

**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 AU SYSTEME IMMULITE 2000 XPi**

Mohammed BOUYACOUB

2011/2012

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.

Dr. Mohammed BOUYACOUB

Praticien attaché

Laboratoire Hormones-marqueurs

**Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et
hormonologie**

CHU Kremlin Bicêtre

GH Paris SUD

Remerciements

A l'ensemble des personnes qui ont œuvré à la réalisation de mon projet et plus particulièrement aux intervenants et responsables du DU Assurance Qualité.

Au participants du DU Assurance Qualité pour leurs échanges constructifs tout au long de la formation.

A l'ensemble du personnel du laboratoire d'hormonologie pour leur soutien.

Sommaire

GLOSSAIRE	6
I.Présentation du laboratoire d'hormonologie.....	8
II.INTRODUCTION	8
III.Vérification des performances.....	9
A. Mesurande	9
B. Méthodologie	10
1. Contenu du dossier	10
2. Plan de travail.....	11
3. Matériel	11
4. Protocole de vérification.....	12
4.1.Répétabilité.....	12
4.2. Fidélité intermédiaire.....	13
4.3. La justesse (approche de).....	13
4.4. Estimation de l'incertitude.....	14
4.5. Contamination inter échantillons	15
4.6. Autres paramètres	16
5. Résultats et discussions	16
5.1. Répétabilité	16
5.2. Fidélité intermédiaire	17
5.3. La justesse	17
5.4. L'incertitude.....	17
5.5. Contamination inter échantillon	18
C. Conclusion.....	18
Annexes	19
Références bibliographiques.....	24

Glossaire

Définitions :

- **Biais :** Estimation d'une erreur systématique. Le biais varie en sens inverse de la justesse. Une estimation du biais est la différence entre la valeur moyenne d'une série de mesures et une valeur de référence.
- **Coefficient de variation :** Pour un caractère non négatif, rapport de l'écart type à la moyenne. Ce rapport peut être exprimé en pourcentage.
- **Intervalle de mesure :** Ensemble des valeurs de grandeurs d'une même nature qu'un instrument de mesure ou un système de mesure donné peut mesurer avec une incertitude instrumentale spécifiée, dans des conditions déterminées.
- **Exactitude :** Étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'un mesurande.
- **Fidélité :** Étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées.
- **Incertitude :** Paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées.
- **Justesse :** Étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence.
- **Limite de détection :** Le terme limite de détection est utilisé pour décrire la plus petite valeur de mesurande dont une procédure d'analyse peut indiquer la présence avec un niveau de confiance spécifié. Elle a également été appelée «concentration détectable minimale».
- **Limite de quantification :** valeur la plus faible du mesurande dans un échantillon pouvant être mesurée avec une incertitude de mesure spécifiée, dans des conditions de mesure déterminées.
- **Matériau de référence :** Matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne des propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son

utilisation prévue pour un mesurage ou pour l'examen de propriétés qualitatives.

- **Mesurande** : Grandeur que l'on veut mesurer. La spécification d'un mesurande en biologie médicale exige la connaissance de la nature de la grandeur (par exemple la concentration massique), une description de la matrice dont la grandeur est une propriété (par exemple le plasma sanguin) et les entités chimiques en jeu (par exemple l'analyte).
- **Répétabilité** : Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité.
- **Reproductibilité** : Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de reproductibilité.
- **Valeur de référence** : valeur d'une grandeur servant de base de comparaison pour les valeurs de grandeurs de même nature.

Abréviations :

- **APHP** : Assistance publique des hôpitaux de paris.
- **CH** : centre hospitalier
- **CIQ** : Contrôle Interne de Qualité.
- **CQC** : Capital et Qualité Conseil.
- **CV** : Coefficient de Variation.
- **DM-DIV** : Dispositifs médicaux de Diagnostic In-vitro.
- **DU** : Diplôme universitaire
- **EEQ** : Evaluation Externe de la Qualité.
- **GH** : Groupe Hospitalier.
- **ISO** : Organisation Internationale de normalisation.
- **LBM** : Laboratoire de Biologie Médicale.
- **SFBC** : Société Française de Biologie Clinique.

I. Présentation du laboratoire:

Suite au regroupement des hôpitaux de l'APHP, le service de génétique moléculaire, pharmacogénétique et d'hormonologie de l'hôpital Bicêtre à intégrer le pôle de biologie médicale du groupe hospitalier Paris SUD (CH Antoine Béclère, CH Bicêtre, CH Paul Brousse).

Notre laboratoire est constitué de deux secteurs, un secteur de génétique moléculaire et pharmacogénétique et un secteur d'hormonologie dont je suis responsable qualité.

La politique qualité au sein de notre structure est basée sur le respect des normes en vigueur et des bonnes pratiques professionnelles.

Pour cela, nous avons fait appel au niveau du GH à un organisme externe CQC (Capital Qualité Certification) pour accompagner les différents laboratoires dans leurs démarches d'accréditation.

Le pôle de biologie médicale est accrédité en partie dans son secteur d'hématologie à l'hôpital Paul Brousse et dans le but d'extension de cette accréditation, il est programmé pour l'année 2013 de déposer un dossier de validation/vérification d'une méthode analytique pour chaque laboratoire.

II. Introduction :

La validation et /ou la vérification de méthode est abordée par les normes NF 15189 et 22870 :
« Il doit être démontré (lors de l'installation et au cours de l'utilisation courante) que le matériel est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications se rapportant aux analyses concernées. »

« Le laboratoire doit conserver les enregistrements de la performance du matériel et la conformité aux spécifications et à l'utilisation ».

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

D'autre part le Cofrac considère que conformément au document SH REF 08 :

Les méthodes reconnues, (DM-DIV marqués CE ou méthode « fournisseurs »), sont à priori validées dans leur domaine d'application. Dans le cadre des normes NF 15189 et 22870, le LBM doit pour ces méthodes, vérifier qu'elles sont utilisées dans leur domaine d'application,

qu'elles correspondent aux besoins de ses clients (patients/prescripteurs) et qu'elles sont maîtrisées au sein du laboratoire (« vérification de méthodes (vérification de méthode – portée A ») (cf. SH REF 02, § 5.5.5). [1]

Dans le cadre de l'extension de l'accréditation au niveau du pôle de biologie médicale au GH Paris Sud, et dans notre secteur plus précisément nous avons décidé en accord avec CQC de présenter un dossier de validation/vérification d'une méthode analytique de la portée flexible A. Nous avons pris pour cette vérification comme système l'IMMULITE 2000 XPi et comme analyte le Cortisol.

Dans notre cas, le système à évaluer est une méthode marquée CE et par conséquent il nous suffit de procéder à une vérification lors de la mise en application, appelée « vérification de performance sur site ».

III. Vérification de performance sur site :

A. Mesurande :

Le cortisol (hydrocortisone, composé F) est le stéroïde circulant le plus abondant et le principal glucocorticoïde sécrété par les glandes corticosurrénales. Le cortisol a un rôle physiologique important comme anti-inflammatoire et agit sur le maintien de la pression sanguine. Il est également impliqué dans la néoglucogenèse, l'absorption calcique, la sécrétion de l'acide gastrique et de la pepsine. En tant qu'indicateur du fonctionnement des corticosurrénales, le dosage du cortisol sanguin est utile dans le diagnostic différentiel de la maladie d'Addison et du syndrome de Cushing, dans l'insuffisance antéhypophysaire, l'hyperplasie et les carcinomes adrénaliens. [5]

Des tests de stimulation ou de freination (stimulation par l'ACTH, test de réserve ACTH, freination à la Dexaméthasone) peuvent fournir des informations de confirmation sur l'état de la fonction corticosurrénaliennne. [5] [6] [7]

Des concentrations anormales de cortisol ont été rapportées chez des patients présentant de graves infections, des douleurs aiguës, un diabète sucré ou une insuffisance cardiaque et chez des femmes enceintes ou sous thérapie oestrogéniques. De plus, dans certains syndromes de virilisation et maladies iatrogènes, une augmentation de la concentration d'autres stéroïdes naturels, peut interférer directement sur le dosage du cortisol. Il est donc nécessaire d'utiliser un anticorps hautement spécifique.

➤ **Valeurs de références :**

Les valeurs de référence suivantes ont été reportées dans la littérature pour les niveaux de cortisol circulant.

Variation diurne *matin*: 5 – 25 µg/dl (138 – 690 nmol/l) *soir*: environ la moitié des valeurs du matin [doc fournisseur].

➤ **Domaine de mesure :** de 1 à 50 µg/dl (de 28 à 1 380 nmol/l).

➤ **Sensibilité analytique :** 0,20 µg/dl (5,5 nmol/l).

➤ **Principe du dosage :** c'est une immunoenzymologie chimioluminescente compétitive en phase solide.

➤ **Interférences :**

- La bilirubine (100 et 200 mg/l) peut interférer avec le dosage en élevant les résultats.
- Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

B. Méthodologie :

1. Contenu du dossier :

Nous nous sommes référés au SH GTA 04, au SH FORM 43 et à la Norme NF EN ISO 15189 pour définir les performances que nous allons vérifier.

Le tableau suivant nous permet de connaître les paramètres à vérifier dans la portée flexibleA.

Modules à déployer	Dossier Références Bibliographie	Portée A Système normalisé (CE)
Fidélité (répétabilité, Reproductibilité intra laboratoire)	Oui	Oui
Limite de linéarité	Oui	Si besoin, si possible
Limite de détection	Si besoin	Si besoin
Justesse (approche de)	Oui	Oui, si possible
Comparaison de méthodes	Oui	Oui, si possible
Contamination inter échantillons	Oui	Oui, si besoin
Interférences	Oui	Non

2. Plan de travail

La vérification d'une méthode analytique comprend 3 étapes :

- L'étude de documents bibliographiques : par le responsable qualité.
- La détermination des critères de performance pertinents à établir et le choix des limites d'acceptabilité correspondantes pour la méthode : Par le responsable qualité et le biologiste responsable du laboratoire.
- La réalisation des vérifications expérimentales : Par le technicien référent du système IMMULITE 2000 XPi.

3. Matériel :

3.1. IMMULITE 2000 XPi :

Le système IMMULITE 2000 XPi est un instrument à accès continu et aléatoire qui réalise des immunodosage par chimiluminescence.

Ce système permet de réaliser des tests diagnostiques in vitro à partir d'échantillons de sérum, de plasma ou d'urine.

3.2. Réactifs :

- Cartouche de billes Cortisol avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps anti-cortisol polyclonal de lapin.
Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
- Cartouche-Réactif Cortisol avec code-barres. 11,5 ml d'un réactif composé de cortisol marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
- Ajusteurs Cortisol : 2 flacons d'ajusteurs (haut et bas) de 3 ml chacun contenant du cortisol dans un sérum humain prétraité, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.
- Multi diluant 1 pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. Un flacon de solution concentrée (prête à l'emploi) contenant du sérum humain exempt de

cortisol, avec conservateur. Stable à +2/+8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

- Substrat chimiluminescent
- Solution de lavage
- Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement
- Godets réactionnels (jetables).

3.3. Spécimens de contrôle :

Nous utilisons deux échantillons de contrôle BIORAD (Immunoassay Plus Control, lots en cours: 40261 et 40262) ; avec une concentration basse et une concentration moyenne (dans la limite supérieure des valeurs de référence).

Les valeurs cibles de nos contrôles sont les suivantes :

Le lot 40261 µg/dl: 3.31 (2.65-3.97)

Le lot 40262 µg/dl: 21.1 (16.8-25.3)

4. Protocole de vérification :

A partir du SH GTA 04, nous avons défini les critères qui étaient à vérifier en précisant l'objectif et le mode opératoire.

4.1. Répétabilité :

Elle se définit comme l'étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande. Elle est estimée par les paramètres d'évaluation de la dispersion : ET (écart type) et CV (Coefficient de variation). [2]

Objectif :

« L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (Instrument/réactif) pour le paramètre concerné. » [1]

Mode opératoire :

« L'essai de répétabilité consiste à analyser un même échantillon dans les conditions suivantes : même opérateur, même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage dans un délai le plus court possible » [1]

Chaque échantillon a été dosé 20 fois au cours d'une même série.

Nous avons calculé la moyenne (m), l'écart type (s) et le coefficient de variation (CV) des résultats obtenus pour les deux niveaux de concentration.

Les résultats sont ensuite comparés par rapport aux valeurs de référence choisies [1].

Les données sont réunies dans un tableau Excel cf. Annexe 1.

4.2. Fidélité intermédiaire (Reproductibilité intra laboratoire) :

Elle se définit comme l'étroitesse de l'accord entre le résultat des mesurages du même mesurande, les mesurages étant effectués en faisant varier les conditions de mesure. *Elle est estimée par les paramètres d'évaluation de la dispersion : ET et CV. [2]*

Objectif :

L'objectif est d'évaluer la fidélité en incluant des variables du fonctionnement quotidien au laboratoire telles que l'opérateur et les lots de réactif.

Mode opératoire :

L'essai de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra laboratoire) consiste à analyser un même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs : l'opérateur, le temps, les lots de réactifs, les étalonnages,...

Nous avons établie la fidélité intermédiaire sur 30 jours avec 30 déterminations et à deux niveaux de concentration.

Les résultats sont ensuite comparés par rapport aux valeurs de référence choisies [2].

Les données sont réunies dans un tableau Excel cf. Annexe2

4.3. La justesse (approche de) :

Qualité de l'accord entre la moyenne d'une série de mesures et la valeur vraie. Elle permet une évaluation de l'erreur systématique. [3]

Objectif :

L'évaluation de la justesse permet de mettre en évidence un biais éventuel de notre méthode. Elle doit être effectuée d'une manière continue.

Mode opératoire :

Une étude de justesse nécessite la comparaison de la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible. L'écart observé correspond au biais. Le biais ne peut être établi qu'à l'aide de l'externalisation des CIQ [1].

En absence d'externalisation des CIQ, nous établirons l'inexactitude de la méthode en comparant les valeurs obtenues sur des échantillons d'EEQ aux valeurs cibles. La valeur cible retenue est la moyenne des résultats obtenus avec la même méthode (groupe de pairs).

Inexactitude en % = $(x - v) \times 100/v$

x : valeur trouvée pour l'EEQ.

v : valeur cible

Nous évaluerons l'inexactitude environ tous les 2 mois.

Nous avons comparé les valeurs trouvées avec les recommandations de la SFBC.

4.4. Estimation de l'incertitude :

Paramètre associé au résultat d'un mesurage qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande.

L'incertitude tient compte des erreurs aléatoires et des erreurs systématiques non maîtrisées.

Objectif :

L'expression de l'incertitude de mesure, « lorsque cela est pertinent et possible », est un objectif important qui doit conduire à :

- Une meilleure appréciation des limites des performances analytiques par le biologiste et le clinicien ;
- Un meilleur choix et un meilleur suivi des méthodes de mesure en fonction des besoins cliniques ;
- Une interprétation plus pertinente des résultats ou de leur évolution en vue du diagnostic ou du suivi biologique du patient. [4]

Mode opératoire :

Les principales composantes pour évaluer l'incertitude de mesure sont :

- L'incertitude liée à l'étalonnage lorsqu'elle est connue.
- L'incertitude liée à la méthode de mesure.
- L'incertitude sur diverses autres composantes lorsque cela est nécessaire.

Un exemple simplifié de détermination de l'incertitude est proposé par guide technique COFRAC traitant du thème des incertitudes (SH GTA 14) et présentant les différents moyens de calcul.

Ainsi, si u_1 est la composante d'incertitude due à la fidélité (écart-type de fidélité intermédiaire ou reproductibilité intra laboratoire) :

$$u_1 = S_{\text{repro}}$$

La composante d'incertitude due à la justesse, u_2 , peut être donnée par la relation :

$$u_2 = \text{biais}/\sqrt{3} \text{ (Loi rectangle)}$$

La somme quadratique des deux composantes (fidélité et justesse : permet une estimation de l'incertitude combinée (u_c)).

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

Enfin l'incertitude élargie U est obtenue en multipliant l'incertitude composée par un facteur k appelé facteur d'élargissement, qui fournit un intervalle ayant un niveau de confiance à un degré spécifié :

$$U = k \times u_c$$

Le résultat peut alors s'exprimer sous la forme :

$$X = x \pm U$$

Le plus souvent le facteur d'élargissement choisi est $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95% environ, pour une loi normale.

4.5. Evaluation de la contamination inter échantillons:

Cette étude est obligatoire pour tous les systèmes automatisés.

Objectif : préciser le niveau de contamination de certains paramètres sensibles et pour lesquels il existe des seuils décisionnels dans les valeurs basses qui pourraient engendrer une décision thérapeutique.

Ce niveau de contamination doit être proche de zéro ou entraîner des règles de repassage argumentées.

Mode opératoire :

L'évaluation a été faite sur deux prélèvements de patients, le premier H avec une concentration relativement élevée (36 μ g/dl) et un deuxième B avec une concentration basse (1.7 μ g/dl).

Cette étude a été effectuée selon le protocole suivant [1]:

- Rinçage de l'appareil,
- Analyser 3 fois consécutivement un échantillon à valeur élevée (H1, H2, H3).
- Calculer la moyenne des valeurs élevées (mH)
- Analyser 3 fois également un échantillon à valeur basse (B1, B2, B3).
- Répéter 5 fois la séquence : H1, H2, H3, B1, B2, B3
- Etablir les moyennes : mB, mB3, mH.
- Le pourcentage de contamination entre les échantillons est calculé selon la formule suivante :

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

4.6. Autres paramètres :

En ce qui concerne les autres points à évaluer tel que la limite de détection, le seuil de quantification, la limite supérieure de linéarité, les interférences et l'intervalle de référence n'étant pas obligatoire, nous avons choisi de ne pas les vérifier et de nous référer à la documentation du fournisseur et à la bibliographie.

5. Résultats et discussion :

Nous avons comparés nos résultats aux recommandations de la SFBC.

5.1 Répétabilité :

Echantillon	Nombre (n)	Moyenne (M) $\mu\text{g/dl}$	Ecart type (ET) $\mu\text{g/dl}$	CV%	Spécifications Fournisseur (CV%)	Limites Acceptables* (CV%)	conclusion
Niveau 1	20	3.35	0.25	7.40	Non spécifié	11.3	Valide
Niveau 2	20	19.92	0.95	4.75	Non spécifié	7.5	Valide

→ Cf. ANNEXE 1 –*Evaluation de la répétabilité pour le Cortisol.*

Les valeurs retrouvées pour les CV de répétabilité sont acceptables par rapport aux recommandations de la SFBC.

Nous avons effectué vingt passages de chaque niveau. Néanmoins, étant donné le coût Réactif de cette évaluation, et à la vue des résultats, il aurait été suffisant de la faire en dix passages.

N'ayant pas trouvé de recommandations nous permettons de réduire le nombre de passage, nous avons décidé de maintenir le protocole classique d'évaluation de la répétabilité [5].

5.2 Reproductibilité :

Echantillon	Nombre (n)	Moyenne (M) µg/dl	Ecart type (ET) µg/dl	CV%	Spécifications Fournisseur (CV%)	Limites Acceptables* (CV%)	conclusion
Niveau 1	30	3.15	0.45	14.45	Non spécifié	15	Valide
Niveau 2	30	19.57	1.47	7.50	Non spécifié	10	Valide

' Cf. ANNEXE 2 –Evaluation de la fidélité Inter série (Reproductibilité) pour le Cortisol.

Les valeurs retrouvées pour les CV de reproductibilité sont acceptables par rapport aux recommandations de la SFBC.

5.3 La justesse :

En absence de CIQ externalisé, nous avons calculé l'inexactitude à partir des résultats d'EEQ qui permet une approche de l'écart par rapport à la valeur cible.

EEQ	Nombre (n)	EEQ nmol/l	Cible nmol/l	CV %	Limites acceptables	Biais %	Limites Acceptables* (CV%)
Niveau 1	25	151	142	10.5	99-185	6.3	20
Niveau 2	21	896	866	7.9	736-996	3.5	15

(*) Recommandations SFBC [2].

Les valeurs de l'inexactitude retrouvées sont conformes par rapport aux recommandations de la SFBC.

5.3 Approche de l'incertitude ;

L'intérêt du calcul de l'incertitude de mesure pour le cortisol et l'absence d'un programme d'externalisation des CIQ nous limite dans notre étude. En effet les valeurs d'EEQ ne correspondent pas aux valeurs de CIQ utilisées pour l'évaluation de fidélité intermédiaire. Il est donc impossible pour le moment de calculer l'incertitude pour les deux concentrations.

De plus le fait d'utiliser deux matrices différentes pour cette étude intègre une incertitude supplémentaire.

Par conséquent cette évaluation sera réalisée quand nous aurons les moyens nécessaires pour le faire.

5.4 Contamination inter échantillon :

Cette évaluation a démontré une faible probabilité (proche du zéro) de contamination inter échantillons (0.017%) ' Cf. ANNEXE 3 –*Evaluation de la contamination inter échantillon pour le Cortisol.*

Par conséquent la contamination inter échantillon est négligeable.

Cela signifie que nous pouvons rendre les résultats de l'automate pour tous les échantillons sans tenir compte des résultats précédents.

C. Conclusion :

Pour effectuer une vérification de méthode complète il est indispensable d'établir un schéma pour ce protocole afin de définir les responsabilités. En plus il faut évaluer au plus juste le coût humain et matériel de la validation de méthodes.

Cependant un problème se pose au niveau de notre laboratoire est le manque de personnel et de moyens pour effectuer ce travail.

Sur le plan personnel, ce travail a été très enrichissant, il m'a permis d'acquérir de nouvelles compétences.

De plus en tant que responsable qualité, avoir planifié et mené à bien ce travail, m'a aidé à mieux comprendre la validation de méthode et de me rendre compte de la difficulté du travail restant.

ANNEXES

ANNEXE 2 –Evaluation de la fidélité Intra série (Répétabilité) pour le Cortisol.

Technique à vérifiée : Système IMMULITE 2000 XPi.		
Principe de dosage : Immuno enzymologie chimiluminescente compétitive en phase solide.		
Date : 23/07/2012		
Responsable : M.BOUYACOUB		
Manipulateur : A. PERON (Réfèrent IMMULITE)		
Unité : ug/dl		
Passage des CQI	Niveau 1	Niveau 2
P1	3,3	20,7
P2	3,28	20,3
P3	2,95	19,4
P4	3,26	20,1
P5	3,55	20,9
P6	2,99	21,5
P7	2,99	18,8
P8	3,69	18,6
P9	3,46	20,8
P10	3,39	19,7
P11	3,55	19,3
P12	3,33	19,7
P13	3,31	20,7
P14	4,03	19,2
P15	3,28	21,7
P16	3,25	20,4
P17	3,2	19
P18	3,29	20,3
P19	3,33	18,2
P20	3,64	19,1
Moyenne	3,35	19,92
Ecart type	0,25	0,95
CV	7,40	4,75
CV SFBC	11,3	7,5

**ANNEXE 2 – Evaluation de la fidélité Inter série (Reproductibilité) pour le
Cortisol.**

Technique à vérifiée : Système IMMULITE 2000 XPi.					
Principe de dosage : Immuno enzymologie chimiluminescente compétitive en phase solide.					
Date : Du 13/07/2012 au 30/08/2012					
Responsable : M.BOUYACOUB					
Manipulateur : Techniciens					
Unité : ug/dl					
Passage CQI	Date	Technicien	Interventions	Niveau 1	Niveau 2
P1	13/07/2012	AP		2,7	17,4
P2	16/07/2012	NG		3,32	18,4
P3	17/07/2012	NG		3,22	21,5
P4	18/07/2012	AV	MH	3,9	20,7
P5	19/07/2012	AV		3,7	21,9
P6	20/07/2012	NG		4,1	22,6
P7	23/07/2012	NG		3,64	20,5
P8	25/07/2012	CB		4,03	18,2
P9	26/07/2012	CB		2,95	21,5
P10	27/07/2012	LE		3,51	18,8
P11	30/07/2012	CB		3,7	21,2
P12	31/07/2012	CB	MH	3,32	21,7
P13	01/08/2012	CB		3,36	19,6
P14	02/08/2012	CB		3,18	19,9
P15	03/08/2012	CB		2,84	20
P16	07/08/2012	AP		3,29	20,7
P17	10/08/2012	AP	MH	2,72	17,5
P18	13/08/2012	DG		2,96	18,7
P19	14/08/2012	AP	MM	2,85	17,2
P20	16/08/2012	DG		2,86	19
P21	17/08/2012	AP		2,93	18,9
P22	20/08/2012	DG		3,12	18,3
P23	21/08/2012	DG		2,76	20,9
P24	22/08/2012	DG		2,64	17,9

P25	23/08/2012	DG		2,79	18,7
P26	24/08/2012	DG		2,68	19,7
P27	27/08/2012	AV		3	18,9
P28	29/08/2012	AV		3,5	18,1
P29	29/08/2012	AV		2,65	19,2
P30	30/08/2012	LE		2,3	19,7
Moyenne				3,15	19,57
Ecart type				0,45	1,47
CV				14,44	7,51
CV SFBC				15	10

ANNEXE 3 –Evaluation de la contamination inter-échantillon pour le Cortisol.

passage	1^{ère} série	2^{ème} série	3^{ème} série	4^{ème} série	5^{ème} série
H1	36,7	34,7	37,5	37,8	34,9
H2	34,4	39,3	35,1	38,3	36,9
H3	36,1	38,2	35,6	37,1	32,2
B1	1,7	1,78	1,92	1,77	1,59
B2	1,93	1,75	1,72	1,7	1,55
B3	1,69	1,93	1,9	1,54	1,67
mB1		1,752			
mB3		1,746			
mH		36,32			
Contamination %		0,017			

Références bibliographiques :

- [1] GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION.DE VERIFICATION(POTREE A) / VALIDATION (PORTEE B) DES METHODES EN BIOLOGIE MEDICALE. SH GTA 04 Révision 00-Avril 2011.
- [2] Vassault A., Grafmeyer D., de Graeve J., Cohen R., Beaudonnet A., Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. Annales de Biologie Clinique. Volume 57, Numéro 6, 685-95, Novembre - Décembre 1999. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 1999.
- [3] Vassault A. Maitrise de la phase analytique : contrôle interne de qualité et incertitude de mesure ; cours DU : « assurance qualité au LBM » année 2012.
- [4] Giroud C., Dumontet M., Vassault A., Braconnier F., Férard G. Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F). Annales de Biologie Clinique. Volume 65, Numéro 2, 185-200, Mars-Avril 2007. John LIBBEY EUROTTEXT, Paris 6^e, 2007.
- [5] Rothfeld B, ed. Plasma Cortisol. In: Nuclear medicine in vitro. 1974:120
- [6] Murphy B, et al. Clinical studies utilizing a new method for the serial determination of plasma corticoids. J Canad Med Assoc 1964; 90:775.
- [7] Sparks R. Measurement of serum 11-deoxycortisol and cortisol after metyrapone. Ann. Intern. Med 1971; 75:717.].