

Université Pierre et Marie Curie

Paris 6

MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME UNIVERSITAIRE

« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE

DE BIOLOGIE MEDICALE »

VERIFICATION DE METHODE QUANTITATIVE

DE PORTEE FLEXIBLE A

COURTEILLE Isabelle

2012

Note au lecteur

Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire
« *Assurance Qualité au laboratoire de biologie médicale* »
sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

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

AUTEUR :

COURTEILLE Isabelle

Technicienne de laboratoire polyvalente

Laboratoire de Biologie Médicale Multi-sites

55, rue du Champ de Foire

61100 FLERS

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Mrs LEPELIER, BAUDEN, GRISARD et BRICARD, Biologistes, pour m'avoir donné l'opportunité de suivre la formation du Diplôme Universitaire « *Assurance Qualité au laboratoire de biologie médicale* » et de m'apporter toute leur confiance.

A Mr GRISARD pour tous ses conseils.

A Mr BRICARD pour son aide sur la mise en page du mémoire.

Aux intervenants du D.U. pour la qualité de la formation.

Aux participants pour la bonne ambiance et échanges de leurs expériences.

A ma famille pour son soutien et encouragement.

Sommaire

1. Glossaire	5
2. Introduction	6
3. Présentation.....	7
3.1. De la structure.....	7
3.2. Objectifs qualité et plan d'amélioration de la qualité.....	9
3.2.1. Organigramme.....	10
3.2.2. Avancement.....	10
4. Méthodologie.....	11
4.1. La méthode de LASWELL QOOQCCP	11
4.1.1. Choix du mesurande et définitions.....	11
4.2. Critères de performances	13
4.2.1. Fidélité (répétabilité)	13
4.2.2. Fidélité intermédiaire (reproductibilité)	14
4.2.3. Evaluation de la justesse.....	16
4.3. Approche de l'estimation de l'incertitude de mesure $U(c)$	17
5. Etude des 5 M	20
6. Bibliographie.....	21
7. Discussion	22
8. Conclusion.....	24
9. Annexes	25
ANNEXE 1 : PRESENTATION DE VALIDISO 3®	26
ANNEXE 2 : PRESENTATION DE L'AUTOMATE DE BIOCHIMIE.....	29
ANNEXE 3 : ETUDE DE LA REPETABILITE	31
ANNEXE 4 : ETUDE DE LA REPRODUCTIBILITE.....	33
ANNEXE 5 : EVALUATION DE LA JUSTESSE.....	36
ANNEXE 6 : ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE	38
10. Résumé.....	40

1. Glossaire

CIL : Comparaisons inter-laboratoires

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CQI : Contrôle de Qualité Interne

CV : Coefficient de Variation

DU : Diplôme Universitaire

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

GTA : Guide Technique d'Accréditation

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie médicale

ISO : Organisation internationale de normalisation

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

URT 2[®] : Unity Real Time 2 Logiciel de données de CQI BIORAD

SEL : Société Exercice Libérale

SFBC : Société Française de Biologie Clinique

& : Chapitre

Validiso 3[®] : Outil de saisie de données de validité de méthodes et calculateur intégrant les formules de calcul du SH GTA 04 ainsi que les critères SFBC et RICOS

2. Introduction

Le laboratoire de biologie médicale multi-sites regroupe deux sites :

- Flers (plateau technique)
- Condé-sur-Noireau (site secondaire).

L'acquisition de l'automate Dimension EXL[®] (Siemens) en Septembre 2011 a permis de regrouper entièrement la paillasse de biochimie sur le site du plateau technique. Cet automate est présenté dans l'annexe 2.

Pour le respect des bonnes pratiques, nous nous sommes reportés au contexte normatif de la norme NF EN ISO 15189 et au SH REF 02.

Objectif du mémoire

Nous sommes entrés dans une démarche qualité depuis 2004 avec l'aide de BioQualité. Etant passé par la voie B, la direction a comme objectif et obligation de fournir différents documents de preuves d'entrée dans la démarche d'accréditation pour le COFRAC pour l'échéance de Mai 2013. La constitution et l'envoi de ce dossier doit contenir les éléments suivants :

- Qualification en cours de validité pour chaque site
- + 3 dossiers de vérifications de méthodes (2 quantitatives et 1 qualitative)
- + SH FORM 05
- + preuve de 50 % EEQ
- + calendrier prévisionnel

Avec l'arrivée du nouvel automate de biochimie, il a été opportun pour la direction du laboratoire que le sujet de mon mémoire soit sur une vérification de méthode quantitative de portée flexible A, afin de répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15189.

Ce travail nous a permis de comprendre et d'acquérir une méthodologie de travail, qui servira de modèle pour les autres paramètres de biochimie afin d'être prêt pour l'échéance 2016.

3. Présentation

3.1. De la structure

Le Laboratoire d'Analyses Médicales de Flers a été créé en 1957. Celui-ci effectuait les analyses de la ville incluant la Clinique St-Dominique et l'hôpital général qui ouvrit en 1968. En Juin 1994, arrivée de deux nouveaux pharmaciens biologistes et en Octobre 2001 rachat du laboratoire de Condé-sur-Noireau avec l'arrivée en parallèle d'un quatrième biologiste associé.

En 2003, déménagement du site de Condé-sur-Noireau dans de nouveaux locaux plus adaptés au fonctionnement actuel au 5, rue Saint-Martin 14110 Condé-sur-Noireau.

En 2005, déménagement du laboratoire de Flers dans des nouveaux locaux neufs plus adaptés au fonctionnement actuel au 55, rue du Champ de Foire 61100 Flers.

Au fil des années ces laboratoires ont évolué avec une **volonté de qualification** du personnel et de modernisation constante traduite par :

- **l'acquisition de matériels techniques** et informatiques performants. L'évolution permanente du parc d'équipements est motivée par la volonté de posséder du matériel **toujours plus performant, plus reproductible et donc plus fiable.**
- L'activité est centrée sur les analyses médicales courantes dans le secteur de l'Hématologie, de la Biochimie, de la Bactériologie, de la Parasitologie, de l'Immunologie et de nombreuses analyses spécialisés (pharmacologie, toxicologie, cytologie) .Seules les techniques de références ou préconisés par les fournisseurs sont utilisées.

En Avril 2012, le laboratoire est passé en multi-sites. Le site de Flers est le « plateau technique ».

L'effectif du site de Flers se répartit comme suit :

Biologistes : 2 + 2 suppléants.

Secrétaires : 5

Technicien(ne)s : 10

Infirmières : 1

Entretien : 2

Coursier : 1

Le laboratoire travaille avec une clientèle directe (prélèvements internes, prélèvements à domicile, ramassage externes) et une clinique chirurgicale.

Un système d'astreinte est organisé pour répondre aux besoins de la clinique et est défini dans une procédure.

L'effectif du site de Condé-sur-Noireau se répartit comme suit :

Biologistes : 2

Secrétaire : 1

Technicien(ne)s : 2

Entretien : 1

Le site de Condé-sur-Noireau réalise principalement les analyses médicales courantes dans les secteurs de l'hématologie, coagulation et quelques examens en immunologie. Le reste est transmis au plateau technique.

Seules les techniques de références ou préconisées par les fournisseurs sont utilisées.

Organisation du laboratoire :

Pour réaliser ces prestations, le laboratoire a mis en place une organisation basée sur deux principes fondamentaux :

- Un regroupement des activités par étapes clés (appelées processus) liées à la prise en charge des demandes des patients (Phase pré-analytique, Phase analytique, etc...) et celles qui permettent le fonctionnement et le pilotage interne du laboratoire (Suivi du système, documentation, achats...).
- La maîtrise des compétences et des techniques mises en œuvre.

Toutes les activités du laboratoire sont ainsi identifiées, définies et suivies au travers de processus.

3.2. Objectifs qualité et plan d'amélioration de la qualité

Deux dates importantes 2013 et 2016 à avoir à l'esprit et deux voies sont possibles pour tous les LBM.

Pour l'échéance de 2013, tous les LBM devront justifier de leur entrée dans une démarche d'accréditation. Pour respecter cette règle imposée par l'ordonnance du 13 Janvier 2010, les LBM ont le choix entre deux options : la voie A, qui est celle de l'accréditation partielle validée par le comité français d'accréditation (COFRAC) ; et la **voie B**, celle que nous suivrons, c'est à dire la voie de la qualification Bio Qualité. Elle devra comprendre une attestation de qualification en cours de validité, trois dossiers de vérification de méthodes quantitatives et qualitatives, la preuve de l'abonnement aux EEQ pour plus de 50% des examens réalisés, une description de l'activité du laboratoire ainsi qu'un calendrier prévisionnel conduisant à l'accréditation sur la totalité de l'activité avant le 1^{er} novembre 2016.

Pour l'échéance de 2016, l'accréditation totale (sous réserve du décret d'application non encore paru).

Le plan d'amélioration :

- * Augmenter la confiance des clients par rapport à la qualité attendue des prestations.
- * Augmenter l'efficacité interne.

Les principes généraux suivants guideront l'élaboration et la conduite du **plan d'amélioration de la qualité** établi par la Direction chaque année :

--> sensibilisation de l'ensemble du personnel à la qualité et aux évolutions techniques de notre métier. Des Délégués Assurance Qualité (DAQ) sont nommés pour chaque poste ou paillasse du laboratoire.

--> évaluation des dispositions Qualité existantes et établissement d'un plan d'action

--> organisation de groupes de travail et lancement des actions d'amélioration

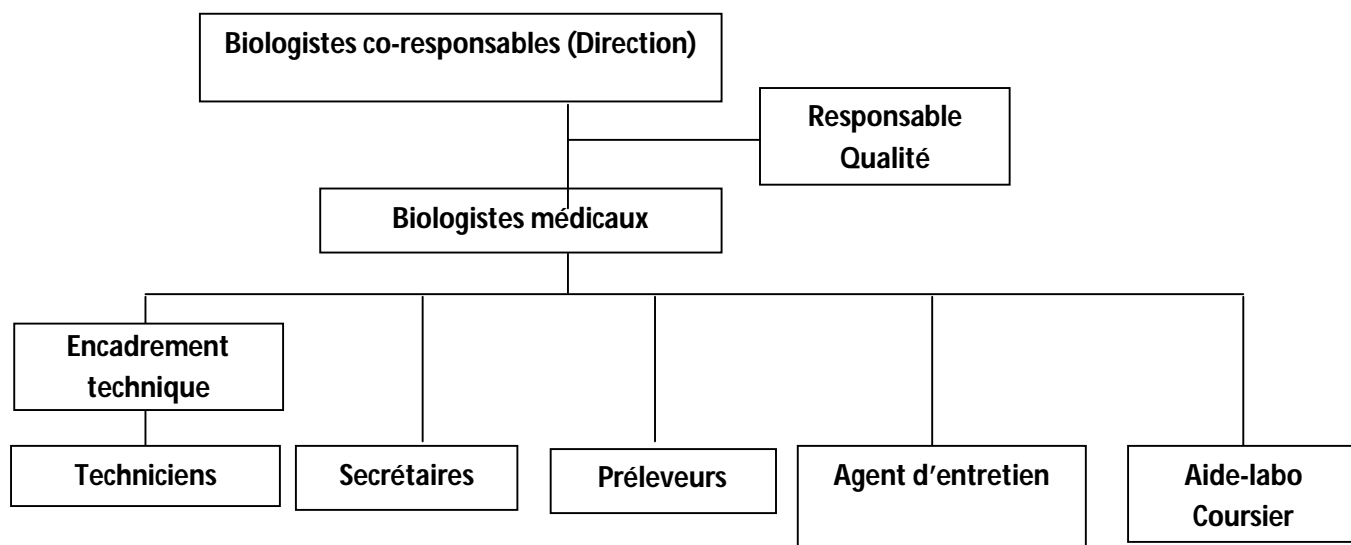
--> rédaction du Manuel Assurance Qualité, des procédures générales et modes opératoires

--> rédaction des documents techniques du laboratoire (procédures, modes opératoires, fiches d'instructions, fiches d'enregistrement, fiches produits, fiches fournisseurs...)

--> mise en place d'indicateurs qualité.

3.2.1. Organigramme

L'organisation générale du laboratoire est définie par l'organigramme ci-dessous :



3.2.2. Avancement

Les deux sites sont inscrits à BioQualité depuis 2004. Le laboratoire s'est engagé avec l'appui de l'ensemble du personnel à mettre en place et faire vivre un système de qualité respectant les exigences du référentiel GBEA puis la norme NF EN ISO 15189 ainsi que le respect de l'ordonnance n° 2010-49 réformant la biologie médicale du 13/01/2010.

Ayant accompli l'ensemble des étapes de la démarche BioQualité, nous avons obtenu la qualification BioQualité 36 mois pour le site de Flers en Novembre 2010 et pour le site de Condé-sur-Noireau en Avril 2012.

4. Méthodologie

4.1. La méthode de LASWELL QOOQCCP

Elle a été appliquée pour chaque critère de performances.

Cette méthode de questionnement systématique a permis de lister, de collecter des informations, ou des données nécessaires et suffisantes pour analyser et rendre compte d'une situation ou d'un problème.

QUESTIONS	SOUS QUESTIONS	REPOSES
QUI?	AVEC QUI ?	TECNICIENS REFERENT BIOLOGISTE(S) QUALITICIEN(S) RAQ
QUOI ?	AVEC QUOI ?	COI , EEQ
OU ?	LIEU	PLATEAU TECHNIQUE FLERS
QUAND ?	A PARTIR DE QUAND ?	MISE EN PLACE DE L'AUTOMATE
COMMENT ?	DE QUELLE FACON ? DANS QUELLES CONDITIONS ?	SUIVANT LES CRITERES DE PERFORMANCES : (FIDELITE,FIDELITE INTERMEDIAIRE,JUSTESSE) INCERTITUDE
COMBIEN ?	NOMBRE DE NIVEAUX COI , EEQ NOMBRE DE REPETATS	SUIVANT LES CRITERES DE SFBC
POURQUOI ?	FINALITE	CONCLURE A UNE CONFORMITE

4.1.1. Choix du mesurande et définitions

Le mesurande choisi est le glucose sanguin qui est dosé sur un appareil de biochimie Dimensions EXL[®] de chez SIEMENS présenté en Annexe 2. La méthode utilisée est un test de diagnostic in vitro conçu pour la détermination quantitative du glucose présent dans le sérum et le plasma humain.

La méthode du glucose est une adaptation de la méthode de l'hexokinase-glucose-6-phosphate déshydrogénase. Les mesures du glucose sont utilisées dans le diagnostic et le traitement des troubles du métabolisme des glucides tels que le diabète sucré, l'hypoglycémie néonatale et l'insulinome.

Nous avons mis en application notre logigramme de validation de méthodes et commencer l'étude chiffrée avec les critères de performance telles la fidélité (répétabilité), fidélité intermédiaire (reproductibilité) et la justesse.

L'approche à l'estimation de l'incertitude a été étudiée.

Par définition si nous décomposons le titre :

« Validation/ Vérification de méthode » est : une étape consistant à comparer les valeurs de performances tels que déterminés 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, objectifs à atteindre), puis à déclarer la méthode valide ou non valide.

De type quantitatif : Ces méthodes fournissent un **résultat chiffré**, sur une échelle continue d'un signal en relation directe avec une quantité ou activité donnée de l'analyte.

Portée flexible standard A : portée correspondant à une demande d'accréditation du LBM souhaitant avoir la possibilité, entre 2 visites d'évaluation du COFRAC, d'utiliser sous accréditation les révisions successives des méthodes reconnues et **d'adopter** des méthodes reconnues reposant sur des compétences techniques qu'il a précédemment démontrées.

Concrètement, le laboratoire doit uniquement vérifier la mise en application dans son environnement propre et doit suivre les indications du fournisseur.

Adopter une méthode : intégrer dans la portée d'accréditation une méthode reconnue (méthode normalisée, méthodes /équipements/réactifs « fournisseur » correspondant à l'utilisation de DM-DIV marqués CE au titre de la directive 98/79/CE...)

Stratégies déployées

Le plan d'action étant la méthode **QOQCCP** ? Qui répond aux questions que l'on doit se poser pour effectuer la validation de méthodes : **Qui** doit faire **Quoi** ? **Où** ? Et pour les critères à vérifier **Quand** ? Doit on le faire, **Comment** ? **Combien** ? Et **Pourquoi** ?

Qui : La vérification de méthode a été faite avec le(s) référent(s) de la paillasse, les Biologistes Qualiticiens et moi-même (RAQ) .Le rôle de chacun est défini comme suit :

- Référent de paillasse : mise en place des essais nécessaires.
- Biologiste qualicien : Etude bibliographique et calculs.
- RAQ : Recueillir les données du fournisseur et celle de l'étude.

Où : Le laboratoire étant un laboratoire multi sites avec un seul plateau technique qui est Flers, la vérification de méthode ne concerne que ce dernier.

Quoi : L'étude s'est faite avec deux niveaux de CQI comme le préconise la SFBC dans le SG2-07 ou SH GTA 04.

4.2. Critères de performances

La fidélité (précision) exprime l'étroitesse d'accord entre les résultats d'essai obtenus par des mesures répétées du même échantillon dans des conditions spécifiées. L'étude de la fidélité de mesure inclut deux aspects:

4.2.1. Fidélité (répétabilité)

Principe : L'essai de fidélité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse **dans des conditions standardisées** ; même opérateur, même lots de réactifs et calibrateur, même instrument.

Il est recommandé, dans la mesure du possible, d'utiliser plusieurs niveaux de concentration. L'exploitation des résultats consiste à calculer la moyenne (m), l'écart type (s) et le coefficient de variation (CV) des valeurs expérimentales de chaque série, nombre d'échantillons (n).

$$\text{CV en \%} = \frac{(s)}{(m)} \times 100$$

Avec :

$$m = \frac{\sum x_1}{n} \quad s = \frac{\sqrt{\sum (x_1 - m)^2}}{n-1}$$

Exploitation des résultats :

❖ **Quand ? Qui ? Quoi ? Combien ? Comment ?**

Pour chaque niveau le(s) technicien(s) référent(s) a (ont) lancé 30 mesures consécutives de CQI. Ces dernières ont été reportées dans les tableaux de Validiso 3[®] en indiquant la date de l'essai après les avoir extrait de notre logiciel de données de gestion des CQI « URT 2[®] ».

❖ **Le Pourquoi ?**

La répétabilité est un paramètre qui permet d'apprécier la fidélité du couple automate/réactif. Cette évaluation permet de vérifier, dans les conditions réelles d'utilisation, le bon fonctionnement du système analytique. Les données acquises peuvent -être ultérieurement utilisées pour mettre en évidence un dysfonctionnement au cours du temps.

Echantillons CQI Biorad	Nombre(N)	Moyenne	Ecart-type)	CV(%)	CV(%) fournisseur	Valeurs SFBC	Conclusion
Niveau1	30	0,592	0,006	1,0	1,0	2,4	V
Niveau2	30	1,180	0,005	0,4	0,5	1,8	V

Conclusion : Les valeurs des CV obtenues sont inférieures à celles définies par la SFBC donc l'étude est **valide**.

L'étude de la répétabilité est consultable en Annexe 3

4.2.2. Fidélité intermédiaire (reproductibilité)

C'est un critère auquel il faut tout particulièrement s'attarder étant donné que l'écart-type de cette étude sera repris pour l'estimation de l'incertitude qui est abordé dans un chapitre ci-dessous.

Principe :

L'essai de fidélité intermédiaire consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour le même analyte **dans des conditions différentes** ; l'opérateur, les lots de réactifs et

calibrants et courbes de calibration peuvent être des données variables, correspondant à une activité normale et quotidienne du laboratoire.

Les modalités de calcul sont identiques à celles de la fidélité, avec calcul de la moyenne(m), de l'écart type (s) et du coefficient de variation (CV) sur les valeurs expérimentales de chaque série.

Exploitation des résultats

❖ Le **Qui**, **Quoi** ? **Combien** ? et **Comment** ?

Les référents de la paillasse ont passé chaque jour le CQI, sur une période suffisante afin d'obtenir 30 valeurs comme le conseil le SH GTA 04.

Nous avons collecté les valeurs des CQI dans notre logiciel de gestion de contrôle informatique URT 2[®] et reporté dans notre logiciel Validiso 3[®] présenté en Annexe 1.

Pour chaque niveau de concentration, la valeur de CV % acceptable définie d'après les données SFBC est calculée automatiquement.

❖ Le **Pourquoi** ?

Cette évaluation permet de connaître la variabilité analytique d'une méthode.

Ces données sont exploitées pour le calcul de l'incertitude de mesure utile à l'interprétation des résultats des patients.

Echantillons	Nombre(N)	Moyenne	Ecart-type)	CV(%)	CV(%)	Valeurs	Conclusion
CQI Biorad)	fournisseur	SFBC	
Niveau1	30	0,597	0,010	1,7	1,6	3,2	V
Niveau2	30	1,175	0,016	1,4	1,2	2,4	V

Conclusion : Les valeurs des CV obtenues sont inférieures à celles définies par la SFBC donc l'étude est **valide**.

L'étude de la fidélité intermédiaire est consultable en Annexe 4.

4.2.3. Evaluation de la justesse

Principe :

La justesse est quantifiée par le biais et est estimée en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de la fidélité intermédiaire (reproductibilité) des groupes de pair, à la valeur cible attendue, assimilée à la valeur vraie (v) de l'échantillon testé.

Elle est estimée en pourcentage de la valeur cible, selon le calcul suivant :

$$\text{Biais en unité} = m - v$$

$$\text{Biais en \%} = \frac{(m - v)}{v} \times 100$$

NB: en l'absence d'échantillon certifié, on peut utiliser les valeurs obtenues à partir du traitement externalisé des données de CQI et pour lesquels la valeur cible retenue est la moyenne des résultats cumulés de l'ensemble des utilisateurs de la méthode pour le lot en cours.

Exploitation des résultats :

❖ Le **Qui ? Quoi ? Combien ? Comment ?**

Pour chaque niveau, j'ai extrait les valeurs des CQI à l'aide du logiciel URT 2[®].

La justesse du laboratoire est calculée automatiquement à l'aide du logiciel de données Validiso 3[®] qui appliquera la formule présentée ci-dessus.

Le logiciel URT 2[®] m'a permis d'extraire le nombre de mesures et le nombre de laboratoire par groupe pour évaluer la représentativité de(s) valeur(s) cible(s) attendue(s).

Pour chaque niveau de concentration du CQI, la valeur de justesse acceptable définie d'après les données de SFBC est calculée automatiquement.

❖ Le **Pourquoi ?**

Cette évaluation permet de mettre en évidence le biais d'une méthode. Elle fournit une indication sur les erreurs systématiques.



Echantillons	Nbre de pts mesures du labo	Nbre de pts de mesures de pairs	Valeurs labo	Cible groupe de pairs	Biais %	Valeurs SFBC	Conclusion
CQI Biorad							
Niveau1	175	38682	0,60	0,60	0	5,1	V
Niveau2	139	5214	1,18	1,20	-1,7	4,4	V

Conclusion : Les valeurs des biais obtenues sont inférieures à celles définies par la SFBC donc l'étude est **valide**.

L'étude de l'évaluation de la justesse est consultable en Annexe 5

4.3. Approche de l'estimation de l'incertitude de mesure $U(c)$

Cette approche de calcul d'incertitude de mesure est une exigence de la norme NF EN ISO 15189 abordée notamment dans le paragraphe traitant de la validation & 5.6.2 qui stipule que « le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans le cas où cela est pertinent et possible. »

Le laboratoire doit pouvoir mettre à disposition du prescripteur, en cas de besoin, une approche dans l'évaluation des incertitudes de mesure. Elle représente le niveau de confiance de la mesure et intègre les facteurs d'influences que l'on retrouvera détaillé ci-dessous.

Principe :

C'est la caractérisation des paramètres de fidélité intermédiaire (reproductibilité) d'une part, et de justesse (biais) d'autre part, constitue deux composantes de mesure, dans un calcul d'incertitude globale. Nous avons pris en compte les composantes suivantes :

U_1 : composante d'incertitude due à la fidélité intermédiaire, celle-ci est approchée par l'écart-type de reproductibilité.

$$U_1 = S_{\text{repro}} (E_i)$$

U_2 : composante d'incertitude liée à la justesse, elle est donnée par la relation :

$$U_2 = \text{biais} / \sqrt{3}$$

L'incertitude globale sur le résultat d'analyse est obtenue en prenant la racine carrée de la somme quadratique des composants de l'incertitude U_c issues du CQI et de l'EEQ.

Calcul d'incertitude à partir des EEQ

$$U_c = \sqrt{U_1^2(\text{CQI}) + U_2^2(\text{EEQ})}$$

$U_1^2(\text{CQI})$: représente la variance (carré de l'écart-type) de l'ensemble des résultats des CQI

$U_2^2(\text{EEQ})$: variance liée à la justesse

$$u_{EEQ} = \sqrt{\left(\frac{|\bar{E}|}{\sqrt{3}}\right)^2 + S_{E_i}^2}$$

Mode de calcul	CQI + EEQ
Quantification de l'incertitude (niveau 2)	0.054
Incertitude élargie	0.11

Exploitation des résultats :

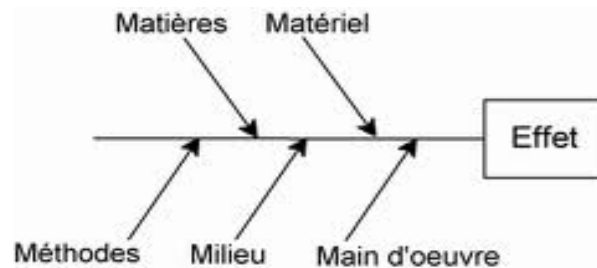
- ❖ Le **Q**ui ? Le **C**omment ? Le **Q**uand ?

Pour simplifier la procédure, il n'a été tenu compte que de l'incertitude de la fidélité (U_1), et celle due aux EEQ (U_2). L'exploitation des résultats ne reflète donc qu'une estimation de l'incertitude de mesure associée au résultat de l'analyse.

L'étude de l'incertitude s'est faite avec le(s) biologiste(s) qualitatifien(s) et moi-même en tenu compte des facteurs d'influence. Nous avons utilisé le diagramme des 5 M :

Matières, **M**atériel, **M**ain d'œuvre, **M**ilieu, **M**éthodes.

La construction du diagramme d'Ishikawa est fondée sur un travail de groupe et repose sur 5 mots fondamentaux qui permettent d'identifier les causes possibles d'un défaut de qualité.



Matière : les différents consommables utilisés, matières premières...

Milieu : le lieu de travail, son aspect, son organisation physique...

Méthode : les procédures, le flux d'information...

Matériel : les équipements, machines, outillages...

Main d'oeuvre : les ressources humaines, les qualifications du personnel.

De nombreuses approches pour la détermination de l'incertitude de mesure sont proposées. Dans notre cas, nous nous sommes intéressés à la **méthode CQI / EEQ** du SH GTA 14 au § 8.3 qui repose sur exploitation des données internes (CQI) et données externes telles que les EEQ.

L'automate de biochimie étant en place sur le site de Flers depuis septembre 2011, les résultats des EEQ ne sont pas suffisants pour faire l'étude de l'incertitude sur différents niveaux.

Notre étude s'est portée sur un niveau d'EEQ que nous avons défini par rapport à nos valeurs de référence.

L'incertitude élargie est symbolisé par (U_e)

$$U_e = k \times U(c)$$

K est dit facteur d'élargissement choisi le plus souvent égal à 2

❖ Le Pourquoi ?

C'est pour indiquer que l'intervalle compris entre la valeur mesurée +/- U_c contiendra conventionnellement la valeur vraie à 95% de confiance, loi normale; dans le cas d'une distribution gaussienne.

Etude consultable en Annexe 6

5. Etude des 5 M

MAITRISE DES RISQUES		
Méthode de 5 M		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
MATIERES Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes,) Additifs	Sérum + gel ou Fluoré CQI/ EEQ	Respect du manuel de prélèvement Ce type de tube est préconisé par le fournisseur réactif Préconisé par le fournisseur
MATERIEL Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...)	Centrifugation de l'échantillon vitesse/tps Automate	Respect des préconisations de centrifugation 3000 tr/min 10 min Maintenance préventives interne et SAV effectuées aux fréquences
MAIN D'OEUVRE (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	Technicien(s) référent(s)	Fiche d'habilitation en cours
MILIEU Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage, ...)	Température du plateau technique Condition de transport Conservation du prélèvement	Une climatisation a été installée dans le laboratoire Automate thermostaté
METHODES	Mode opératoire de l'analyse	Fournisseur

6. Bibliographie

Documentation COFRAC et de la SFBC

- **Norme NF EN ISO 15189** exigences particulières concernant la compétence.
§ 5.3.2 ; § 5.3.4 ; § 5.5.2 ; § 5.6.2
- **Norme ISO 5725** Application de la statistique exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure partie 1-6 AFNOR 1994.
- **SH REF02** Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale.
§ 5.3.2 ; § 5.5.2
- **SH GTA 04** Guide technique d'accréditation (portée A) des méthodes en biologie médicale.
- **SH GTA 08** Expression et évaluation des portées d'accréditation.
- **SH GTA14** Guides d'évaluation des incertitudes d'analyses en biologie médicale.
- **SG2.07** Vérification / Validation des performances d'une méthode d'analyse A.Vassault, A.Hulin, E.Chapuzet, J.Arnaud, C.Giroud et les membres du sous-groupe 2 analytiques de la SFBC (coordonnateur M.Vaubourdolle).
- **SG2.06** Incertitude de mesure A.Vassault, C.Giroud, J.Arnaud et les membres du sous-groupe 2 analytiques Groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale » Coordonnateur M.Vaubourdolle.

Sites internet

- www.cofrac.fr
- www-bioqualite.org

Document fournisseur

- SIEMENS Dimensions® clinical chemistry system
FLEX® cartridge GLU REF DF 40

7. Discussion

Lors de l'installation de l'automate de biochimie, il a été décidé de mettre en place une vérification de méthode quantitative de portée flexible A.

Nous avons réalisé ce projet en ayant comme but de s'en servir pour mon sujet de mémoire.

Le suivi du DU a permis d'intégrer au laboratoire la méthodologie de vérification d'une méthode quantitative et de préparer les échéances de 2013.

Lors de l'étude chiffrée des différents critères de performance, nous n'avons rencontré aucun problème technique pour valider la méthode.

L'étude s'est avérée valide par rapport aux résultats annoncés par le fournisseur et par rapport aux critères de la SFBC.

Lors de *l'évaluation de l'incertitude de mesure*, notre interrogation se portait sur le niveau des EEQ.

L'automate de biochimie étant sur le site depuis septembre 2011, nous n'avons pas beaucoup de valeurs d'EEQ, cette étude a pu se faire que sur un court terme.

La problématique repose sur la valeur nos EEQ par rapport à ceux de nos CQI.

Nous sommes conscients que pour l'estimation de l'incertitude de mesure, le résultat n'est pas complètement interprétable du fait de valeurs d'EEQ ne couvrant pas toujours la totalité du domaine de mesure physiologique.

A ce jour la question est de savoir si l'on ne doit pas avoir un troisième niveau de CQI. Ceci nous permettrait peut être de nous rapprocher des valeurs des EEQ. Mais il est parfois difficile pour des CQI multivalents d'avoir des valeurs physiologiques et pathologiques cohérentes pour tous les paramètres testés.

Concernant le domaine de la biochimie, on ne reçoit qu'un seul niveau d'EEQ à la fois et à raison d'une fois par mois. Le conditionnement et la fréquence sont déterminés par le fournisseur de l'EEQ et sont donc peu modulables.

L'étude de la contamination, de la limite de détection et la comparaison de méthodes n'ont pas été réalisées pour le glucose sanguin car il a été défini dans notre procédure de vérification de méthode d'analyse les critères suivants :

- ❖ L'étude de la contamination ne sera faite que sur des paramètres sensibles à la contamination inter-échantillon.

- ❖ L'étude de limite de détection ne sera pas faite car nous ne rendons pas de résultats en dessous de l'intervalle de mesure annoncé par le fournisseur.
- ❖ L'étude de la comparaison de méthodes ne se sera pas évaluée sur notre site ne possédant pas d'automate en miroir ou de « back-up ».

8. Conclusion

Le travail du mémoire a permis de mettre des priorités sur des tâches qui, jusqu'à ce jour n'étaient pas encore finalisées, telle que la rédaction des procédures de vérification de méthode et estimation des incertitudes.

La méthode QQQCCP a été utilisée pour mener à terme l'étude. Elle sera appliquée à l'avenir pour bien définir le rôle de chacun dans notre démarche qualité afin de faire vivre et de maintenir notre système qualité.

Pour pouvoir confirmer nos performances en routine, des moyens seront mis en place pour nous permettre de vérifier la méthode utilisée. Ce contrôle se fera avec le suivi des résultats de CQI et EEQ. La vérification de méthode et l'estimation des incertitudes de mesure seront étendues aux autres paramètres et suivies dans le temps.

Cette vérification de méthode a permis de conclure que nous étions conformes aux exigences de la norme NF EN ISO 15189 par rapport aux critères de la SFBC. Nous allons étendre cette étude aux autres paramètres de l'automate pour accréditer la paillasse de biochimie.

En validant mon DU Assurance Qualité, cela me permettra de prendre ma fonction en tant que RAQ comme il m'en a été proposé avant la formation. Avec l'aide et le soutien des biologistes qualitatifs de notre structure, je souhaite m'investir entièrement à ce poste en utilisant les connaissances acquises durant cette année.

9. Annexes

ANNEXE 1
PRESENTATION DE VALIDISO 3®

Validiso 3[®] est un logiciel qui permet de simplifier les étapes de vérification de méthodes quantitatives et qualitatives.

Le compte rendu final permet d'offrir une présentation simple tout en facilitant le travail du rédacteur et celui de l'auditeur Cofrac.

Ce logiciel nous aide dans les opérations suivantes :

- Calculs automatiques des répétabilités, reproductibilités, tests de contamination,
- Comparaison automatique par rapport aux référentiels (SFBC, Ricos, critères propres du laboratoire).
- Calculs automatique de l'erreur totale et de l'incertitude de mesure.
- Conclusion automatique sur la validité de la méthode.
- Conclusion modulable par le biologiste.
- Edition du rapport de validation de façon claire soignée et standardisée conformément aux recommandations du Cofrac.
- Intégration des conseils du **SH GTA 04** et du **SH REF 02**.
- Mise à jour automatique des critères validation (Ricos) lors des révisions régulières assurées par leurs auteurs.
- possibilité d'utiliser des critères de validation personnalisés selon votre choix (critères fournisseur, publications etc...).
- On dispose de champ texte supplémentaires pour apporter toute information utile pour éclairer le lecteur (auditeur Cofrac) sur les modalités choisies pour faire notre vérification de méthodes (portée A ou portée B, nature des échantillons de tests).
- Utilitaire de calcul des écarts d'écarts type conformément au **SH GTA14**.
- Possibilité d'importer directement depuis URT2[®] les données de reproductibilité.
- Calcul du nombre de sigma.
- Possibilité d'intégrer les noms et fonctions des intervenants dans le dossier de vérification/validation.
- Possibilité d'intégrer les données de marquage CE.
- Possibilité d'incorporer la fiche technique des méthodes validées directement dans le dossier de vérification/validation.
- Pour les vérifications de méthodes qualitatives (bactério, immuno, hémato)

Validiso3[®] permet de gérer l'analyse de risques de type 5M de manière simple et élégante. On peut intégrer une image de diagramme Ishikawa ou une carte heuristique de la carte 5M.

- Possibilité de coter les risques lors de l'analyse de risques selon les échelles nominales préconisées par le Joint commitee (USA) et James O Westgard.
- Possibilité de coter les risques résiduels lors de l'analyse de risques selon les échelles nominales préconisées par le Joint commitee Et James O Westgard automatique des répétabilités, reproductibilités, justesse et incertitude.

ANNEXE 2

PRESENTATION DE L'AUTOMATE DE BIOCHIMIE



DONNEES GENERALES SUR LE DIMENSION EXL[®]

- L'analyseur de chimie clinique Dimension **EXL[®]** de chez SIEMENS est un instrument intégré autonome à accès aléatoire. Et contrôlé par un microprocesseur, qui permet de mesurer de nombreux analytes, dont les activités enzymatiques, dans les liquides organiques. Le système utilise des cartouches de réactifs Siemens Healthcare Diagnostics Flex[®], des cuvettes de réaction à usage unique et la technologie de multidétecteur intégré (**IMT**) avec la cartouche de détection **QuikLYTE[®]** de SIEMENS pour fournir des résultats de tests rapides, exacts et précis.
- Le système utilise également le module d'immunodosage en phase hétérogène HM pour traiter les immunodosages en phase hétérogène au chrome et le module LOCI[®] pour traiter les immunodosages en phase homogène à hautes sensibilité dans les réactions en sandwich et concurrentes.
- Les caractéristiques du **EXL[®]** sont les suivantes :
 - Exécution des analyses dans un ordre aléatoire
 - Débit maximum de 440 tests photométriques / heure et 187 tests IMT / heure et 167 immunodosages en phase hétérogène
 - Utilisation de tubes primaires (avec ou sans codes à barres) de tailles différentes.
 - 44 cartouches de réactifs peuvent être stockés dans le système de réfrigération et 44 cartouches supplémentaires avec le module RMS.
 - Préparation automatique des réactifs.
 - Possibilité de réaliser des méthodes définies par l'opérateur.
 - Possibilité de retirer automatiquement les cartouches de réactifs vides ou expirées.
 - Peut traiter des bilans CQ comportant des codes barres.

ANNEXE 3

ETUDE DE LA REPETABILITE

VERIFICATION INITIALE DE METHODE ETUDE DE LA REPETABILITE

Glucose sanguin Unité : g/l
Type d'échantillon utilisé : CIQ

Niveau 1

Date essai: 24/09/2011

Nb mesures 30

Mesure 1	0.59
Mesure 2	0.59
Mesure 3	0.60
Mesure 4	0.60
Mesure 5	0.60
Mesure 6	0.61
Mesure 7	0.60
Mesure 8	0.59
Mesure 9	0.59
Mesure 10	0.60
Mesure 11	0.60
Mesure 12	0.59
Mesure 13	0.59
Mesure 14	0.59
Mesure 15	0.59
Mesure 16	0.59
Mesure 17	0.59
Mesure 18	0.59
Mesure 19	0.59
Mesure 20	0.59
Mesure 21	0.59
Mesure 22	0.59
Mesure 23	0.59
Mesure 24	0.59
Mesure 25	0.59
Mesure 26	0.58
Mesure 27	0.59
Mesure 28	0.59
Mesure 29	0.59
Mesure 30	0.59

Niveau 2

Date essai: 24/09/2011

Nb mesures 30

Mesure 1	1.17
Mesure 2	1.17
Mesure 3	1.18
Mesure 4	1.18
Mesure 5	1.18
Mesure 6	1.18
Mesure 7	1.18
Mesure 8	1.18
Mesure 9	1.19
Mesure 10	1.19
Mesure 11	1.18
Mesure 12	1.18
Mesure 13	1.18
Mesure 14	1.18
Mesure 15	1.18
Mesure 16	1.18
Mesure 17	1.18
Mesure 18	1.18
Mesure 19	1.19
Mesure 20	1.18
Mesure 21	1.17
Mesure 22	1.18
Mesure 23	1.17
Mesure 24	1.18
Mesure 25	1.18
Mesure 26	1.18
Mesure 27	1.18
Mesure 28	1.18
Mesure 29	1.18
Mesure 30	1.18

	Moyenne	Ecart-type	CV %	CV % SFBC	CV % Fourn
Niveau 1	0.59	0.006	1.0 %	2.4 %	1.0 %
Niveau 2	1.18	0.005	0.4 %	1.8 %	0.5 %

ANNEXE 4

ETUDE DE LA REPRODUCTIBILITE

Glucose sanguin

<i>Niveau 1</i>			<i>Niveau 2</i>		
Moyenne	0.597		Moyenne	1.175	
Ecart-type	0.0103		Ecart-type	0.0161	
CV %	1.7	%	CV %	1.4	
CV % SFBC	3.2	%	CV % SFBC	2.4	
CV % Ricos			CV % Ricos		
Minimum	4.3	%	Minimum	4.3	
Souhaitable	2.9	%	Souhaitable	2.9	
Optimum	1.4	%	Optimum	1.4	
CV % Fournisseur	1.6	%	CV % Fournisseur	1.2	

ANNEXE 5

EVALUATION DE LA JUSTESSE

VERIFICATION DE METHODES A LONG TERME

EVALUATION DE LA JUSTESSE (à partir des résultats de CIQ externalisés)

Glucose

Unités g/l

Type d'échantillon utilisé CIQ externalisés

Niveau 1

Période essai: Début

Nb points

Fin

Moyenne **0.600**

Moy. pairs

Moy. méthode

Biais % / pairs **0.0** %

Biais % / mét. %

Nb labos pairs

Nb labos méthode

Biais % SFBC

5.1 %

Objectifs selon les Variations biologiques (Ricos)

Minimum

Acceptable

Optimum

3.4 %

2.2 %

1.1 %

Biais %
fournisseur

0.3 %

Niveau 2

Période essai: Début

Nb points

Fin

Moyenne **1.180**

Moy. pairs

Moy. méthode

Biais % / pairs **-1.7** %

Biais % / mét. %

Nb labos pairs

Nb labos méthode

Biais % SFBC

4.4 %

Objectifs selon les Variations biologiques (Ricos)

Minimum

Acceptable

Optimum

3.4 %

2.2 %

1.1 %

Biais %
Fournisseur

2.1 %

ANNEXE 6

ESTIMATION DE L'INCERTITUDE DE MESURE

Données des EEQ

$$E_i = X_{\text{valeur rendu}} - X_{\text{cible}}$$

VALEUR RENDU EEQ	CIBLE GROUPE DE PAIRS	$(E_i - \bar{E})$	$(E_i - \bar{E})^2$	$\sum (E_i - \bar{E})^2$	n	n-1	E :écart entre le résultat et la valeur cible
2.90	2.97	0.0075	0.00006	0.002	4	3	-0.07
2.88	2.99	-0.033	0.00110				-0.11
2.91	2.96	0.0275	0.00076				-0.05
2,79	2.87	0.0025	0.00006				-0.08
							Soit une moyenne 0.0775

(E) représente la moyenne des écarts des EEQ soit 0.0775 soit 0.08

$$\text{Ecart type des écarts} = \sqrt{\frac{0.002}{3}} = 0.026$$

Niveau 2

Source de l'information	U : Incertitude type	U _C : incertitude composé	U _E : Incertitude élargie
Ecart- type de la fidélité intermédiaire 0.016	0.016	0.054	0.11
Moyenne des écarts des EEQ- 0.08			
Ecart-type des EEQ 0.026	0.026		

Pour une concentration de glycémie à 1.175 g /l, nous obtenons une incertitude de mesure élargie de ± 0.11g /l soit 9.36%

10. Résumé

Notre laboratoire multi-sites est inscrit depuis plusieurs années à BioQualité. La qualification 36 mois a été obtenue pour les deux sites. Nous avons l'obligation pour Mai 2013 d'apporter plusieurs preuves d'engagement dans notre démarche qualité pour le COFRAC.

Dans ce dossier doivent figurer trois vérifications de méthodes.

Le sujet du mémoire nous a orienté sur l'une d'elle, qui correspond à la méthode quantitative de portée flexible A du Glucose sanguin.

Afin de répondre aux exigences du COFRAC, nous avons suivi les recommandations du guide SH GTA 04 et la table des valeurs de la SFBC comme critères de vérification.

La méthode des QQQCCP a été notre plan d'action afin de mener à terme notre étude.

La méthode employée sera modélisée pour la vérification quantitative des autres mesurandes de l'automate de biochimie et des autres analyseurs afin d'être prêt pour l'accréditation totale de 2016.

La vérification de méthode consiste à vérifier le couple analyseur/réactif dans les conditions environnementales du laboratoire. Afin de conclure que cette vérification était valide, nous avons suivis le SH GTA 04 et mis en application le texte. Les critères de performances ont été étudiés et réalisés telles que la répétabilité, la reproductibilité et l'évaluation de la justesse. L'incertitude de mesure a été estimée.

Toute cette étude s'est faite avec les techniciens référents de la paillasse de biochimie.

Ainsi, nous avons pu conclure que notre étude chiffrée était valide par rapport à l'état de l'art de la SFBC pour le dosage de la glycémie.