude de validation. Ce choix est du ressort du biologiste et doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. En fonction du type d'analyse, les critères de performances sont les suivants :

Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode assimilable au quantitatif (semi-quantitatif)
spécificité	spécificité	spécificité
fidélité (répétabilité et reproductibilité)	NA*	répétabilité et reproductibilité
justesse	NA	NA
domaine d'analyse	NA	NA
sensibilité (limite de détection et limite de quantification)	sensibilité diagnostique	sensibilité diagnostique
linéarité	NA	NA
contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	contamination entre échantillons (s'il y a lieu)
stabilité	stabilité	stabilité
robustesse	robustesse	robustesse
valeurs de référence	NA	NA
interférences	interférences	interférences
Corrélation avec méthode de référence ou méthode utilisée au laboratoire (si nécessaire)	Corrélation avec méthode de référence ou méthode utilisée au laboratoire (si nécessaire)	Corrélation avec méthode de référence ou méthode utilisée au laboratoire (si nécessaire)

*: Non Applicable

5 : Le protocole de validation est un document rédigé à l'issue de la mise au point. Ce document comporte les éléments suivants :

- la présentation de la technique et du mode opératoire,
- le domaine d'application (type d'analyte, type de matrice biologique),
- le matériel utilisé,
- le personnel habilité qui réalisera les expérimentations,

- les critères de performance à étudier et les spécifications ou limites d'acceptabilité.
- la planification des expérimentations à réaliser sous forme de plan d'expérience. L'objectif du plan d'expérience est d'optimiser la planification des expérimentations pour regrouper un maximum de critères de validation sur un minimum de jours de travail.

Ce document doit indiquer pour chaque jour de validation :

- ✓ la traçabilité (date de préparation, manipulateurs, système analytique, réactifs)
- ✓ les critères de validation étudiés
- ✓ le mode opératoire des expérimentations prévues pour la vérification des critères de validation
- ✓ les conditions opératoires (matériel utilisé et réglages spécifiques à la technique)

Le protocole de validation devra être approuvé par le biologiste habilité responsable du choix des critères de performances et limites d'acceptabilité associés à la méthode.

9 : Le rapport de validation est un document rédigé à l'issue de la validation, il peut compléter le protocole de validation défini ci-dessus ou être un document synthétique indépendant. Ce document comporte les éléments suivants :

- le nom de la technique validée
- le domaine d'application (type d'analyte, type de matrice biologique),
- le matériel utilisé
- le personnel ayant réalisé les expérimentations
- la date des expérimentations
- une synthèse des critères de performance étudiés avec les résultats obtenus
- les conclusions sur les critères étudiés par rapport aux limites d'acceptabilité fixées initialement : la méthode est déclarée valide ou non valide.

6.2.2 Confirmation des performances en routine

Suite à la vérification initiale, il convient de vérifier la validation en continue du processus analytique.

- Méthode d'analyse quantitative

La validation en continue de la méthode analytique est assurée par l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles de qualité internes (CQI) et externe (EEQ). Leur exploitation permet de vérifier et de confirmer des éléments tels que la reproductibilité, la robustesse ou la justesse.

- Méthode d'analyse qualitative

La spécificité et la sensibilité diagnostique sont les paramètres essentiels à maîtriser. Leur surveillance est assurée par l'étude des CQI et CQE ainsi que par le suivi des informations de réactovigilance.

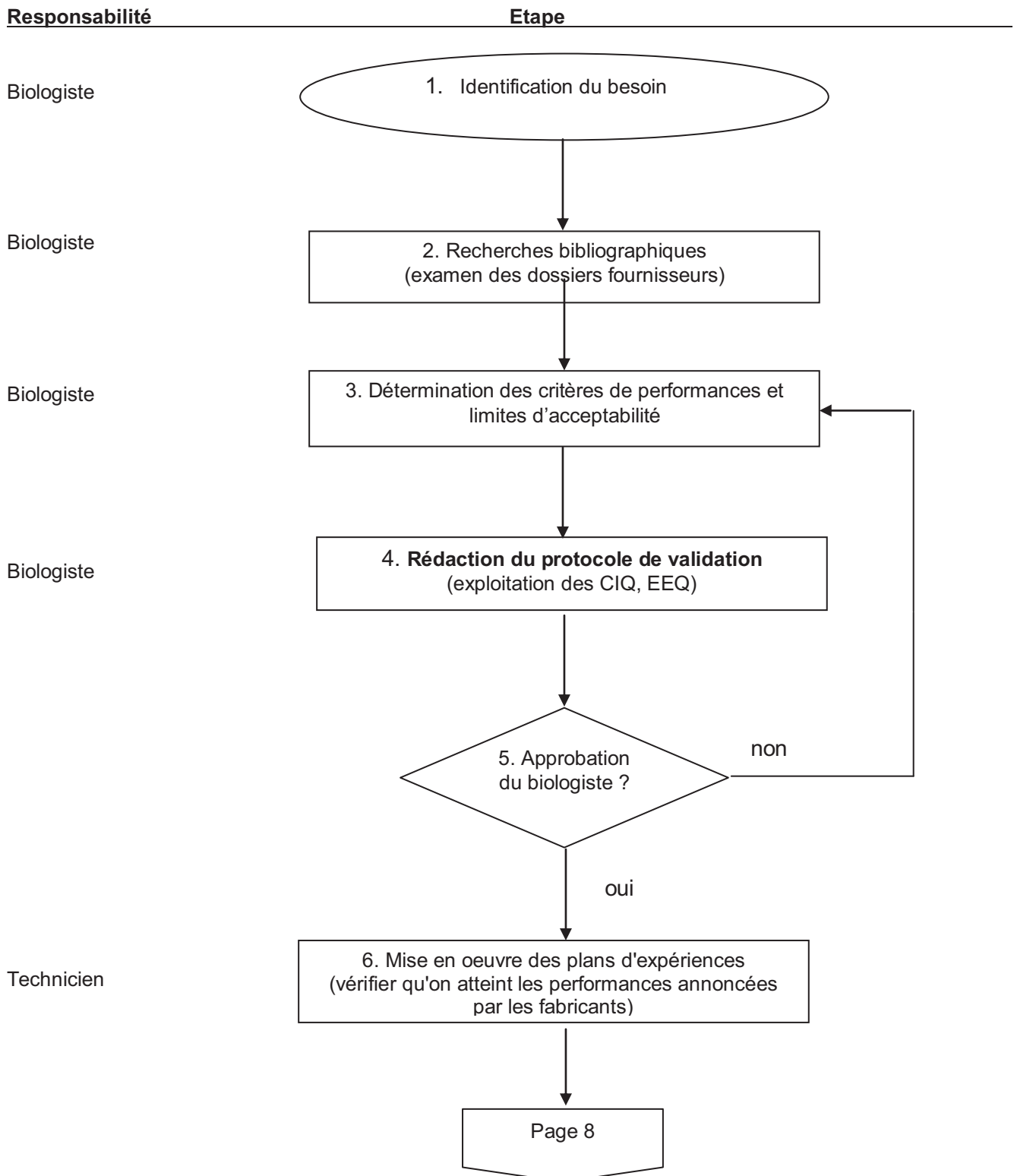
- Méthode d'analyse semi-quantitative

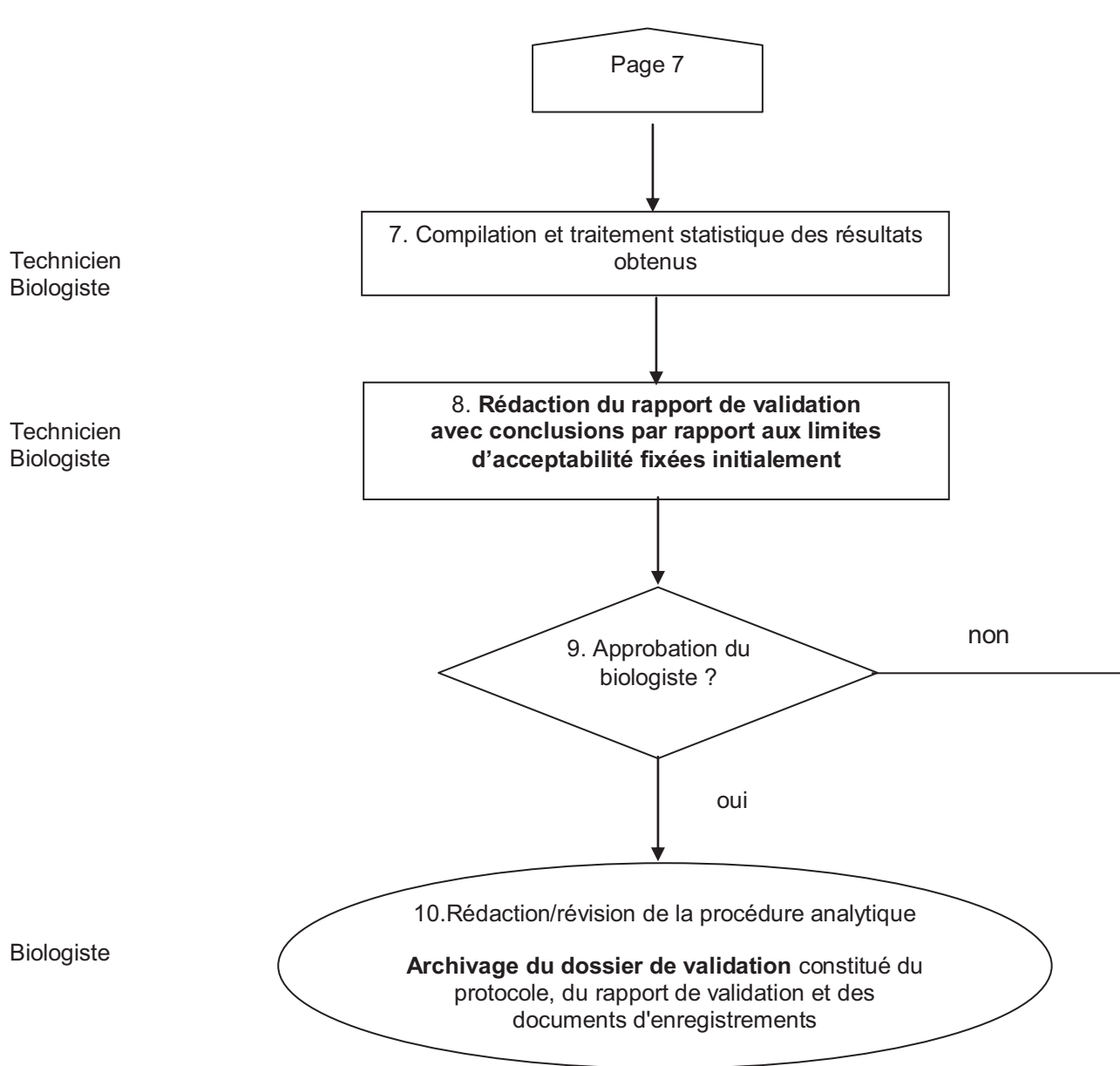
La spécificité et la sensibilité diagnostique sont les paramètres essentiels à maîtriser. Leur surveillance est assurée :

- par la comparaison avec les résultats obtenus par d'autres méthodes complémentaires ou par des techniques de référence mises en œuvre pour vérifier un premier résultat,
- par l'étude des CQI et CQE ainsi que par le suivi des informations de réactovigilance,
- par le suivi des informations de réactovigilance.

6.3 Méthode normalisée ou jugée équivalente

6.3.1 Vérification initiale





6.3.2 Confirmation des performances en routine

Se référer au § 6.2.2

6.4 Remarques diverses

Dans le cadre de l'accréditation, le laboratoire doit présenter au COFRAC deux types d'éléments :

- la présente procédure (ou sa propre procédure) qui décrit les lignes directrices et les modalités du processus qu'il suit pour la validation de ses méthodes en général,
- les dossiers de validation de ses méthodes qui sont des enregistrements (éléments de preuve tels que bibliographie, données brutes, rapports de validation...)

Toute modification des procédures analytiques peut-être envisagée ; néanmoins, ces modifications devront faire l'objet d'un complément de validation.

ANNEXE 4

Protocole de vérification des XE 5000

Annexe 4 Protocole de vérification des XE 5000

Vérification des XE 5000						
	type d'échantillon	nombre de points (concentration)	fréquence/j	nbre de jours	nombre de tests par point	nombre total de tests
répétibilité	CQI	3 (bas moyen élevé)	1	1	30	90
reproductibilité	CQI	2 (bas moyen)	2 (am/pm)	15	1	60
justesse	EEQ des CQI puis EEQ					
Contamination inter échantillon	CQI	2 (bas élevé)	1	1	3x5 séries	30
Contamination inter réactifs		Non applicable (notice fournisseur)				
limite de détection	diluant	1	1	1	30	30
seuil de quantification	CQI	9 (dilutions CQI bas 100%-0%)	1	1	10	90
Stabilité Réactifs						
Incertitude mesure	Après l'évaluation de la justesse					
linéarité						
Comparaison LH-XE5000-XE5000	patient	10 bas 20 moyens 10 élevés	10	4	1	120

Légende :

	A vérifier
	Non vérifié

ANNEXE 5

Protocole d'évaluation du seuil de quantification

Annexe 5

Protocole d'évaluation du seuil de quantification

Légende :  Dilutions effectuées
 Dilutions non effectuées

Dilution %	CQI (µL)	Diluant (µL)
pur	1500	0
90	1350	150
80	1200	300
70	1050	450
60	900	600
50	750	750
40	600	900
30	450	1050
20	300	1200
15	225	1275
10	150	1350
5	75	1425
3	45	1455
0	0	3

ANNEXE 6

Critères à vérifier par paramètres

Annexe 6 (suite 1)

ANALYSES	répétabilité	reproductibilité	justesse si possible	contamination si sensible	limite de détection si besoin	seuil de quantification si besoin	linéarité si besoin	Comparaison LH XE5000 XE5000
IDR	0	0	0	0	0	0	0	0
PQ IMPEDANCE	1	1	1	1	1	1	0	1
PQ OPTIQUE	1	1	1	1	1	1	0	0
VMP	1	1	1	0	0	0	0	1
IDP	1	1	1	0	0	0	0	1
GB	1	1	1	1	1	1	0	1
PNN#	1	1	1		0	0	0	1
PNE#	1	1	1	0	0	0	0	1
PNB#	1	1	1	0	0	0	0	1
LYMPHO#	1	1	1	0	0	0	0	1
MONO#	1	1	1	0	0	0	0	1

Annexe 6 (suite 2)

ANALYSES	répétabilité	reproductibilité	justesse	contamination		limite de détection		seuil de quantification		linéarité	Comparaison LH XE5000 XE5000
				si sensible	si possible	si besoin	si besoin	si besoin	si besoin		
ERYTHROBLASTES#	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1
RETICULOCYTES#	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
MYELEMIE						0	0	0	0		

ANNEXE 7

Plan d'action de la mise en œuvre des expériences

Annexe 7

Plan d'action de la mise en œuvre des expériences

	Quand ?	Type échantillon
Répétabilité	Du 20 au 27 Mai	3 niveaux CQI
Reproductibilité	Mois de Juillet et Août	2 niveaux de CQI/2 fois /jour
Justesse	Dernier trimestre 2011	
Contamination	Juin	CQI
Limite de détection	Juin	Diluant
Seuil de quantification	Juin	CQI
Comparaison LH2-XE5000(1)- XE5000(2)	Du 24 au 27 Mai	Patients (40)
Comparaison XE5000(1)- XE5000(2) mode manuel et automatique	Du 24 au 27 Mai	Patients (40)

ANNEXE 8

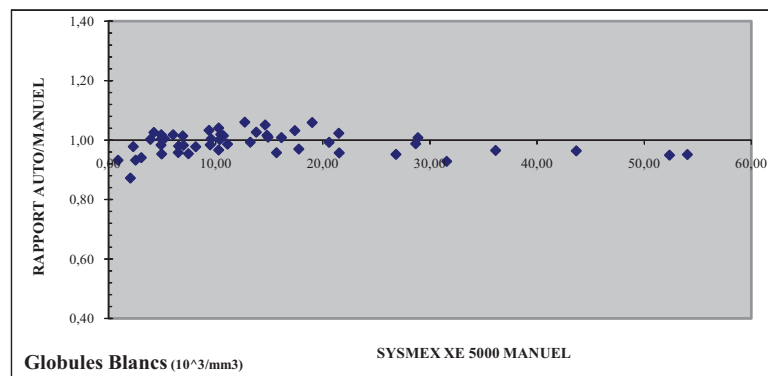
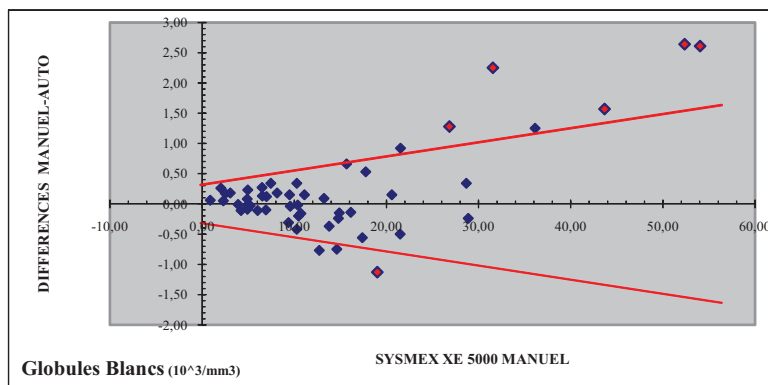
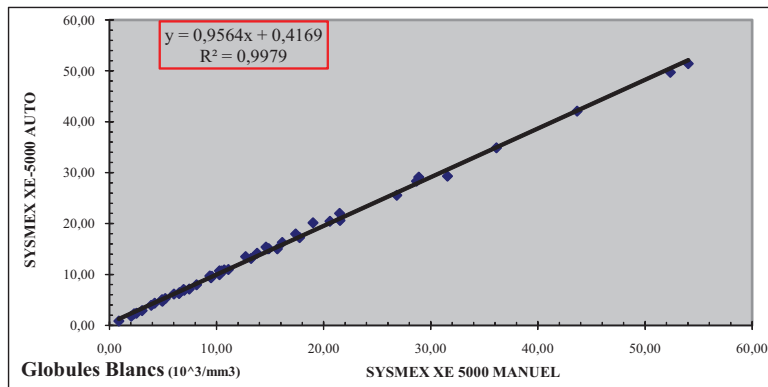
**Comparaison du mode automatique et du mode
manuel du XE A2326 (XE1)**

COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Blancs : GB

Date : 24 Mai 2011		
Site : IBCore Hématologie CHU Rouen		
TECHNIQUE X :	Automate X : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE AUTOMATIQUE	REACTIFS : Globules Blancs : GB = Stromatolyser FB Lot N° : D1011 = Cellpack Lot N° : D1069
TECHNIQUE Y :	Automate Y : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE MANUEL	
Sang total / patients EDTA		

Représentation graphique

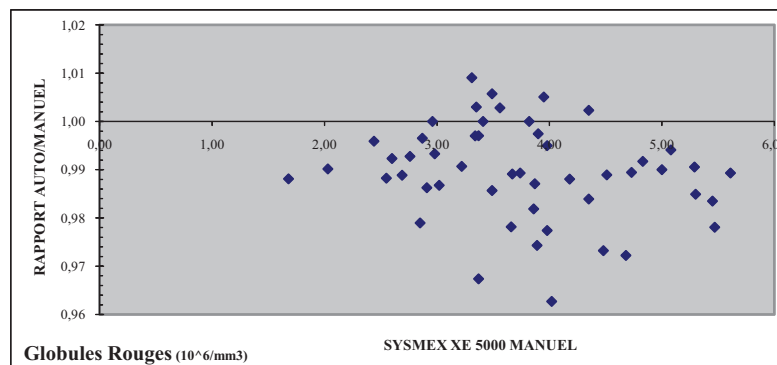
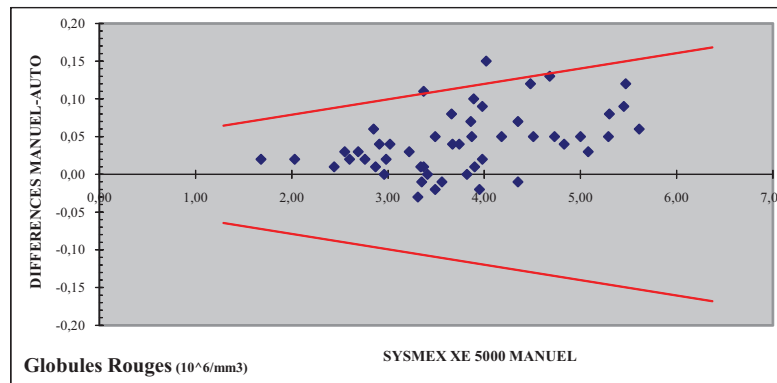
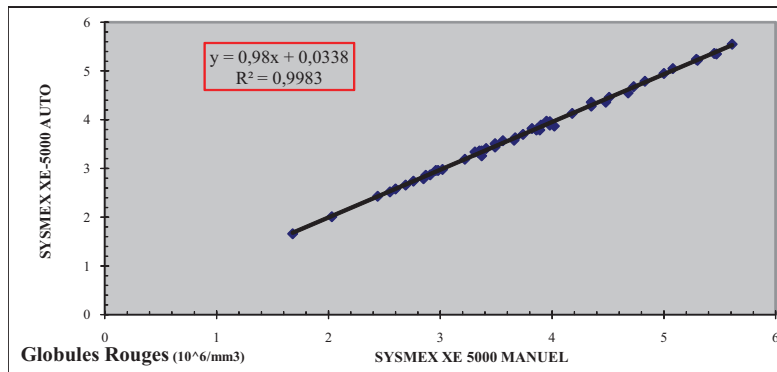


COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Rouges : GR

Date : 24 Mai 2011		
Site : IBCore Hématologie CHU Rouen		
TECHNIQUE X :	Automate X : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE AUTOMATIQUE	REACTIFS: Globules Rouges : GR = Cellsheat <u>Lot N°</u> : D1007 = Cellpack <u>Lot N°</u> : D1069
TECHNIQUE Y :	Automate Y : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE MANUEL	
Sang total / patients EDTA		

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Rouges : GR OPTIQUE

Date : 24 Mai 2011

Site : IBCore Hématologie CHU Rouen

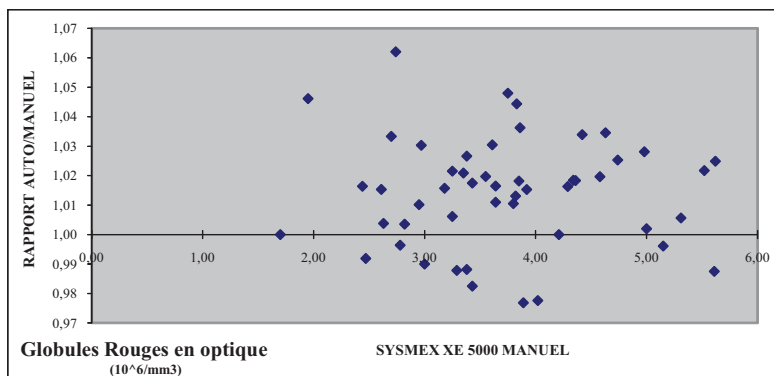
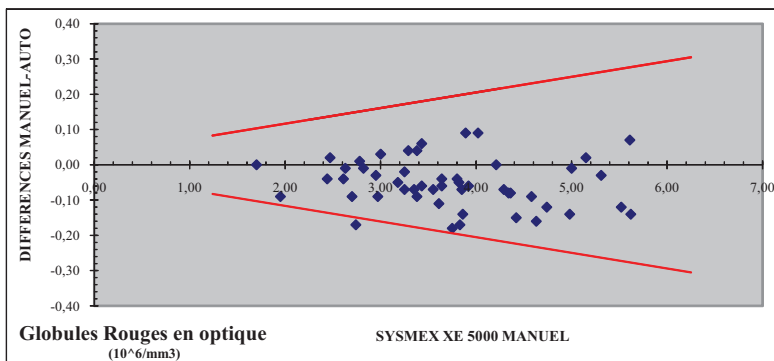
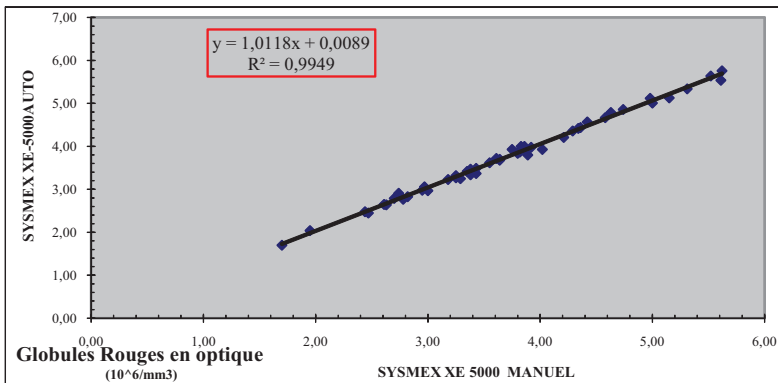
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

REACTIFS: Globules Rouges : GR O
= Ret search
Lot N° : ZA0057
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Hémoglobine : Hb

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

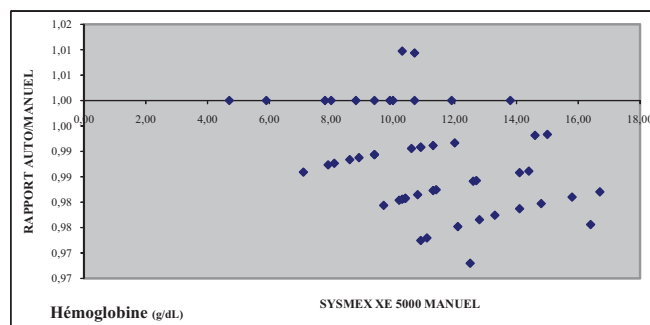
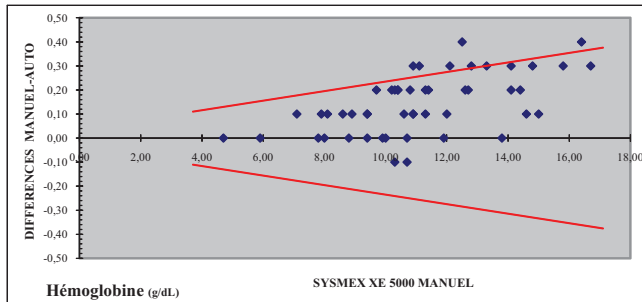
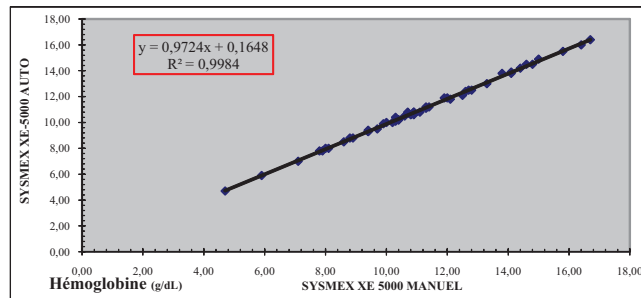
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Hémoglobine : Hb**
= Sulfolyser
Lot N° : D1003
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Plaquettes : PLA

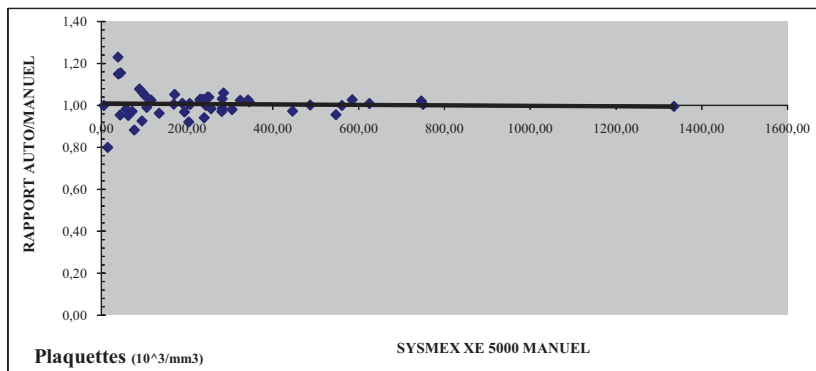
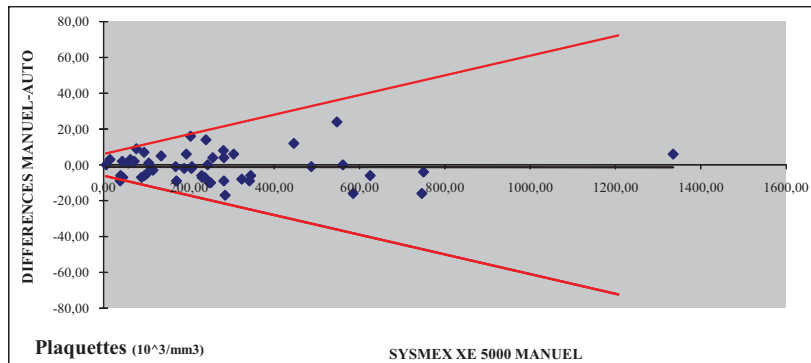
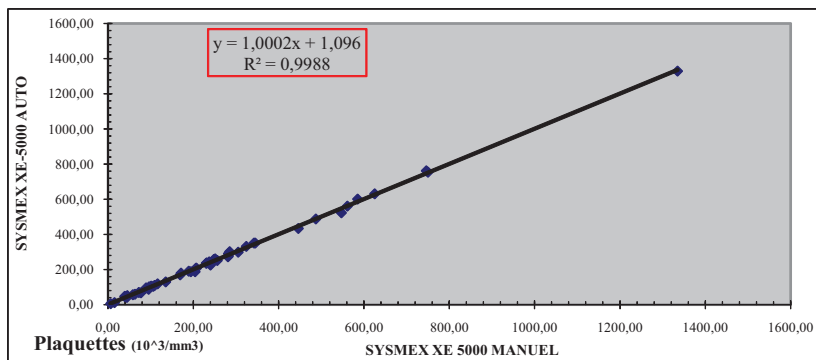
Date : 24 Mai 2011

Site : IBCore Hématologie CHU Rouen

TECHNIQUE X:	Automate X : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE AUTOMATIQUE	REACTIFS: Plaquettes : PLA = Cellsheat Lot N° : D1007 = Cellpack Lot N° : D1069
TECHNIQUE Y:	Automate Y : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE MANUEL	

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Plaquettes : PLA OPTIQUE

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

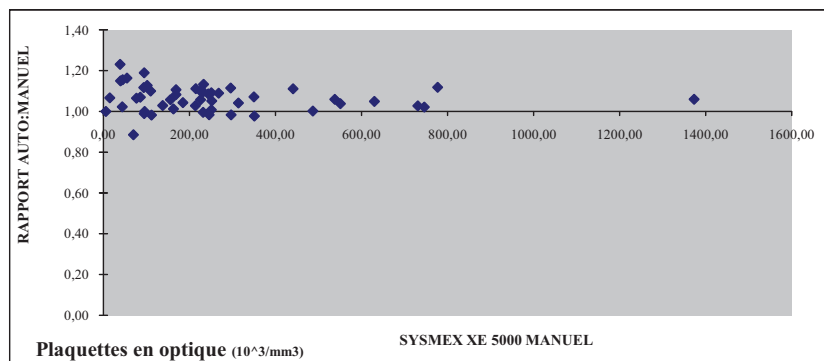
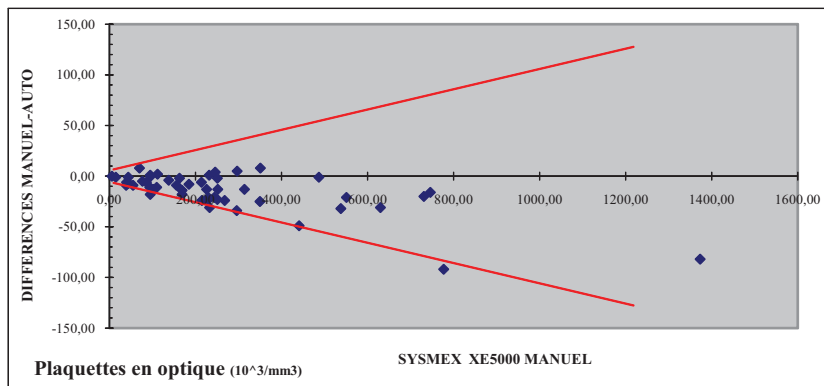
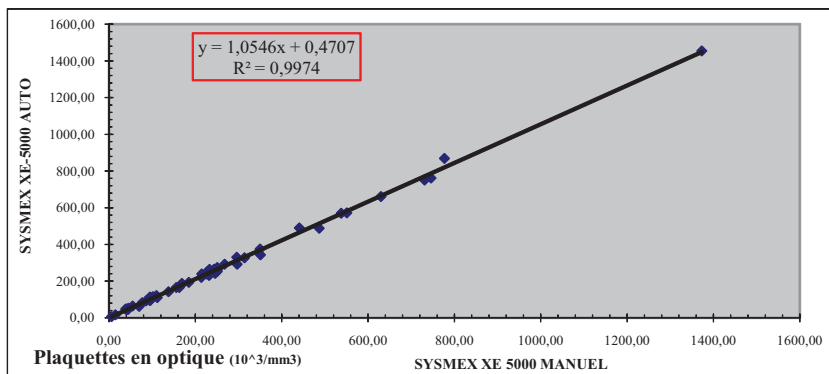
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série :A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Plaquettes : PLA**
= Ret search
Lot N° : ZA0057
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Hématocrite : HT

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

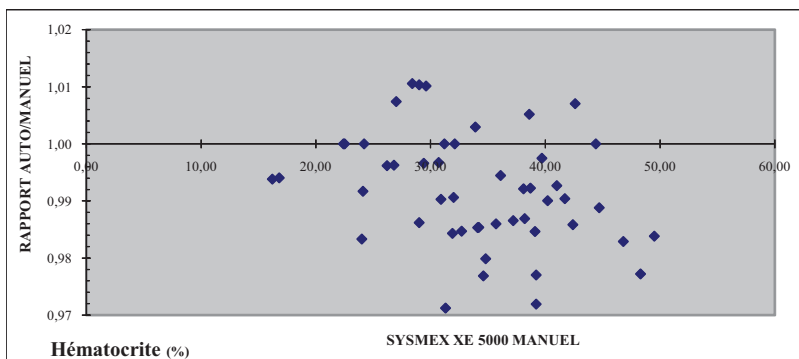
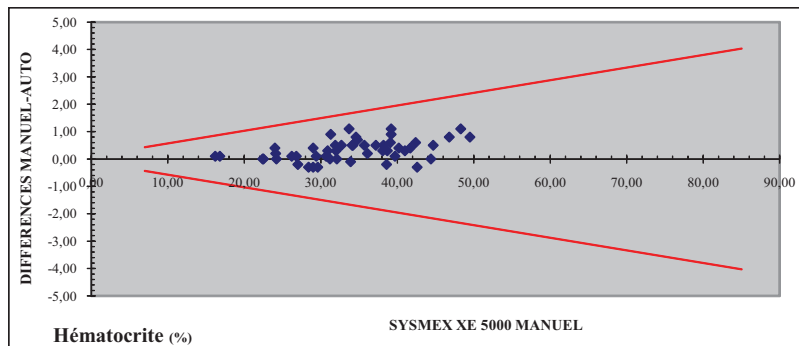
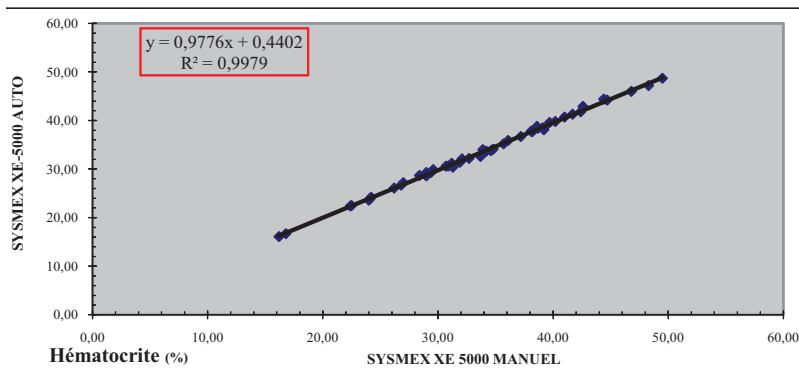
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Hématocrite : HT**
= Celsheat
Lot N° : D1007
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Réticulocytes : RET

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

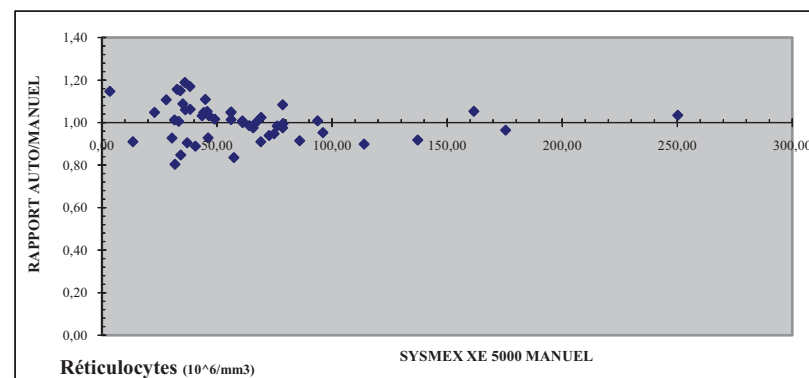
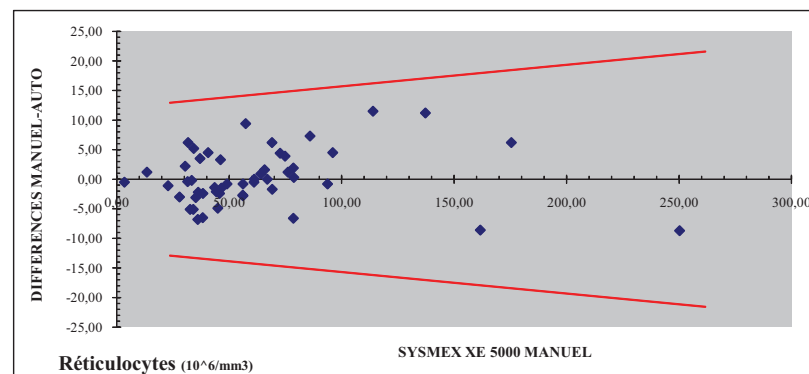
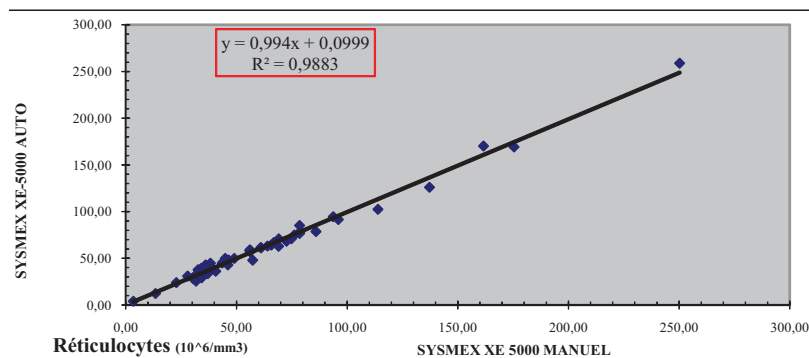
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série :A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Réticulocytes : RET
= Ret search
Lot N° : ZA0057
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Neutrophiles : Neutro

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

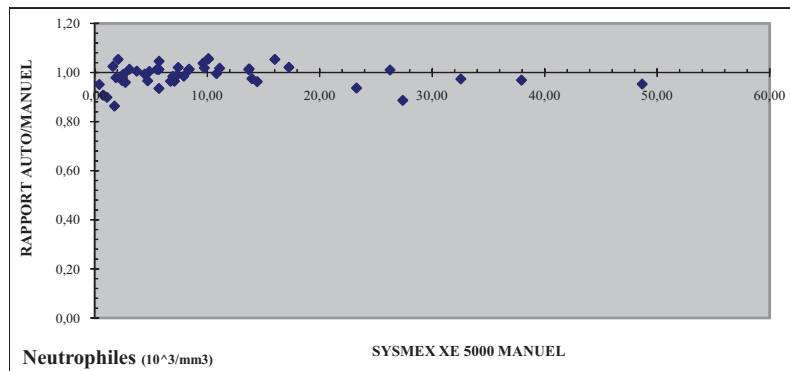
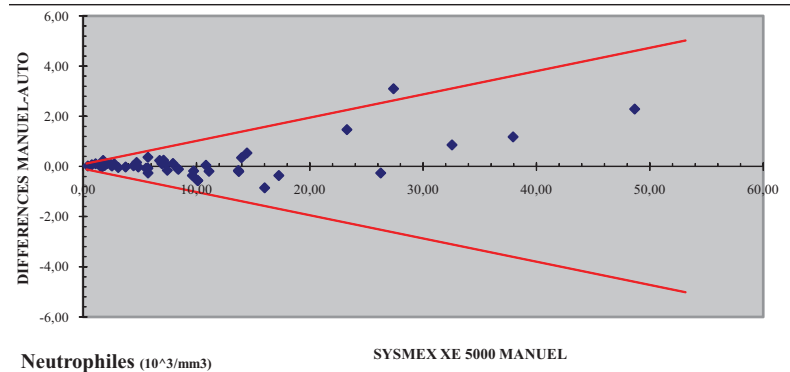
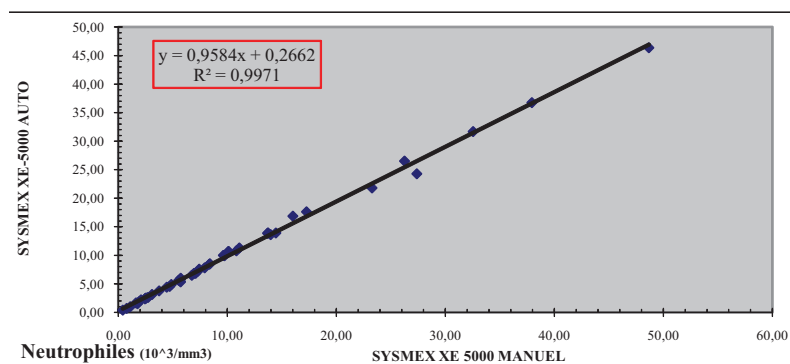
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série :A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Neutrophiles : Neutro
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Eosinophiles : Eosino

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

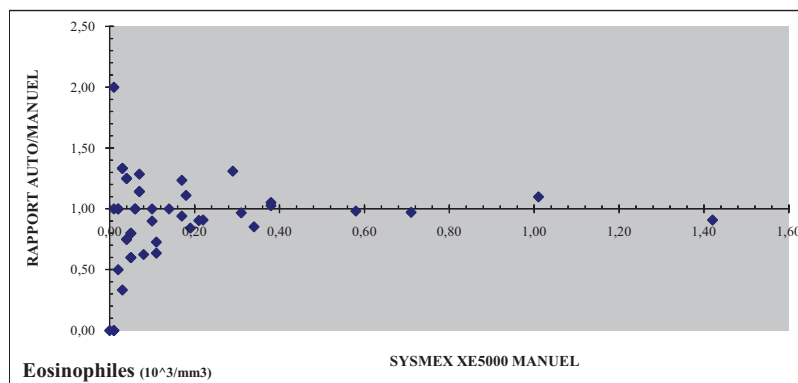
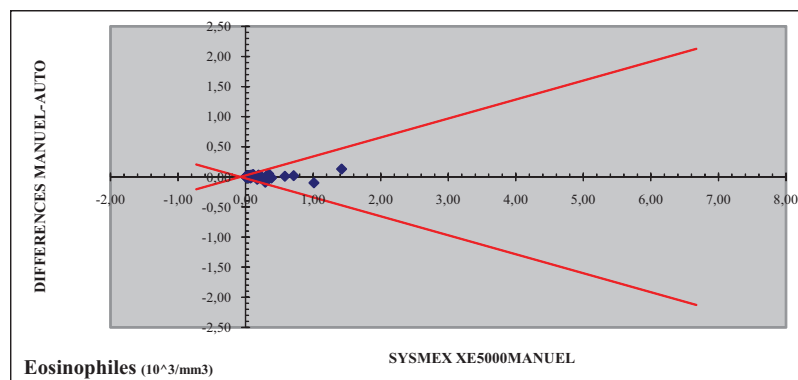
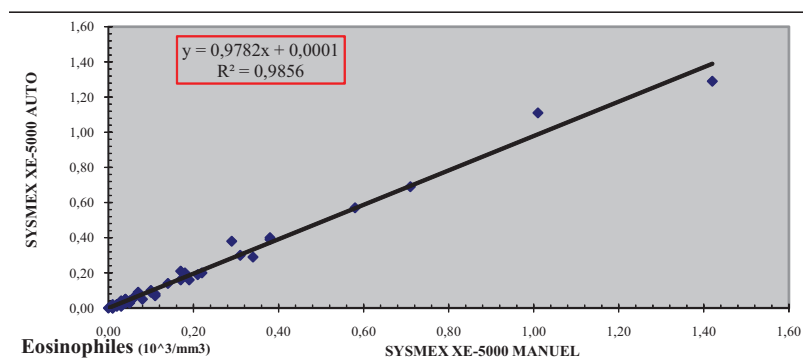
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Eosinophiles: Eosino
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Basophiles : Baso

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

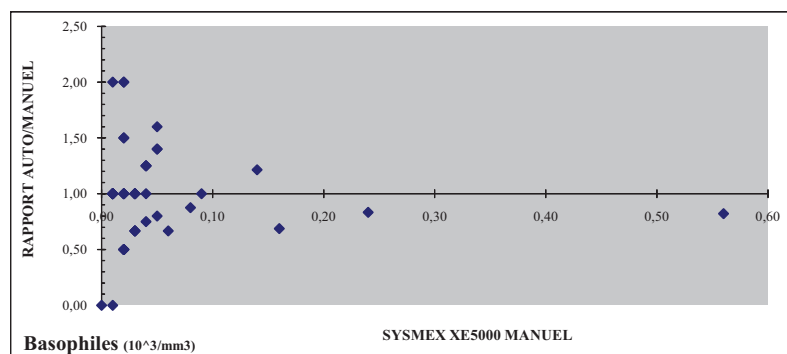
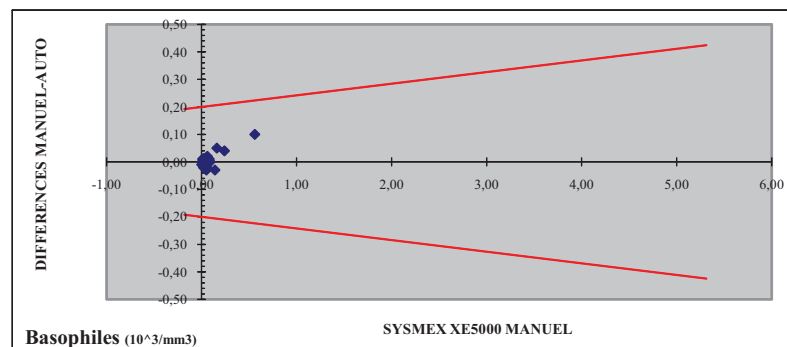
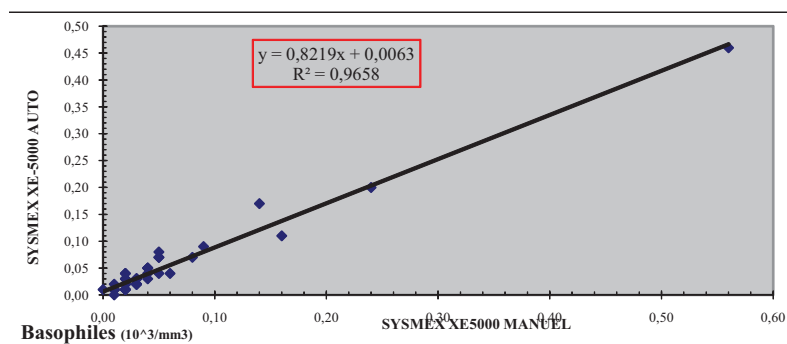
TECHNIQUE X : Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série :A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Basophiles: Baso**
= **Stromatolyser FB**
Lot N° : D1011
= **Cellpack**
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y : Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Lymphocytes : Lympho

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

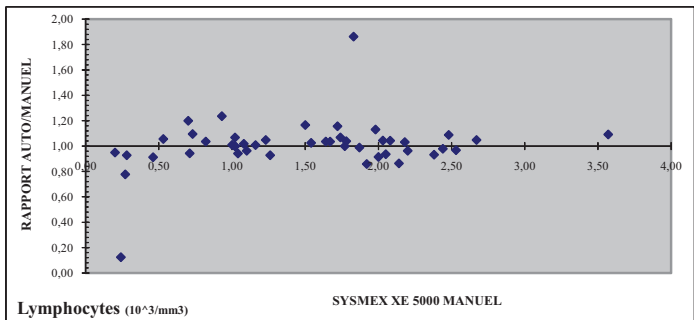
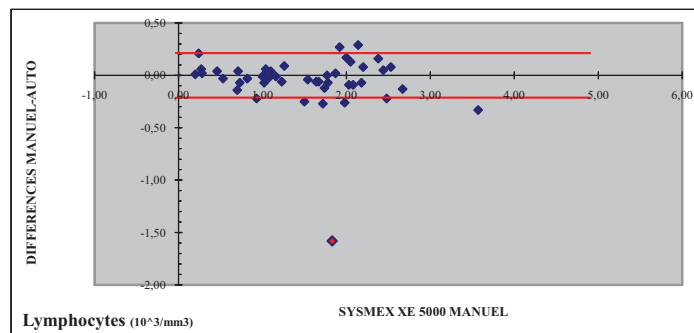
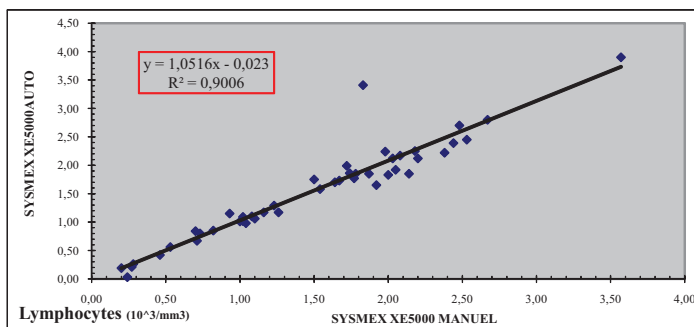
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série :A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Lymphocytes: Lympho
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Monocytes : Mono

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

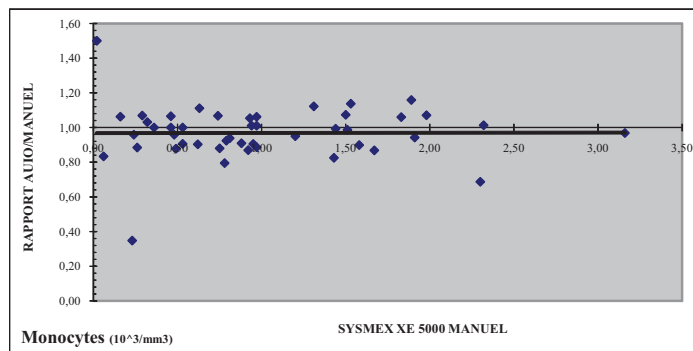
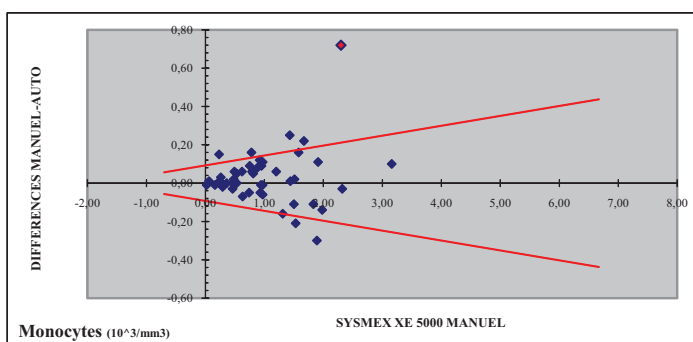
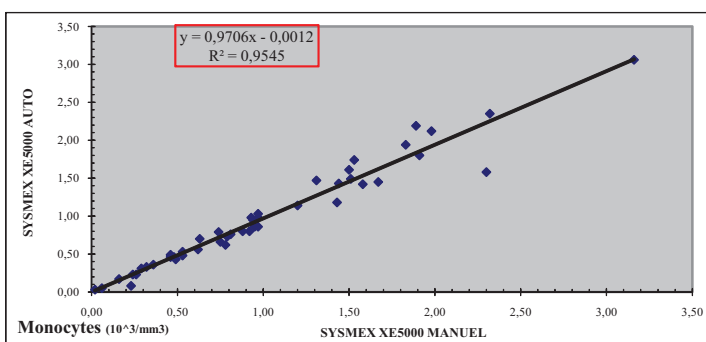
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Monocytes: Mono**
= **Stromatolyser 4DL**
Lot N° : D1007
= **Stromatolyser 4DS**
Lot N° : D1020
= **Cellpack**
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique

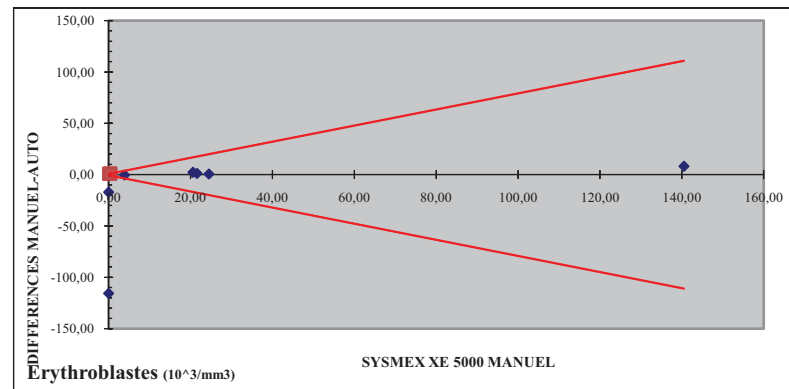
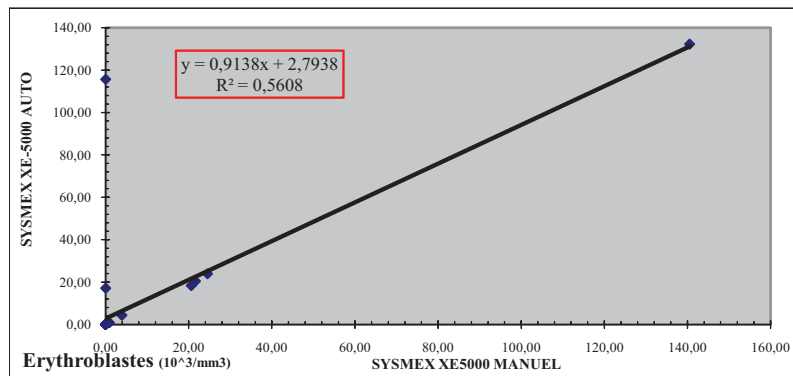


COMPARAISON DE TECHNIQUE

Erythroblastes : ERB

Date :24 Mai 2011		
Site :IBCore Hématologie CHU Rouen		
TECHNIQUE X:	Automate X : SYSMEX XE-5000 N° Série :A2326 MODE AUTOMATIQUE	Réactif : Erythroblastes : ERB = Stromatolyser NR Lot N° : D0008 = Cellpack Lot N° : D1069
TECHNIQUE Y:	Automate Y : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2326 MODE MANUEL	
Sang total / patients EDTA		

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Myélémie: IG%

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

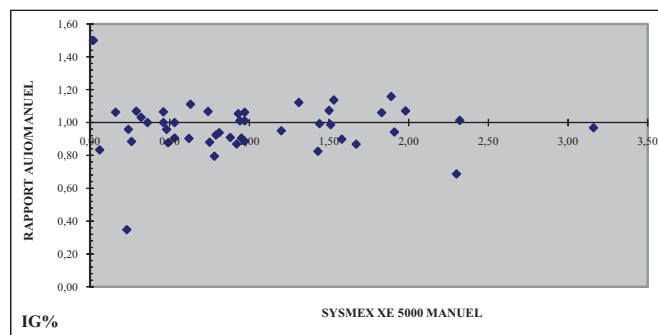
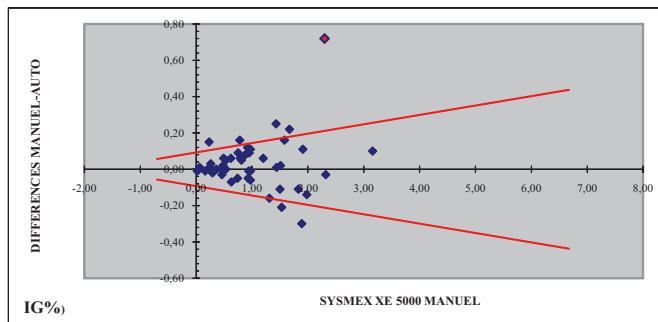
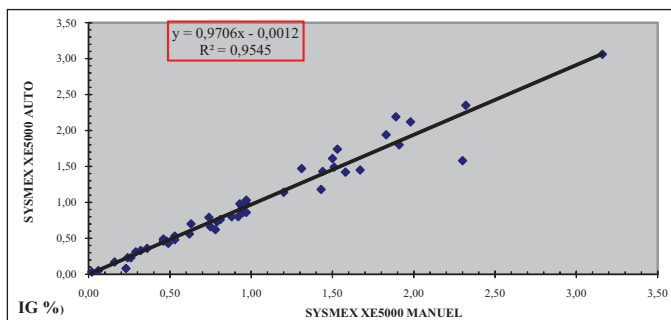
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série :A2326
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Stromatomyser IMI
Lot N°:D 1006

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE MANUEL

= Cellpack
Lot N° : D1069

Sang total / patients EDTA



ANNEXE 9

**Comparaison du mode automatique et du mode
manuel du XE A2327 (XE2)**

COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Blancs : GB

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

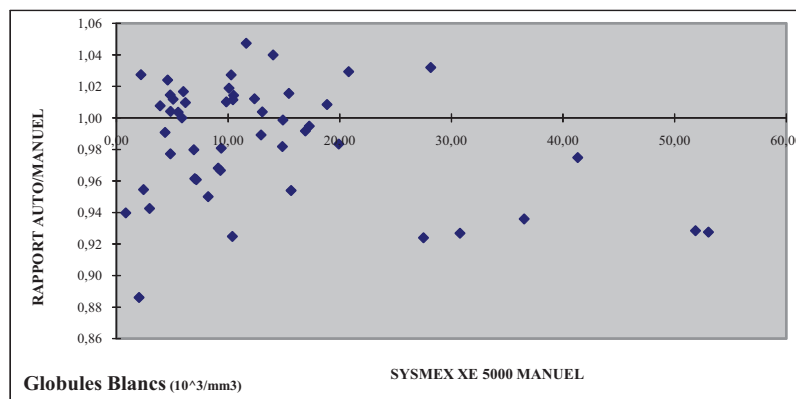
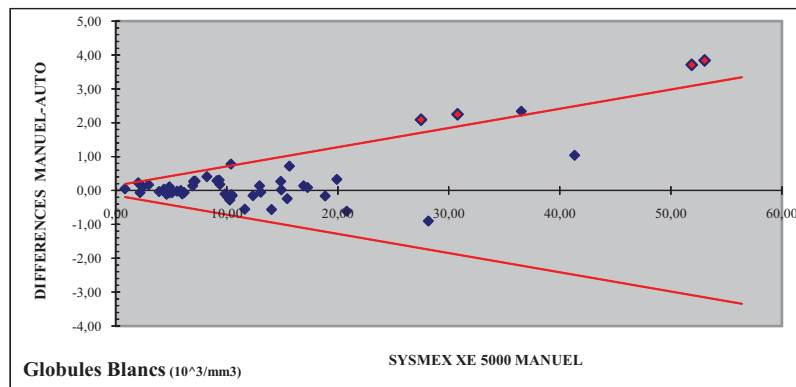
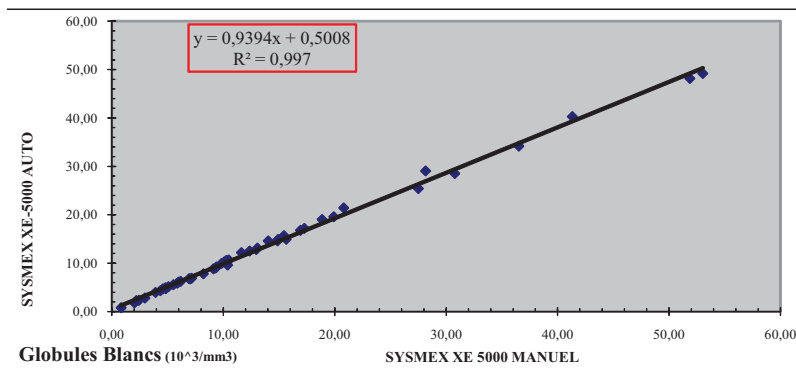
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Globules Blancs : GB
= Stromatolyser FB
Lot N° : D1011
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Rouges : GR

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

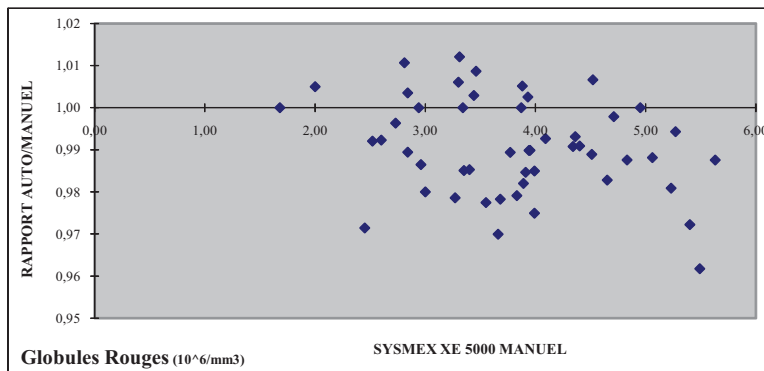
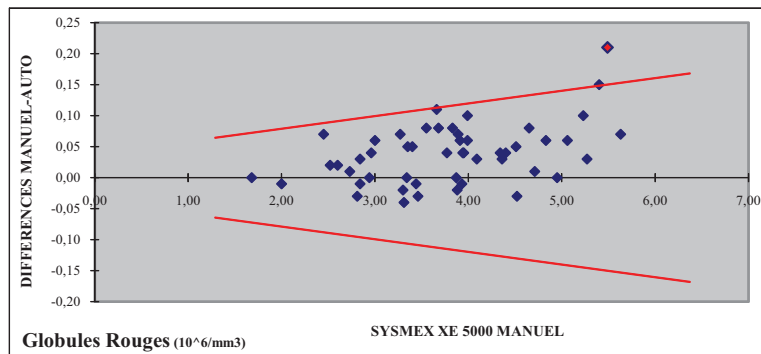
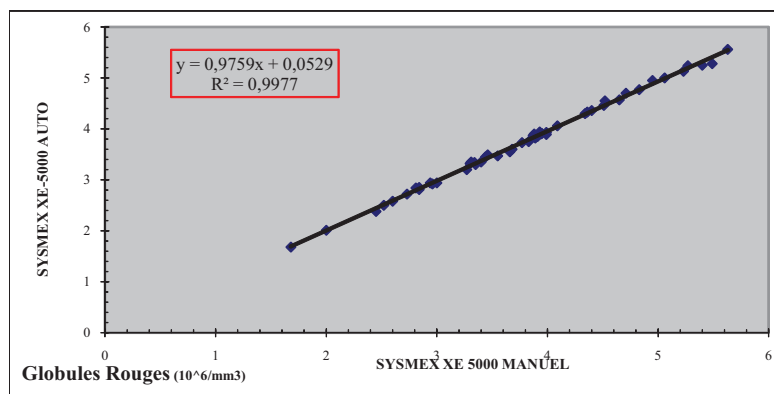
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Globules Rouges : GR
= Cellsheat
Lot N° : D1007
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Rouges : GR OPTIQUE

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

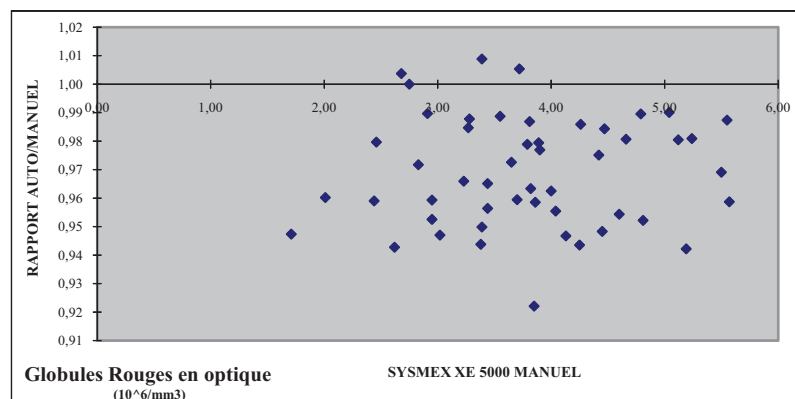
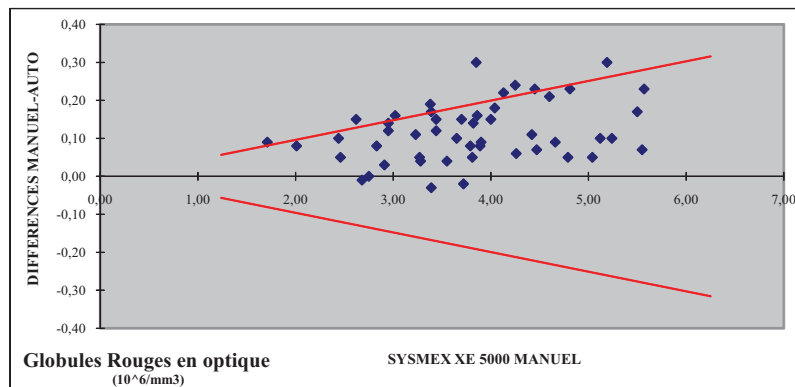
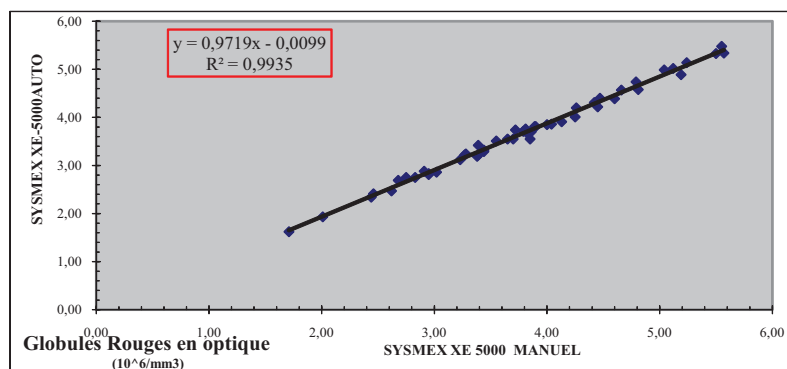
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Globules Rouges : GR O
= Ret search
Lot N° : ZA0057
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Hémoglobine : Hb

Date :24 Mai 2011

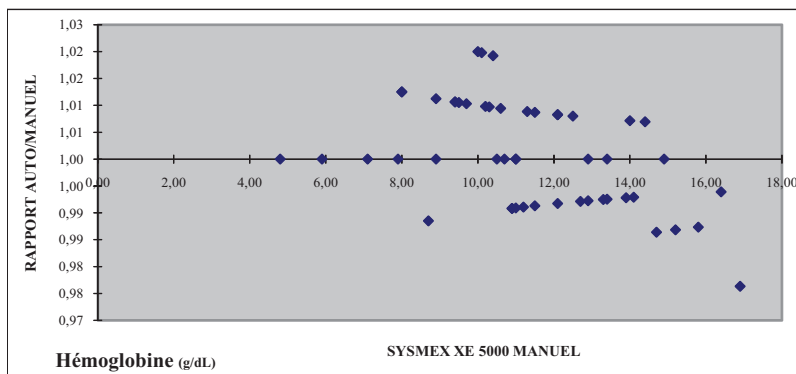
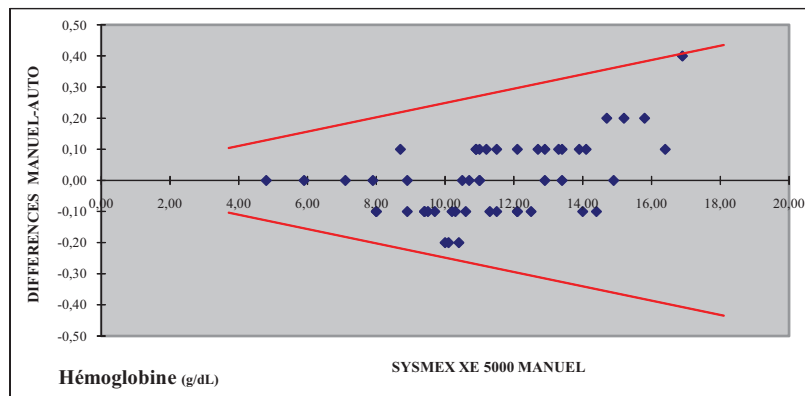
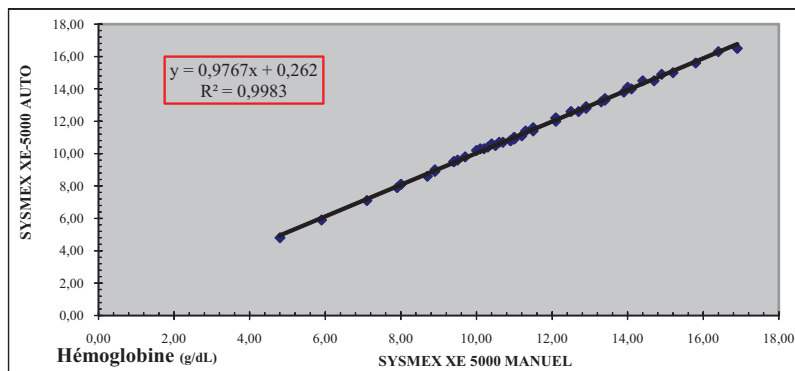
Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000 Réactif : Hémoglobine : Hb
N° Série : A2327 = Sulfolyser
MODE AUTOMATIQUE Lot N° : D1003
= Cellpack

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327 Lot N° : D1069
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Plaquettes : PLA

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

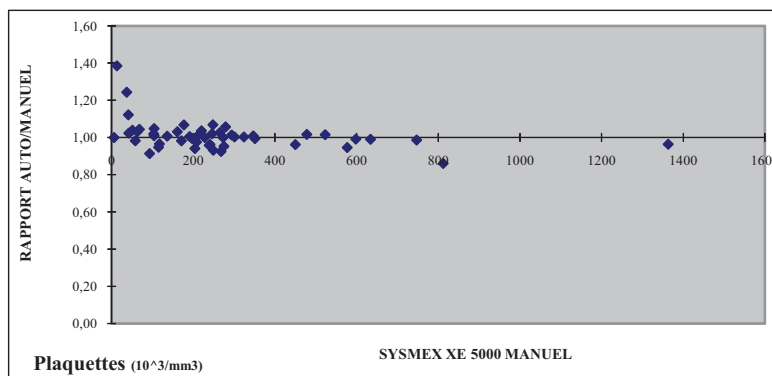
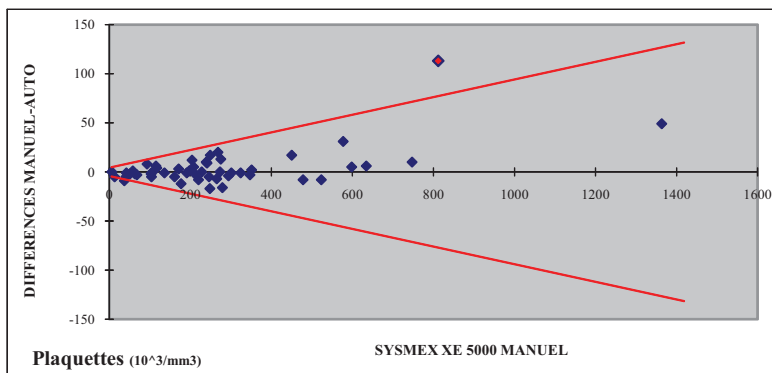
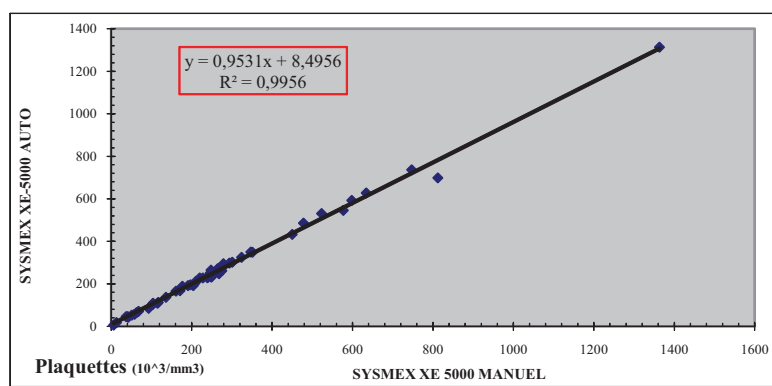
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Réactif : Plaquettes : PLA
= Cellsheat
Lot N° : D1007
= Cellpack
Lot N° : D1069

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Plaquettes : PLA OPTIQUE

Date :24 Mai 2011

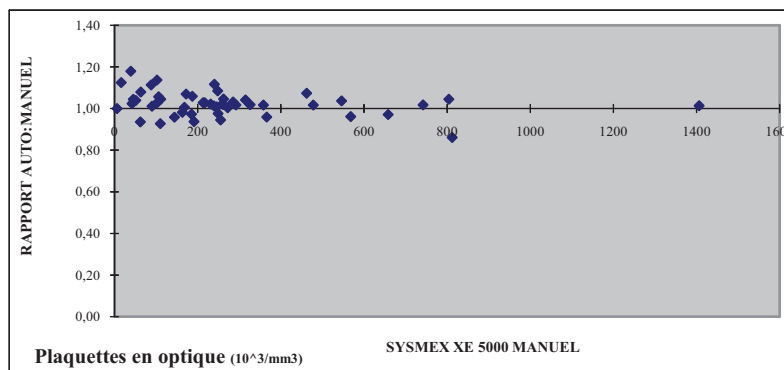
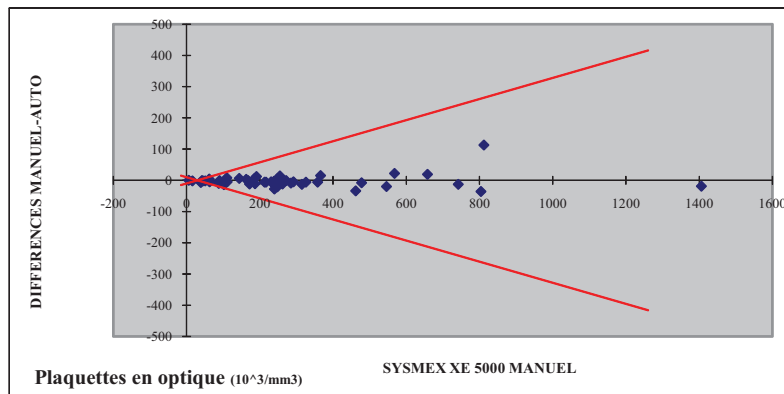
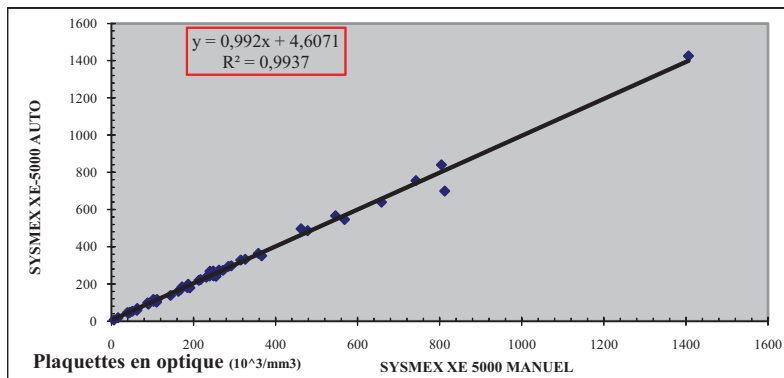
Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000 Réactif : Plaquettes : PLA
N° Série : A2327 = Ret search
MODE AUTOMATIQUE Lot N° : ZA0057
= Cellpack

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000 Lot N° : D1069
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Hématocrite : HT

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

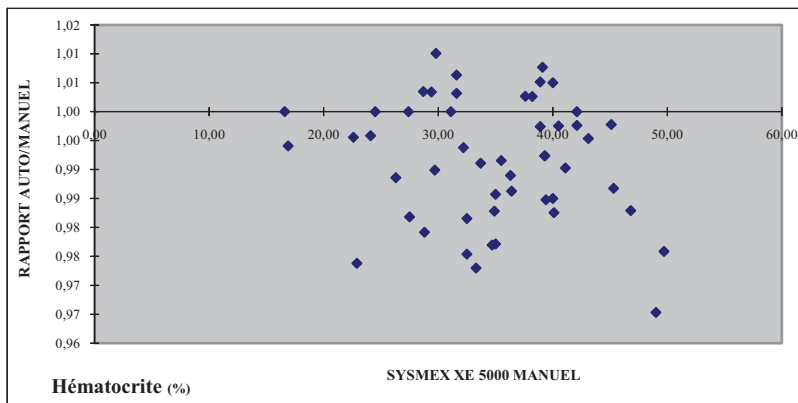
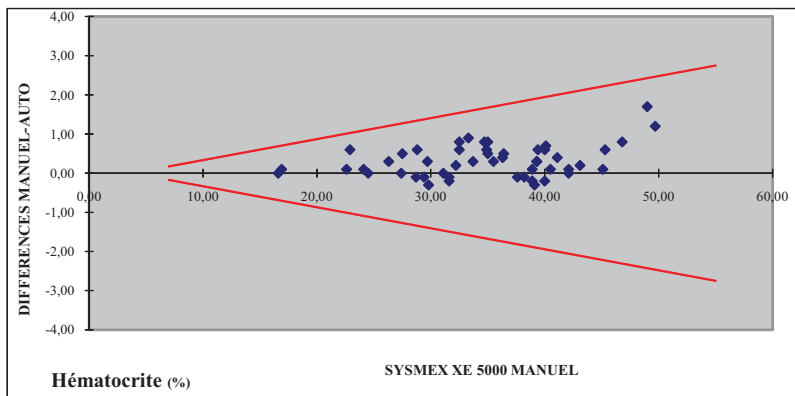
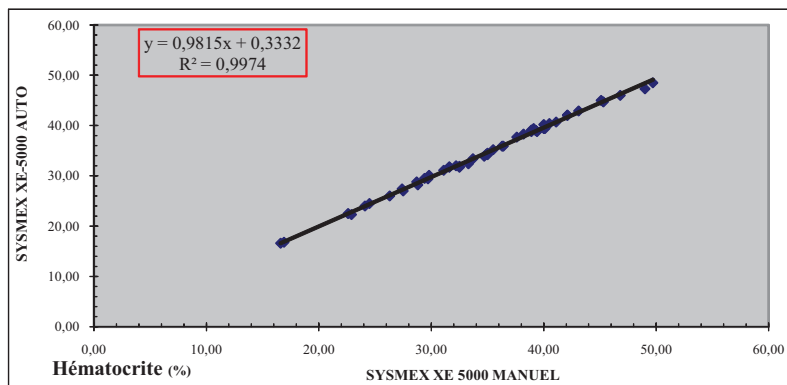
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Hématocrite : HT**
= Cellsheat
Lot N° : D1007
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique

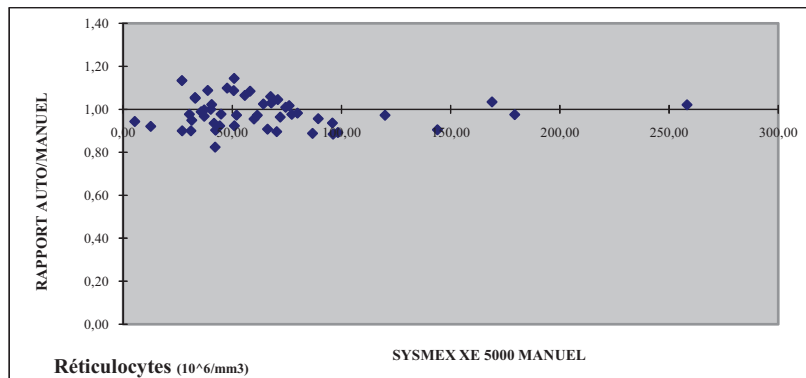
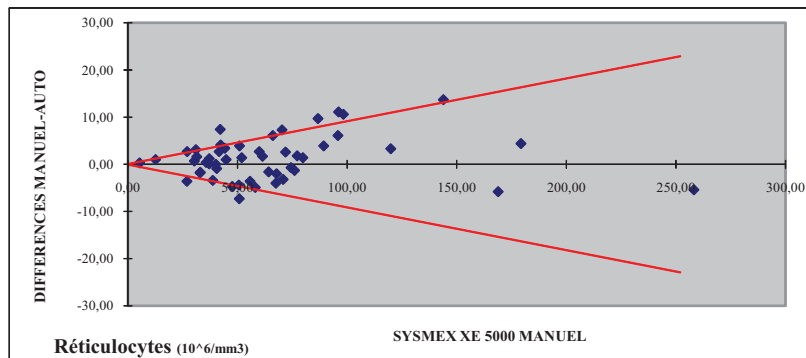
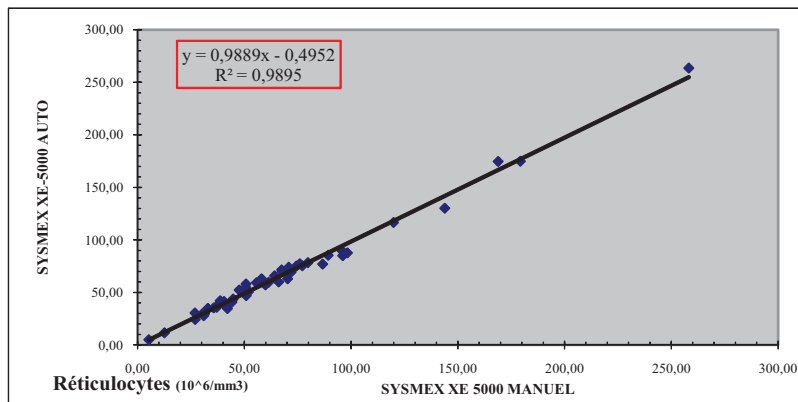


COMPARAISON DE TECHNIQUE

Réticulocytes : RET

Date : 24 Mai 2011		
Site : IBCore Hématologie CHU Rouen		
TECHNIQUE X:	Automate X : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2327 MODE AUTOMATIQUE	Réactif : Réticulocytes : RET = Ret search Lot N° : ZA0057 = Cellpack
TECHNIQUE Y:	Automate Y : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2327 MODE MANUEL	Lot N° : D1069
Sang total / patients EDTA		

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Neutrophiles : Neutro

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

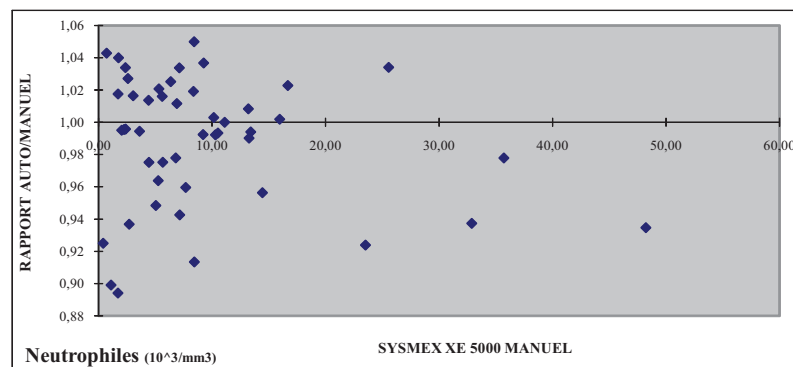
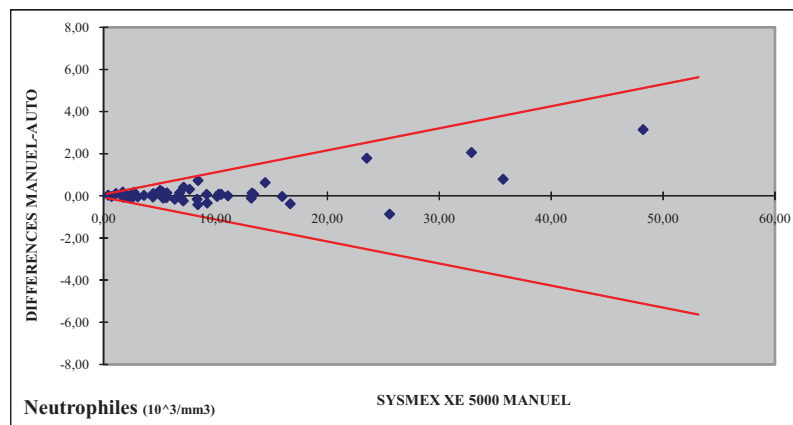
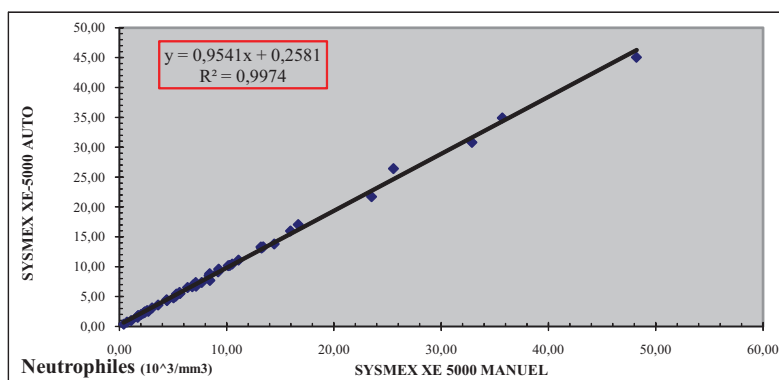
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Neutrophiles : Neutro
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Eosinophiles : Eosino

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

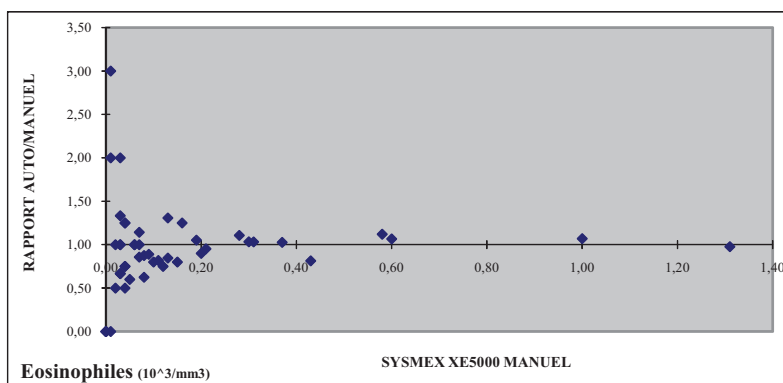
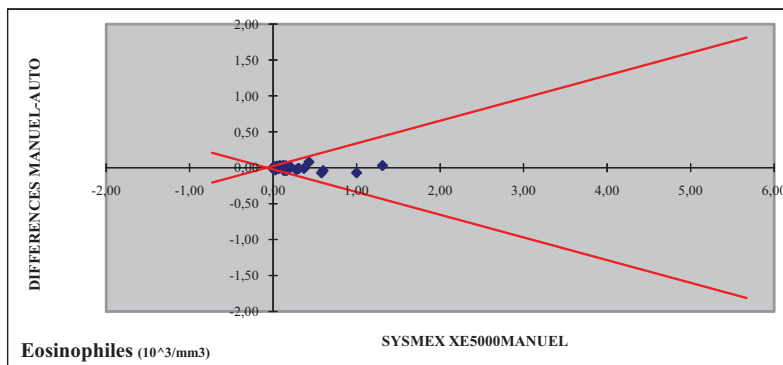
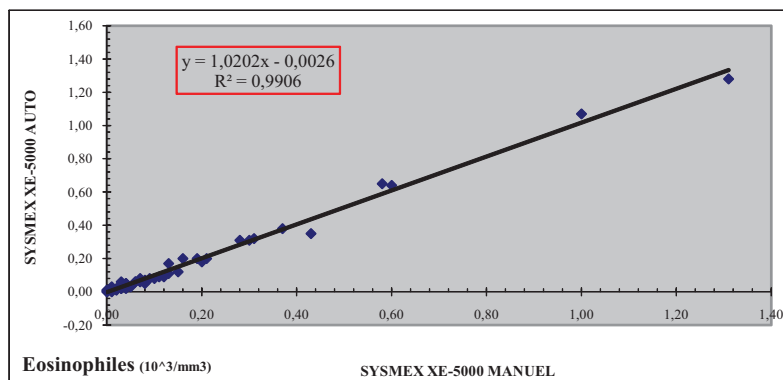
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Eosinophiles : Eosino
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Basophiles : Baso

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

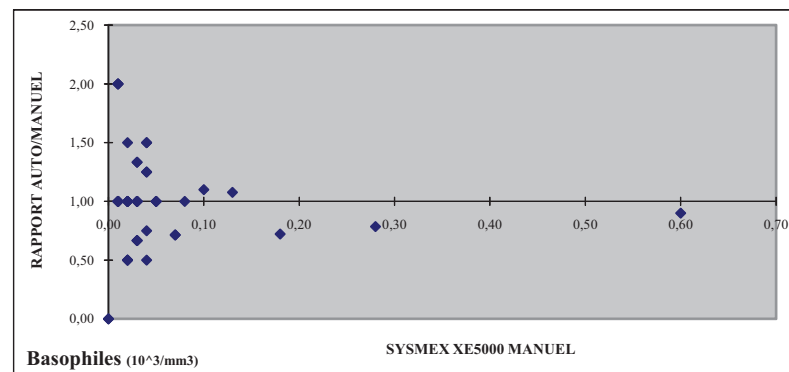
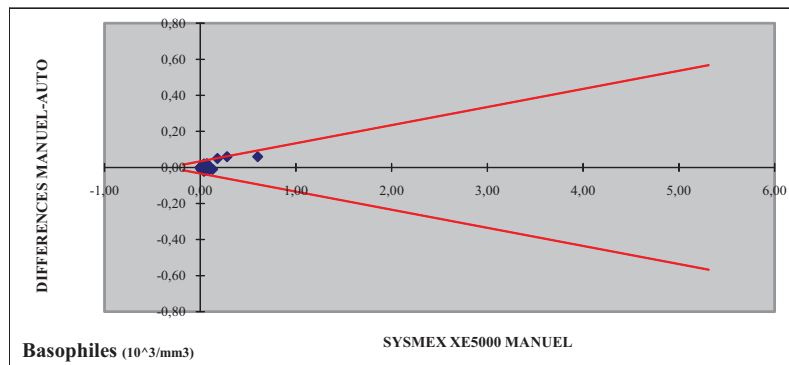
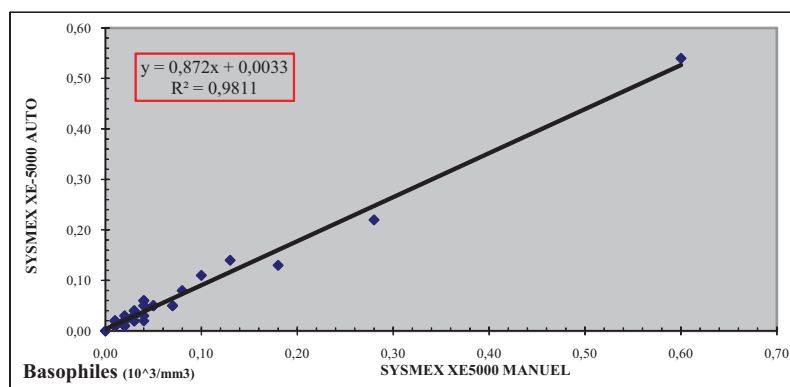
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Basophiles : Baso**
= Stromatolyser FB
Lot N° : D1011
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Lymphocytes : Lympho

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

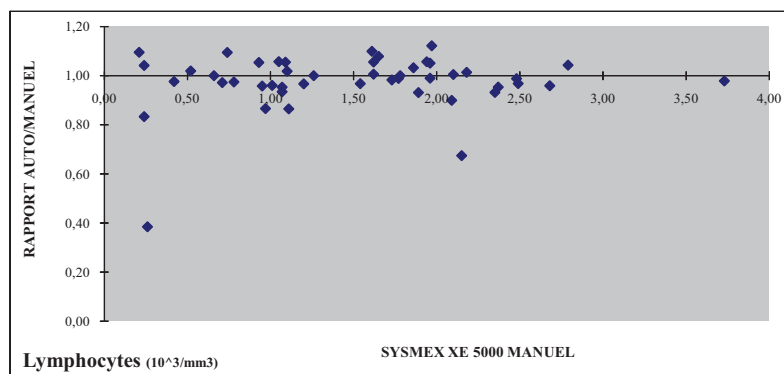
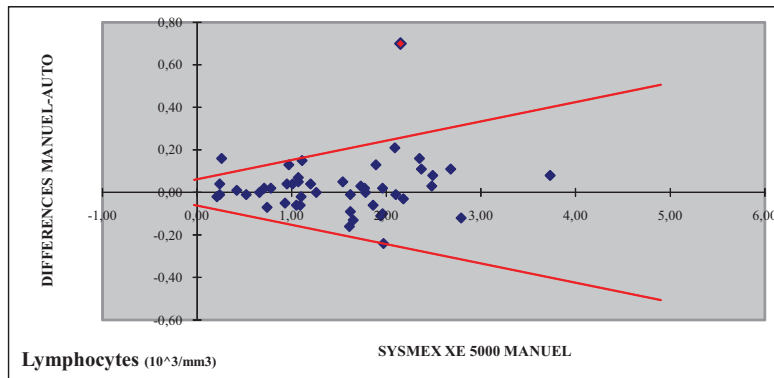
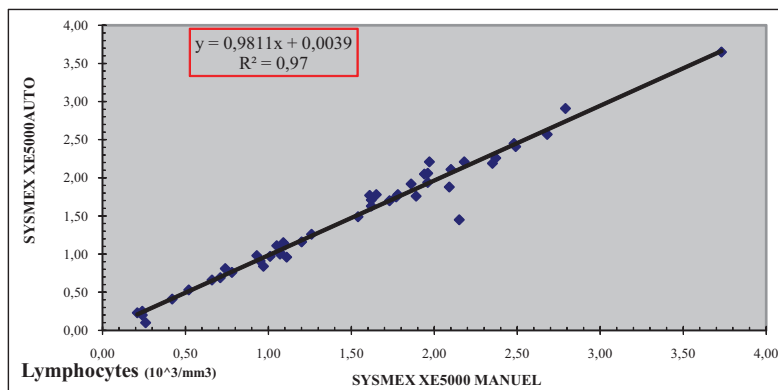
TECHNIQUE X : Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Lymphocytes : lympho
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y : Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Monocytes : Mono

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

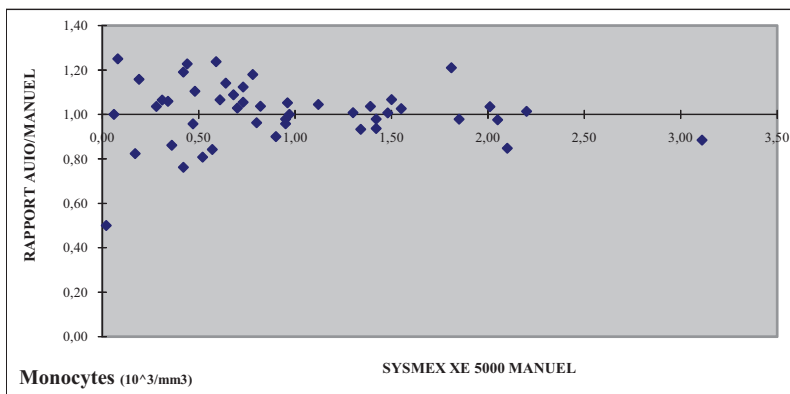
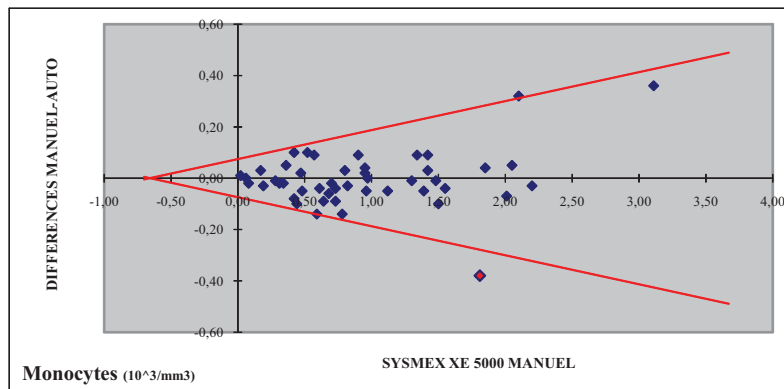
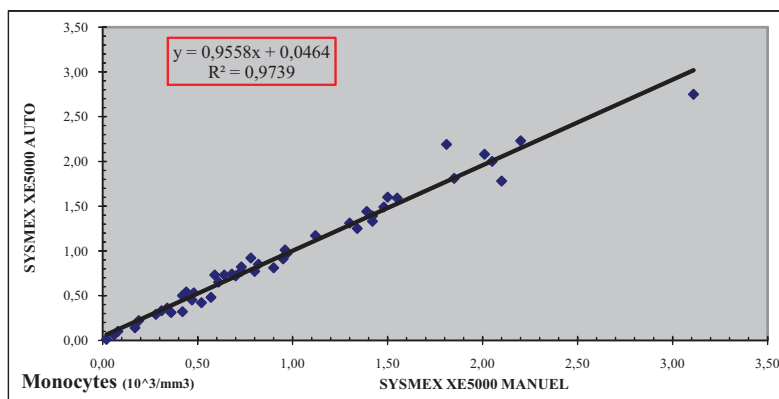
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : **Monocytes : Mono**
= Stromatolyser 4DL
Lot N° : D1007
= Stromatolyser 4DS
Lot N° : D1020
= Cellpack
Lot N° : D1069

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique

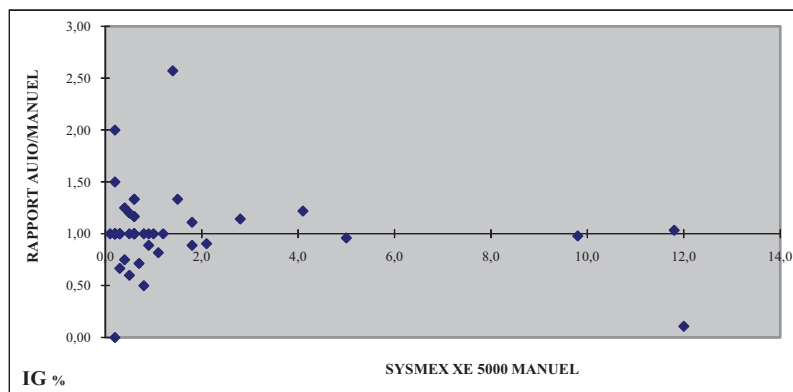
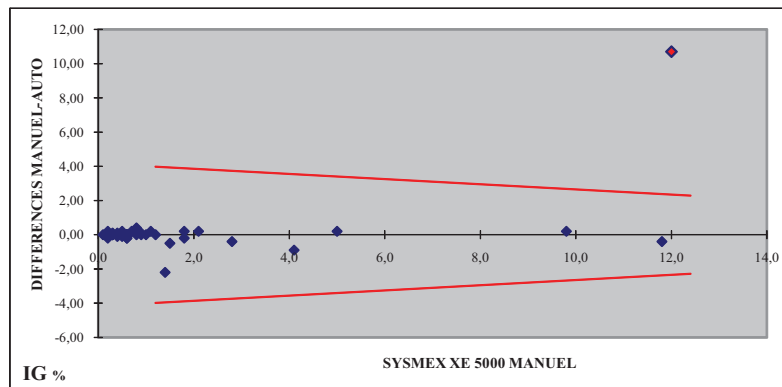
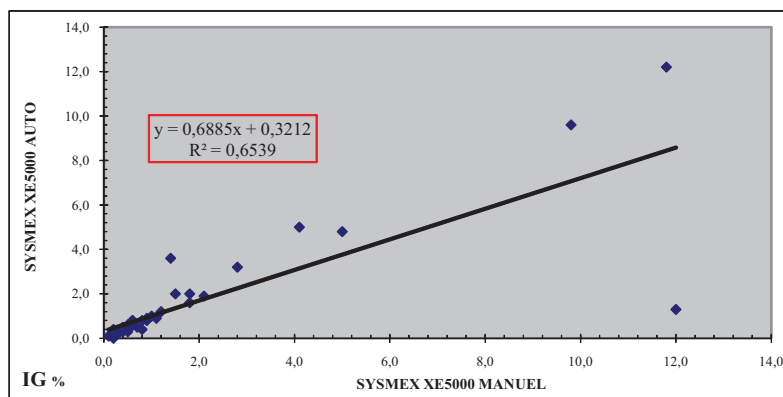


COMPARAISON DE TECHNIQUE

Myélémie : IG %

Date : 24 Mai 2011		
Site : IBCore Hématologie CHU Rouen		
TECHNIQUE X :	Automate X : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2327 MODE AUTOMATIQUE	Réactif : Myélémie: IG = Stromatolyser IMI Lot N° : D1006
TECHNIQUE Y :	Automate Y : SYSMEX XE-5000 N° Série : A2327 MODE MANUEL	= Cellpack Lot N° : D1069
Sang total / patients EDTA		

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Erythroblastes : ERB

Date :24 Mai 2011

Site :IBCore Hématologie CHU Rouen

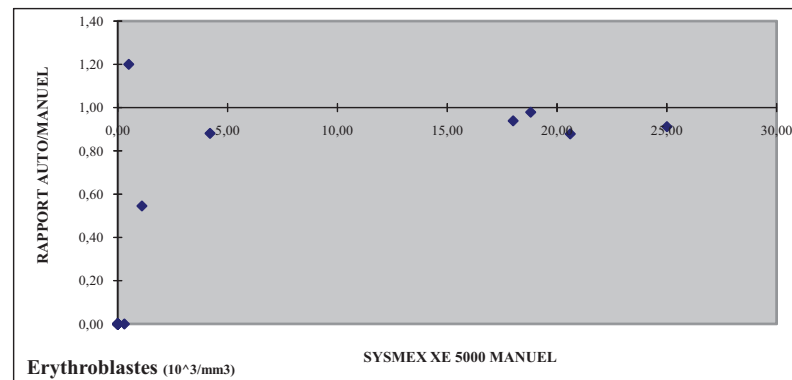
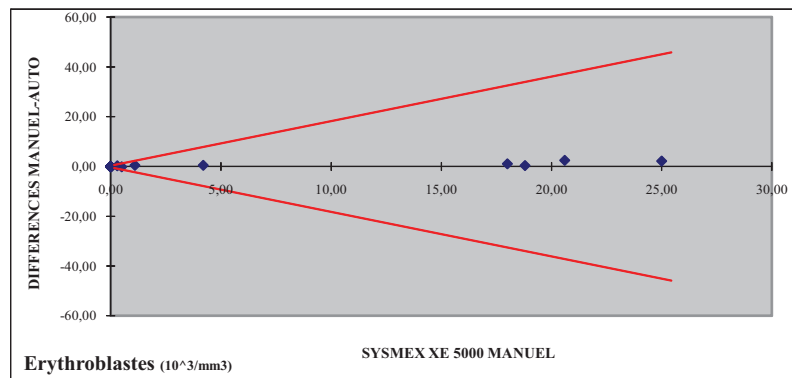
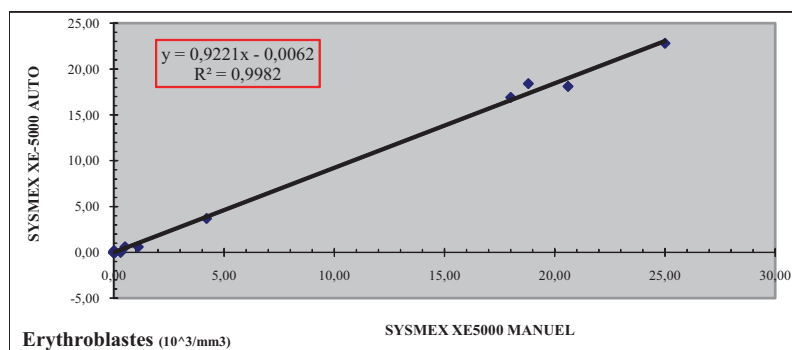
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

Réactif : Erythroblastes : ERB
= Stromatolyser NR
Lot N° :
= Cellpack
Lot N° :

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE MANUEL

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



ANNEXE 10

**Comparaison du XE A2326 (XE1) et du XE A2327
(XE2) en mode automatique**

COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Blancs : GB

Date : 24/05/2011

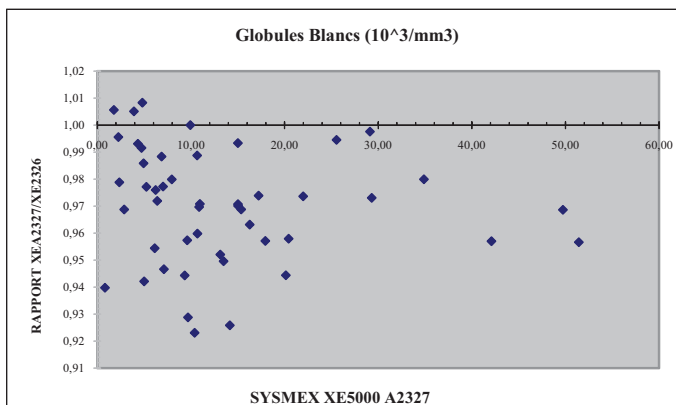
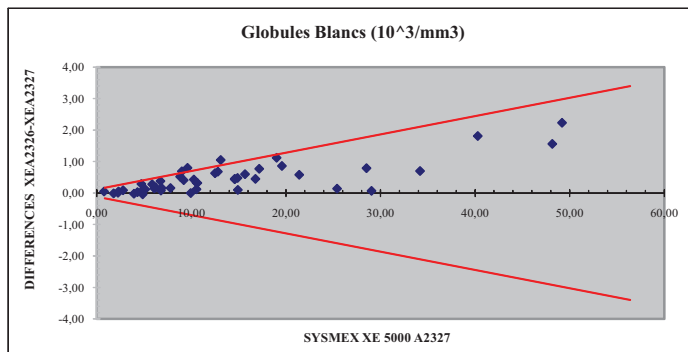
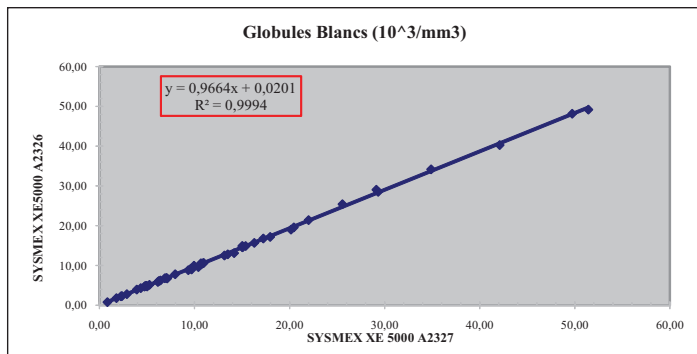
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Rouges : GR

Date : 24/05/2011

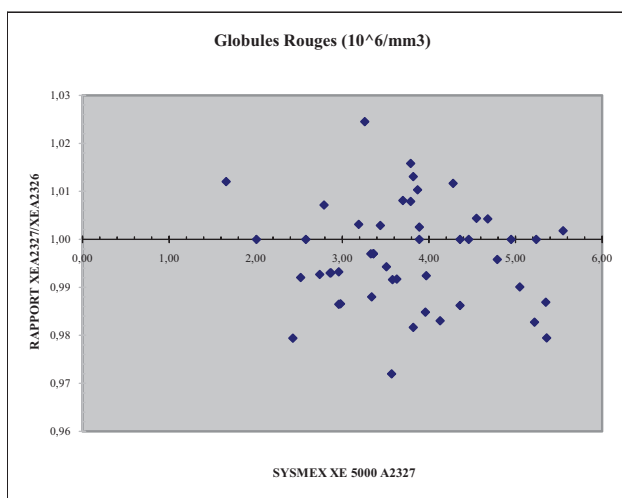
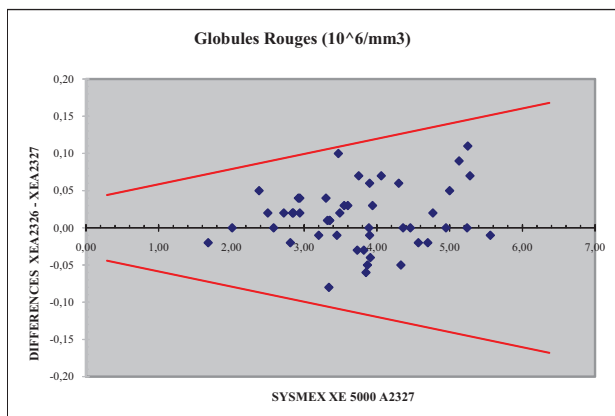
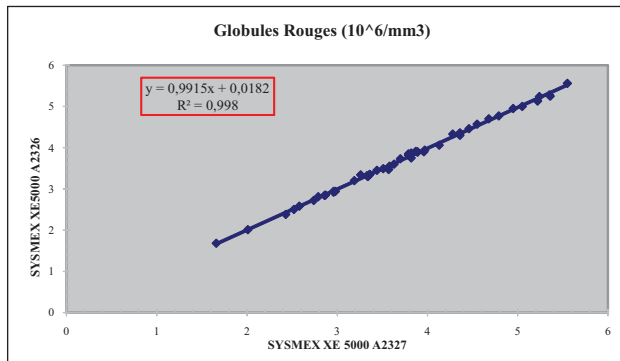
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Globules Rouges : GR OPTIQUE

Date : 24/05/2011

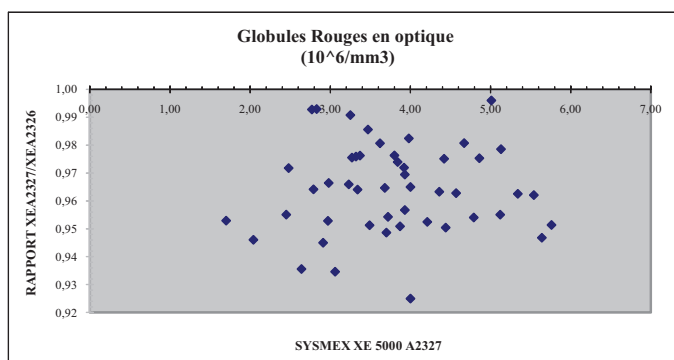
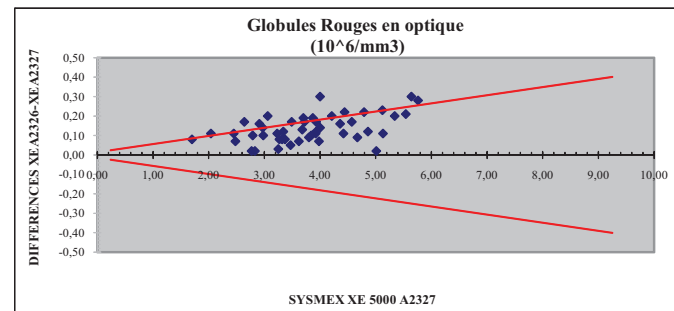
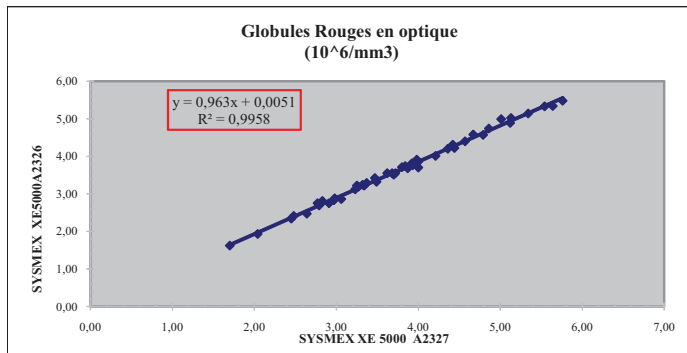
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Hémoglobine : Hb

Date : 24/05/2011

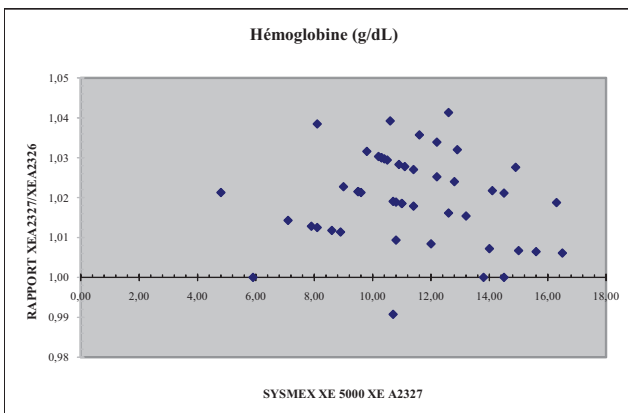
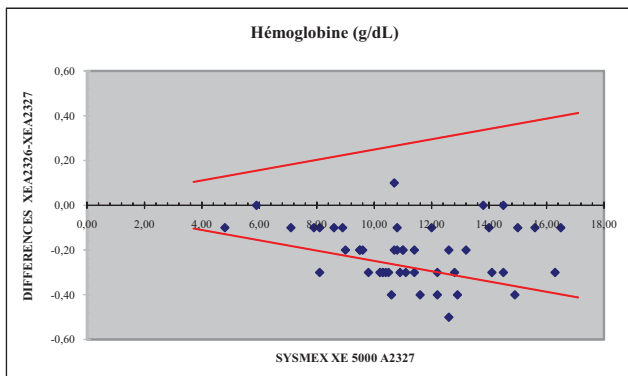
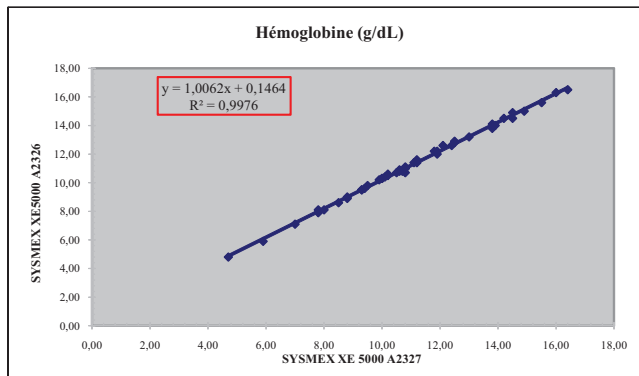
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Plaquettes : PLA

Date : 24/05/2011

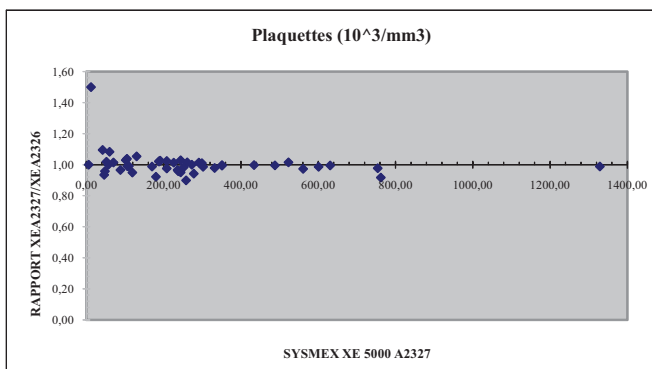
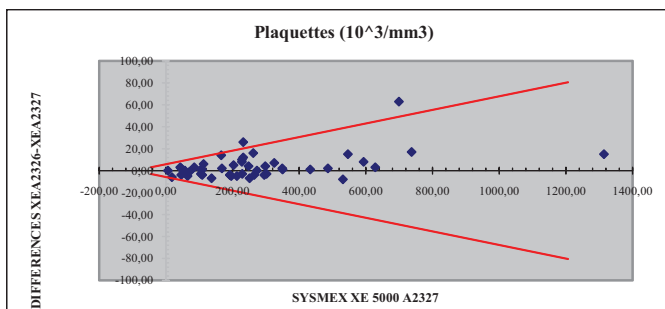
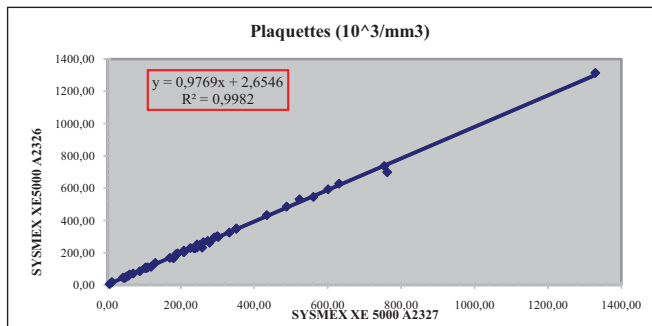
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Plaquettes : PLA OPTIQUE

Date : 24/05/2011

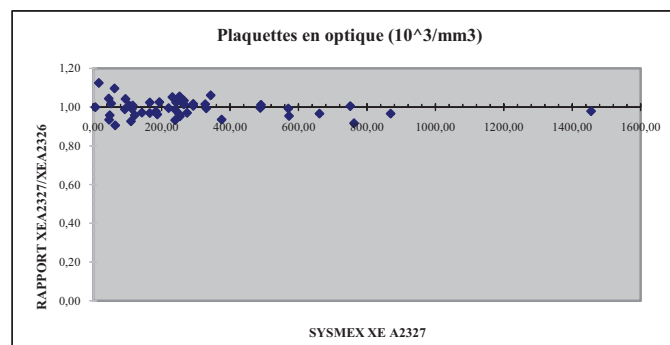
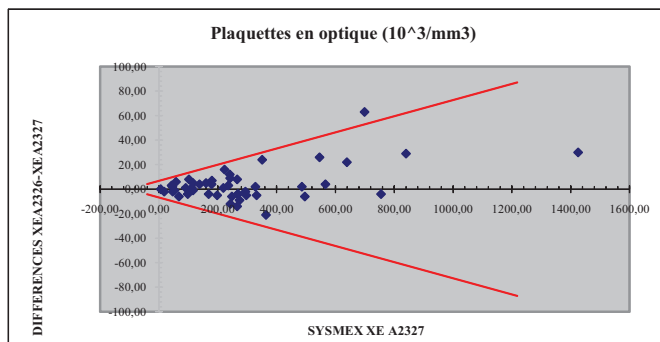
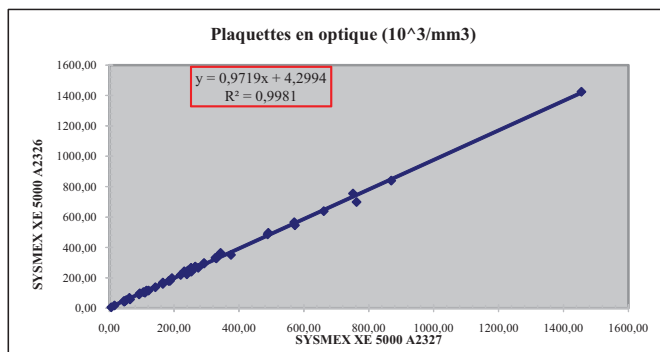
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Hématocrite : HT

Date : 24/05/2011

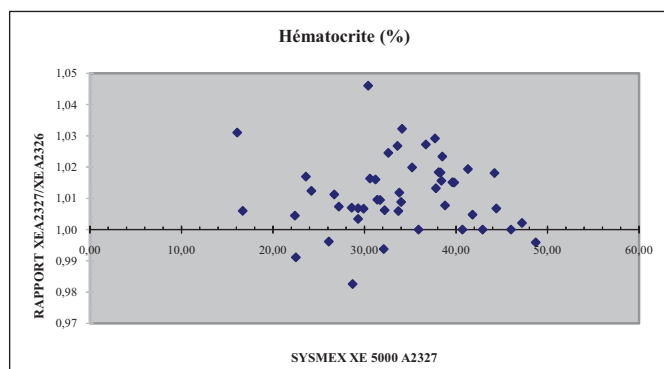
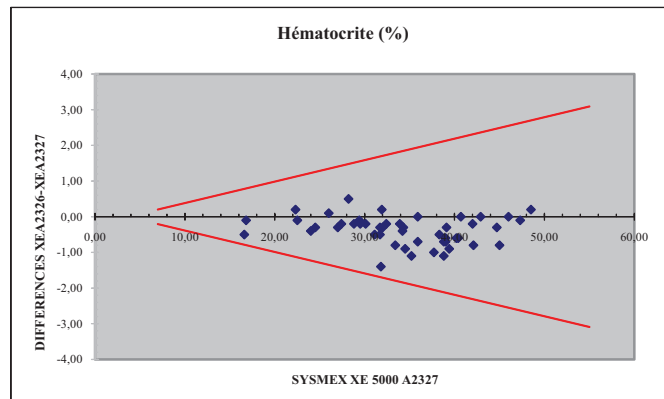
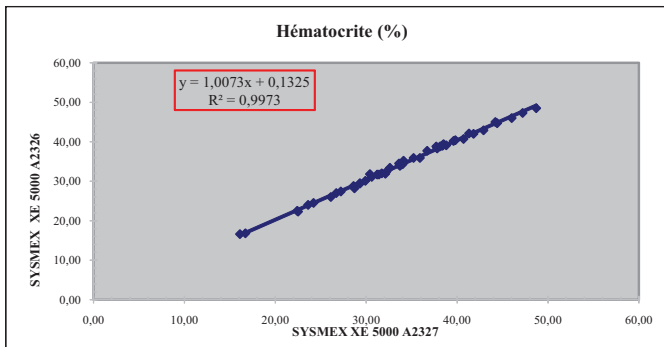
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Réticulocytes : RET

Date : 24/05/2011

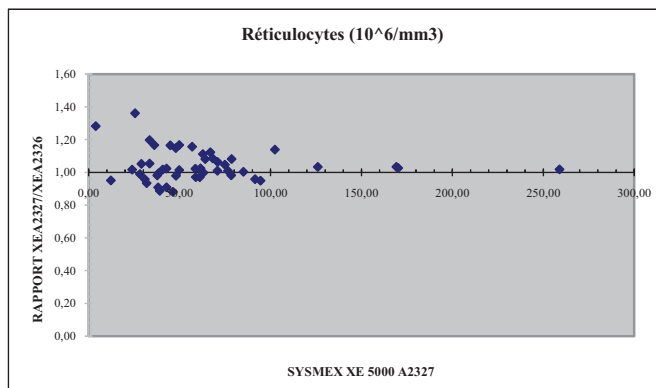
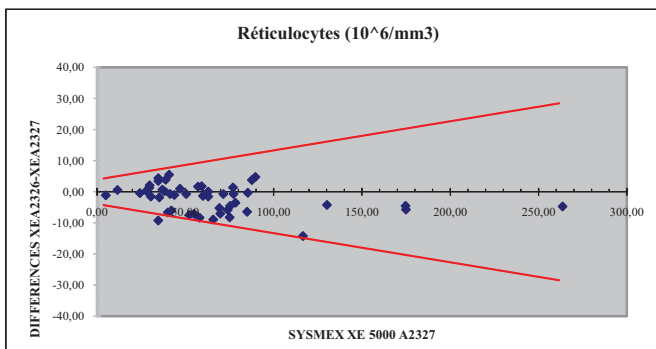
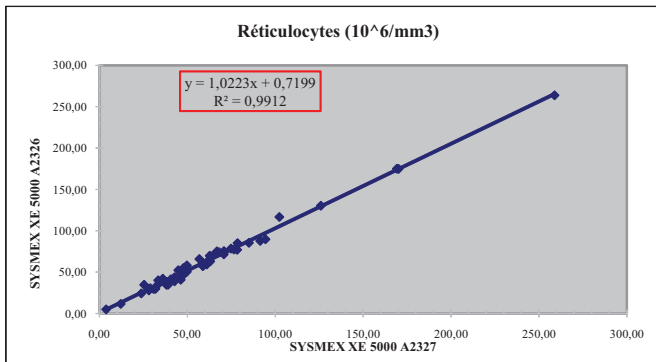
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Neutrophiles : Neutro

Date : 24/05/2011

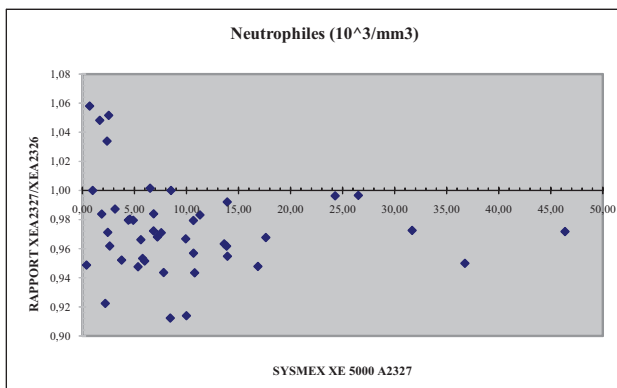
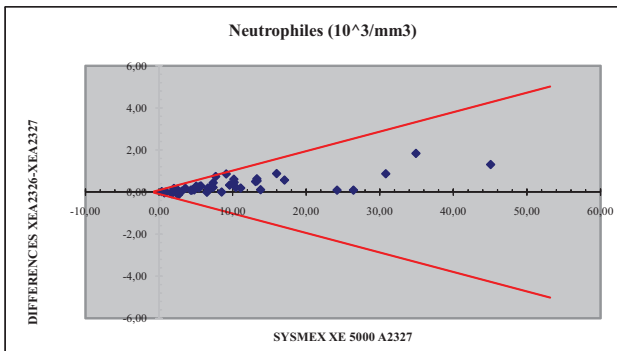
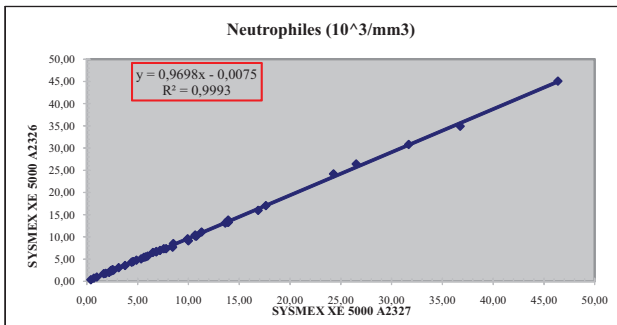
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X : Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y : Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Eosinophiles : Eosino

Date : 24/05/2011

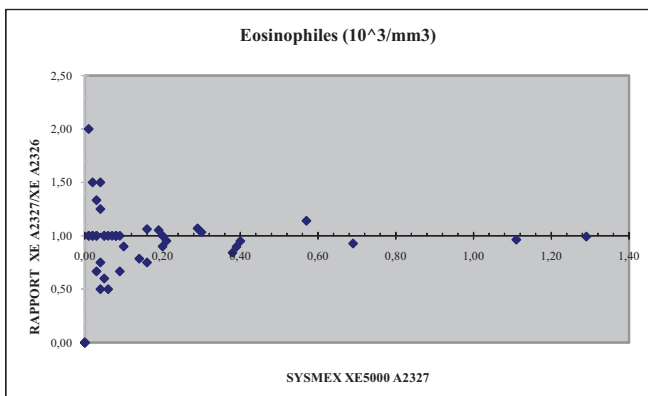
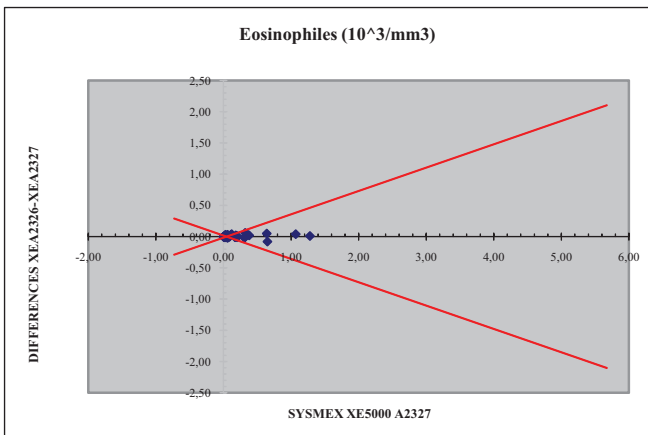
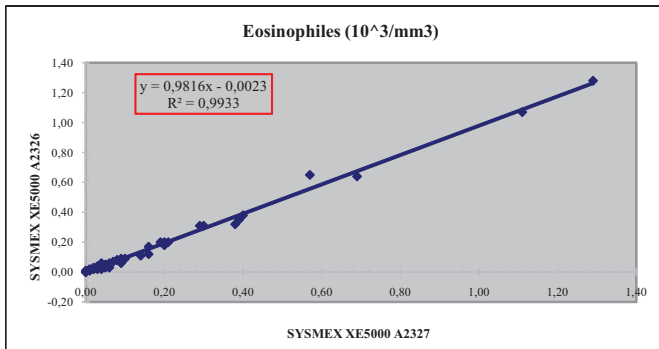
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X : Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y : Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Basophiles : Baso

Date : 24/05/2011

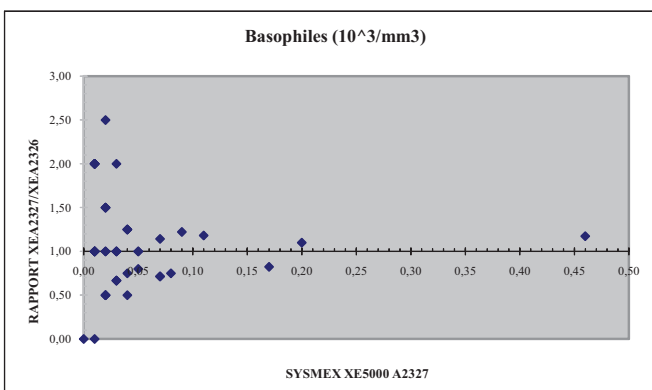
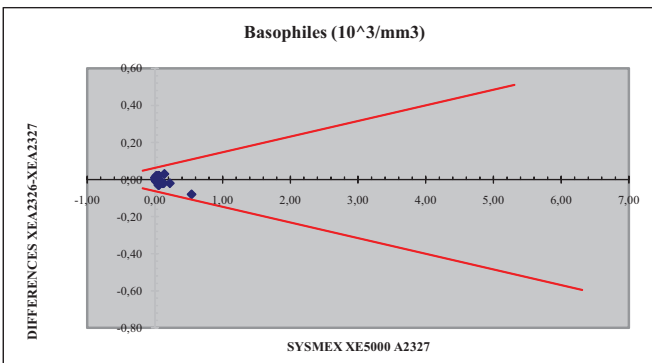
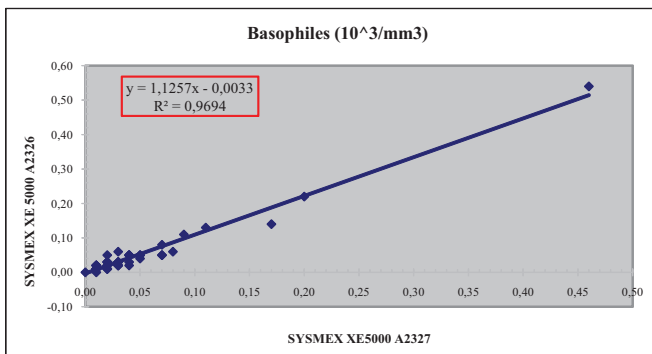
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X : Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y : Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Lymphocytes : Lympho

Date : 24/05/2011

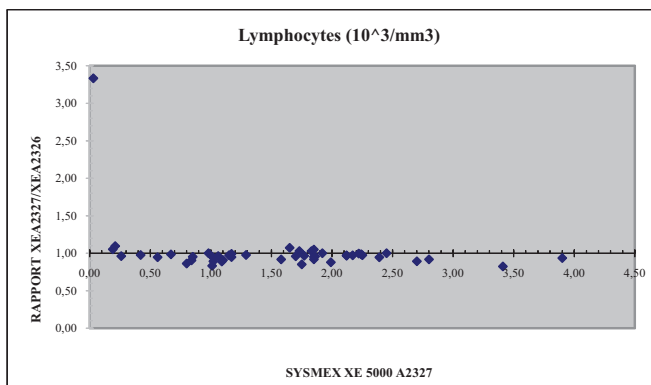
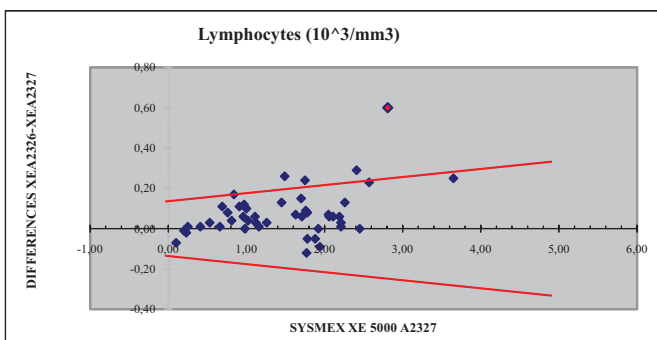
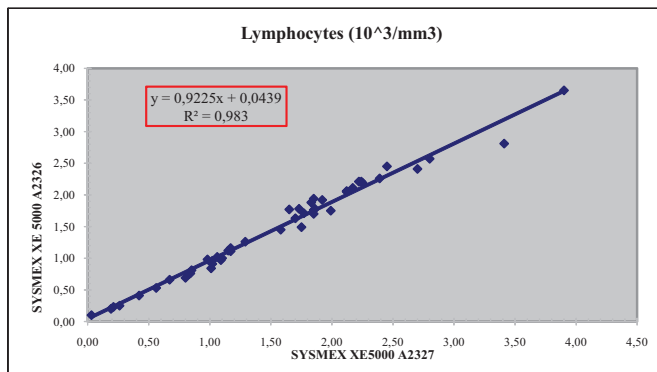
Site : JBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Monocytes : Mono

Date : 24/05/2011

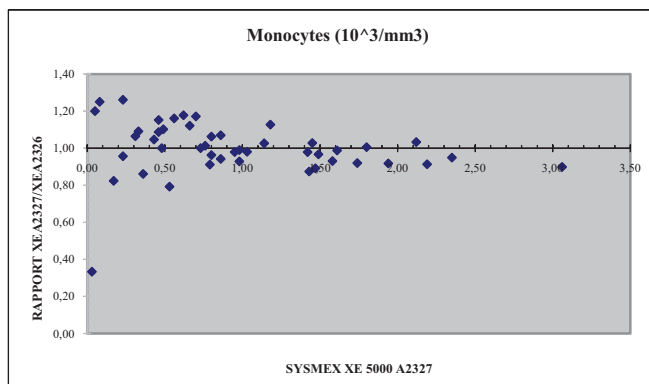
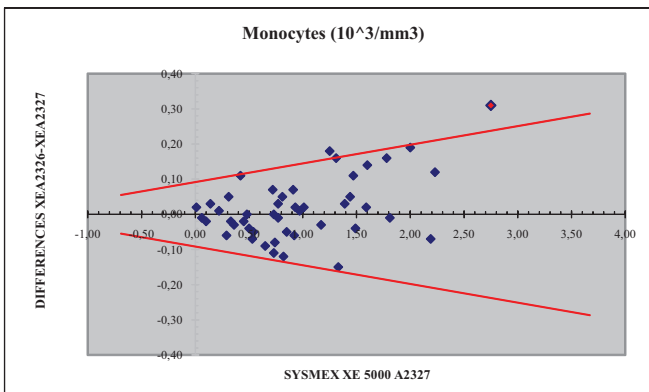
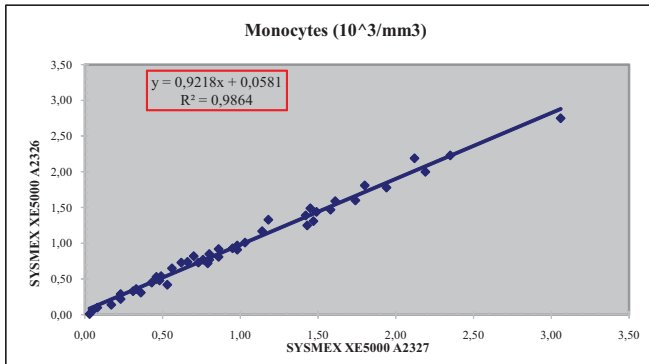
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Erythroblastes : ERB

Date : 24/05/2011

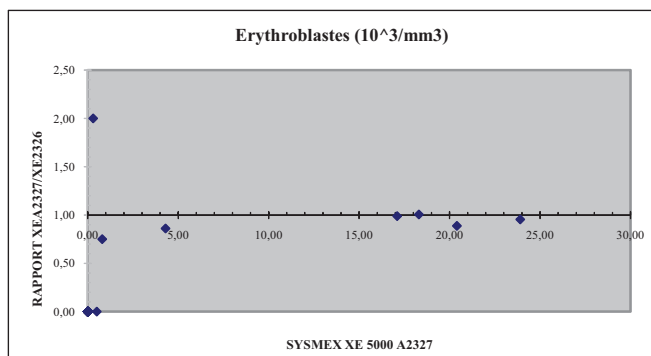
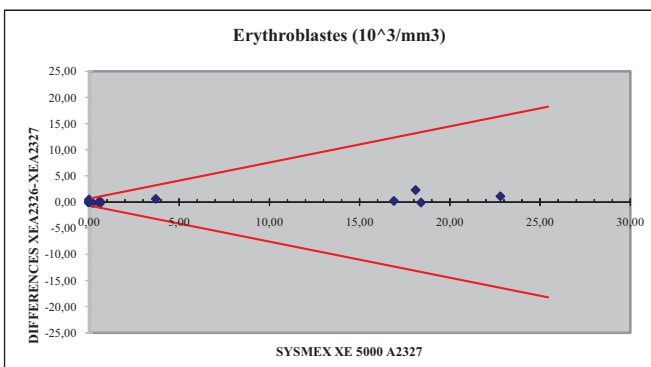
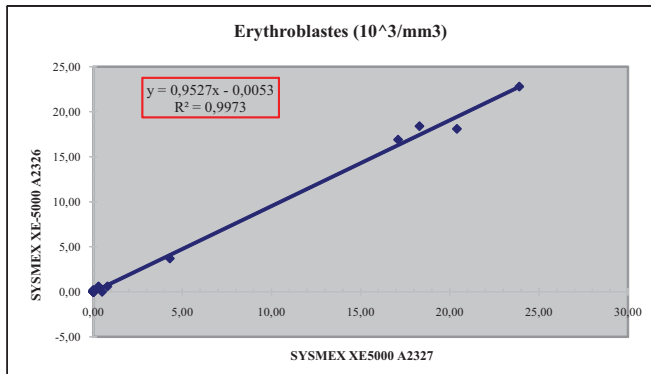
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X : Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y : Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Myélémie: IG %

Date : 24/05/2011

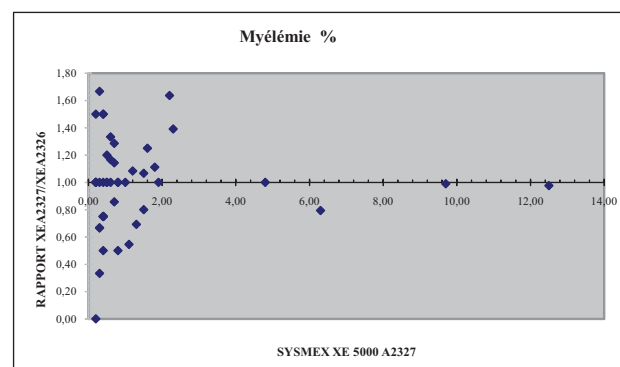
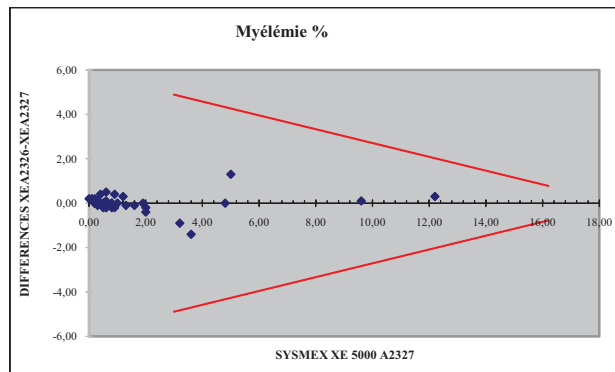
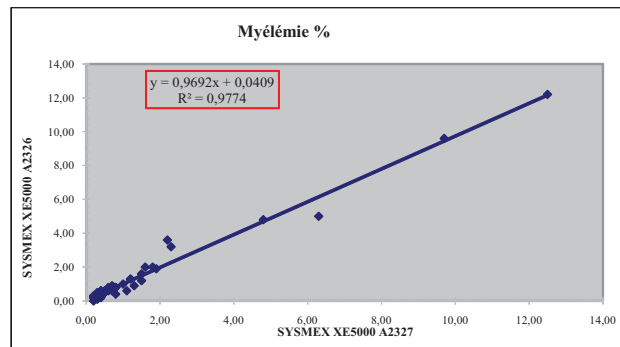
Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2327
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



ANNEXE 11

**Comparaison du XE A2326 (XE1) et du LH 750
(AG42602) en mode automatique**

COMPARAISON DE TECHNIQUE

Volume moyen plaquettaire: VMP

Date : 24/05/2011

Site : IBC Hématologie CHU ROUEN

TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000

N° Série : A2326

MODE AUTOMATIQUE

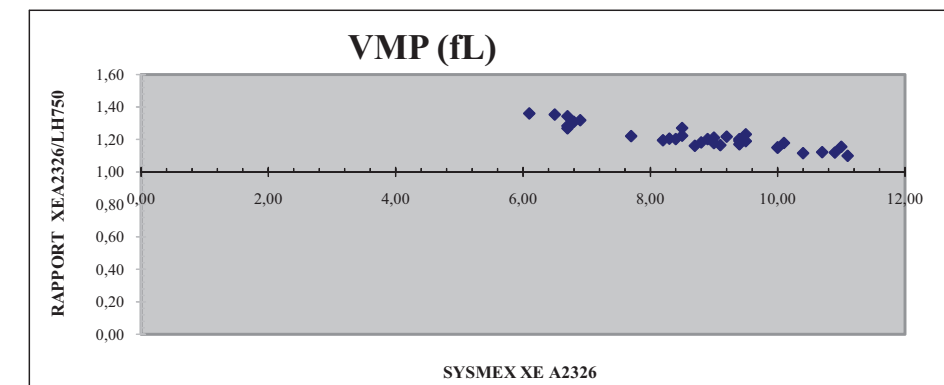
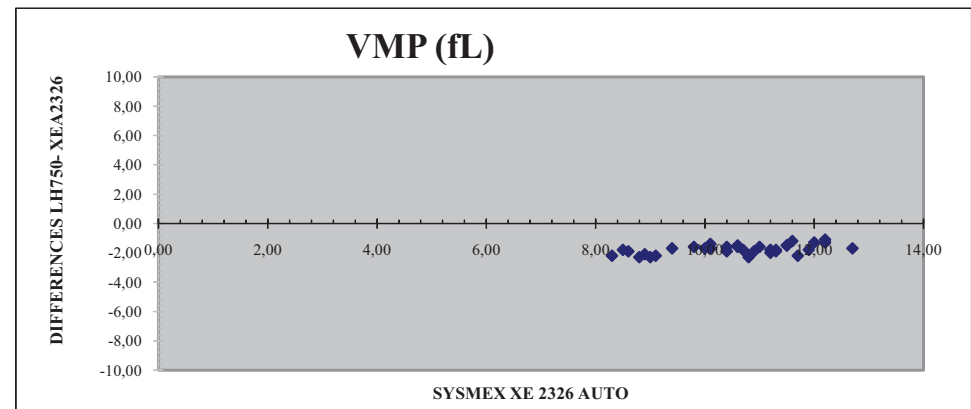
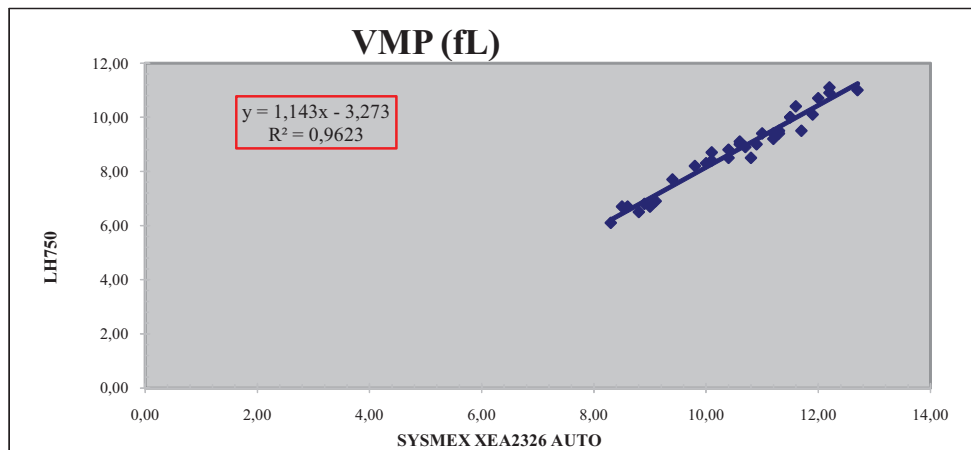
TECHNIQUE Y: Automate Y : LH750

N° Série : AG42602

MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

Représentation graphique



COMPARAISON DE TECHNIQUE

Indice de distribution plaquettaire: IDP

Date :24/05/2011

Site :IBC Hématologie CHU ROUEN

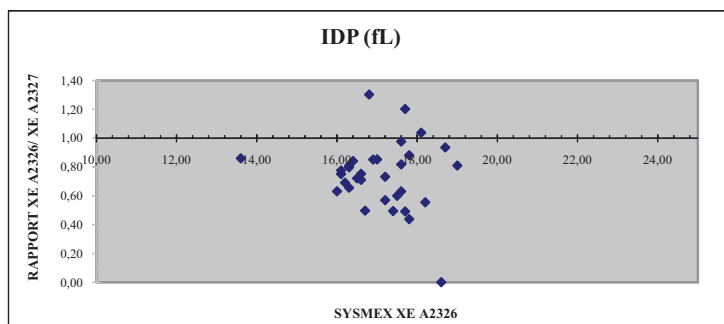
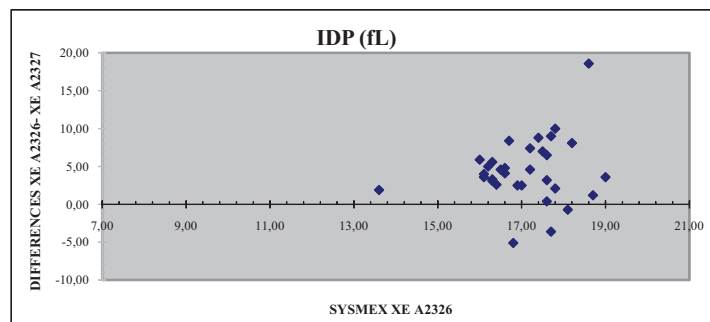
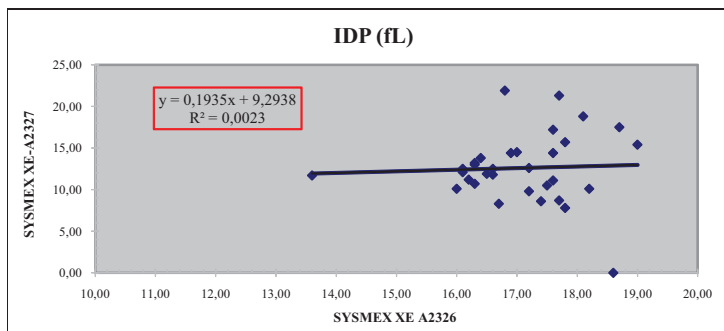
TECHNIQUE X: Automate X : SYSMEX XE-5000
N° Série : A2326
MODE AUTOMATIQUE

TECHNIQUE Y: Automate Y : LH750
N° Série : AG42602
MODE AUTOMATIQUE

Sang total / patients EDTA

CORRELATION DE TECHNIQUE

Représentation graphique



ANNEXE 12

SH FORM 43



FICHE TYPE QUANTITATIF

Vérification (portée A) / validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Référence : SH FORM 43

Indice de révision : 00

Date d'application : 15/04/11

Note : le laboratoire se réfèrera 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 :

HEMOGRAMME

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte/Mesurande :	Globules Blancs (GB)
Principe de la Mesure :	Diffraction en cytométrie de flux
Méthode de mesure :	Lyse spécifique des GB excepté les basophiles
Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...) :	Sang total
Type de récipient, Additifs (tubes, ...) :	Tube EDTA
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution,	Aucun
Unités :	G/L
Intervalles de référence (G/L) ⁶ :	Homme : 4-10 G/L Femme : 4-10 G/L 0 – 7 jours : 10-30 G/L 7 jours – 3 mois : 6-18 G/L 3 mois – 3 ans : 6-15 G/L 3 ans – 6 ans : 5-13 G/L 6 ans – 16 ans : 5-11 G/L
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	
Instrument (analyseur automatique, etc.) :	Analyseur automatique Sysmex :XE5000 A2326 mode automatique
Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :	Stromatolyseur FBA
Matériau d'étalonnage (références)/ Raccordement	
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :	Igout Laure
Procédure de validation :	N°4544
Procédure de gestion de la portée flexible :	A Faire
Période d'évaluation :	20/05/2011 au 30/05/2011
Date de mise en service :	31/05/2011
Autorisation de mise en service par :	Dr Bernard Lenormand

⁶ Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



FICHE TYPE QUANTITATIF

Vérification (portée A) / validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Référence : SH FORM 43

Indice de révision : 00

Date d'application : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :	Tube EDTA obligatoire	Vérification du tube prélevé en phase préanalytique
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :	Aucun	NA
Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	En cours	En cours
Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage,...) :	T° Ambiante :15°C à 35C° (Spécifications fournisseurs)	Installation de sondes d'ambiance prévue
Référence du réactif (référence fournisseur, version) :	Stromatolyser FBA	Traçabilité des réactifs et des lots de réactifs par l'automate
Matériau de référence :	Non applicable	Non applicable
Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques		

* item à renseigner si nécessaire



FICHE TYPE QUANTITATIF

Vérification (portée A) / validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Référence : SH FORM 43

Indice de révision : 00

Date d'application : 15/04/11

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) :

Répétabilité:

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (G/L)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite RICOS	Conclusion ⁷
Contrôle :niveau 1 (lot 1099)	30	2.78	0.07	2.54	3	5.86	Conforme
Contrôle niveau 2 (lot 1099)	30	6.63	0.13	1.96	3	5.86	Conforme
Contrôle niveau 3 (lot 1099)	30	16.74	0.15	0.88	3	5.86	Conforme

Conclusions :Conforme

Fidélité intermédiaire :

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite RICOS	Conclusion ²
Contrôle:niveau 1 (lot 1155)	30	2.75	0.08	2.95	3.99	5.20	Conforme
Contrôle niveau 2 (lot 1155)	30	6.41	0.11	1.66	3.99	5.20	Conforme

Conclusions : Conforme

Justesse (approche de la) : En cours

Cas des contrôles internes externalisés

Echantillons	Nombre (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Moyenne générale (toutes)	Biais(%) /groupe de pairs	Biais(%) /moyenne générale	Biais(%) limite	Conclusion
Echantillon								
Echantillon CIQ								

Conclusions :

⁷ Conforme/non conforme



FICHE TYPE QUANTITATIF

Vérification (portée A) / validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Référence : SH FORM 43

Indice de révision : 00

Date d'application : 15/04/11

Exactitude : en attente du contrôle externe de qualité

Cas des contrôles externes ponctuels

Echantillons	Nombre (N)	Valeur Labo ⁸	Cible (groupe de pairs)	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) /groupe de pairs	Biais (%) /moyenne générale	Biais (%) limite ⁹	Conclusion
Echantillon CQN								
Echantillon ponct xy								
Echantillon ponct zy								

Conclusions :

A FAIRE

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	
Quantification de l'incertitude	
Quantification de l'incertitude	
Interprétation :	

Conclusions :

COMPARAISON DE METHODES :	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou EBMD :	Appareils en miroir : oui, comparaison mode automatique XE 5000 A2326/XE 5000 A2327
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire :	0.7 à 52 G/L
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres rectangles
Equation de la droite de régression :	$y = 0,9664x + 0,0201$
Diagramme des différences et/ou des rapports :	Nombre de déviants : 1
Conclusions et dispositions ¹⁰ :	Conforme

⁸ Nombre de chiffres significatifs

⁹ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

¹⁰ Le laboratoire précise les dispositions mises en œuvre (par exemple : utilisation **transitoire et documentée** d'un facteur de correction).



FICHE TYPE QUANTITATIF

Vérification (portée A) / validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Référence : SH FORM 43

Indice de révision : 00

Date d'application : 15/04/11

INTERVALLE DE MESURE (indispensable en portée B)

(si possible et pertinent, ex : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH) :

Mode de détermination :	NA
Limite inférieure de linéarité (de quantification)/Profil de fidélité :	NA
Limite supérieure de linéarité :	NA

INTERFERENCES

(ex : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) :

Vérification bibliographique :	Spécifications fournisseurs
Vérification :	NA

CONTAMINATION

(indispensable en portée B et pour les paramètres sensibles en portée A)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, β HCG) :	OUI
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT,	NA
Vérification bibliographique :	Spécifications fournisseurs
Vérification :	Sur sang de contrôle :Contamination inter échantillon : 0.11%

Commentaires éventuels :



FICHE TYPE QUANTITATIF

Vérification (portée A) / validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Référence : SH FORM 43

Indice de révision : 00

Date d'application : 15/04/11

RESUME

Le Pôle de Biologie Clinique, étant entré de longue date dans une démarche qualité, a décidé, pour répondre à la norme NF 15189, de faire accréditer pour Octobre 2012 au moins une analyse de chaque laboratoire.

Au laboratoire d'Hématologie, où je travaille en tant que technicienne et co-responsable qualité, les biologistes ont décidé de faire accréditer la chaîne automatisée des Hémogrammes, ce qui implique, dans un premier temps, une vérification des performances sur site des nouveaux analyseurs : les XE 5000 de Sysmex, sujet qui a été choisi pour ce DU qualité.

Après avoir défini nos critères d'acceptabilités et notre plan d'actions, j'ai mis en œuvre les expériences de vérification que sont : la répétabilité, la reproductibilité, le seuil de quantification, la limite de détection, la contamination inter-échantillon et la comparaison des méthodes. Après l'étude et la compilation des résultats obtenus, les XE 5000 répondent bien aux critères d'acceptabilité que nous avons préétablis et les biologistes ont approuvé leurs passages en production. Toutefois pour valider notre méthode, il nous reste, la justesse et l'incertitude de mesure à évaluer mais il nous faut aussi écrire toutes les procédures et modes opératoires correspondants à cette méthode.

Afin de mettre à profit cette expérience et ce travail, le protocole de cette vérification de méthode va être intégré au système de gestion documentaire. Ainsi tout le personnel du Pôle pourra le consulter et s'en inspirer. Nous savons maintenant qu'une vérification de méthode doit être extrêmement bien planifier pour limiter les difficultés.

Grâce ce travail, la démarche qualité, au sein du laboratoire d'Hématologie, se trouve dynamisée, tout le personnel a pris conscience du travail à fournir pour répondre aux exigences de la norme EN ISO 15189.