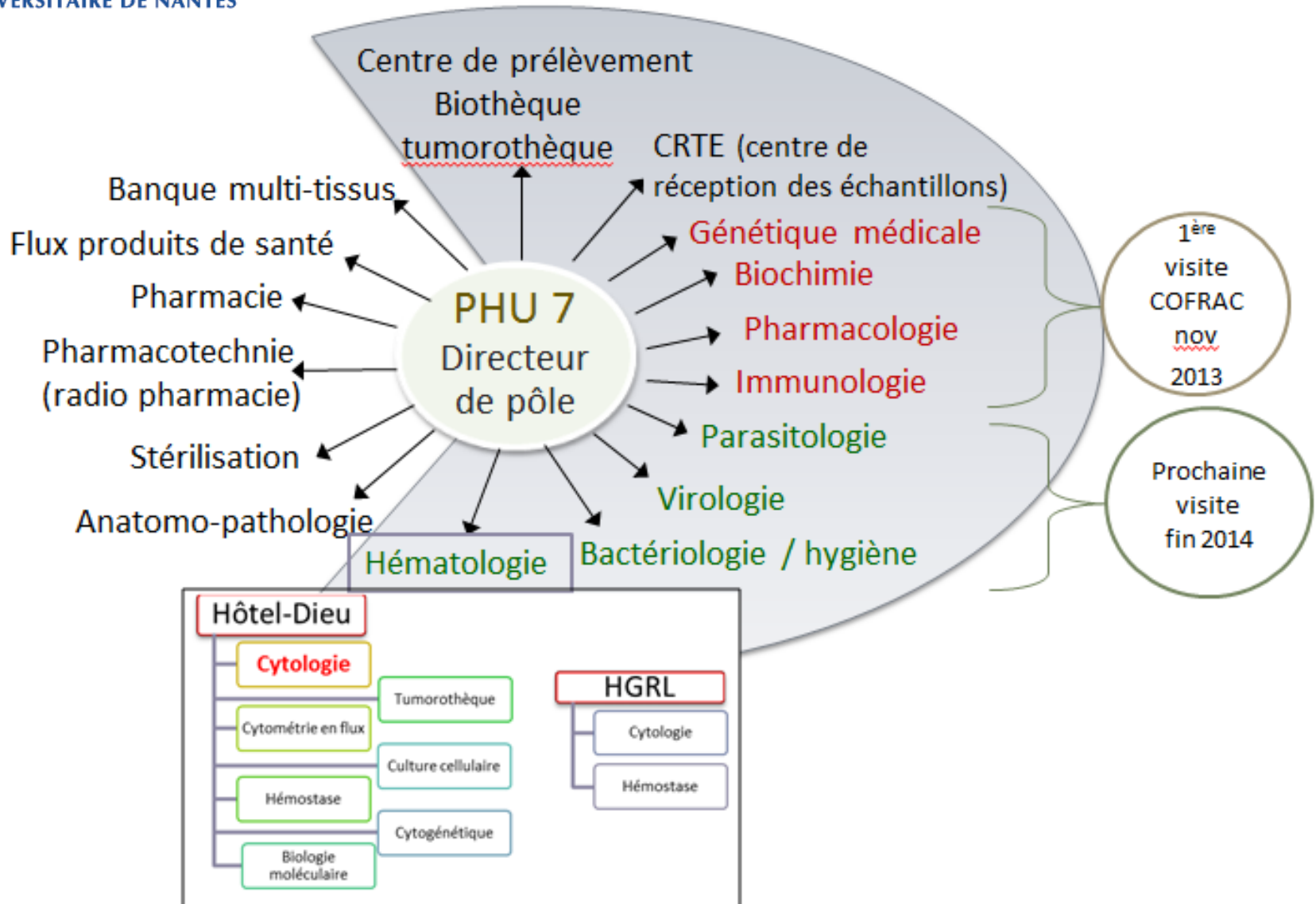


Vérification initiale de l'hémogramme automatisé sur le XN-9000 de SYSMEX



BRANGER Marine
Interne biologie médicale
Année 2013-2014

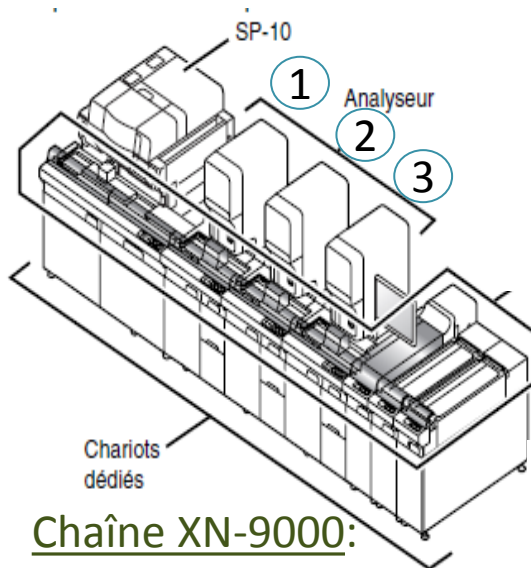
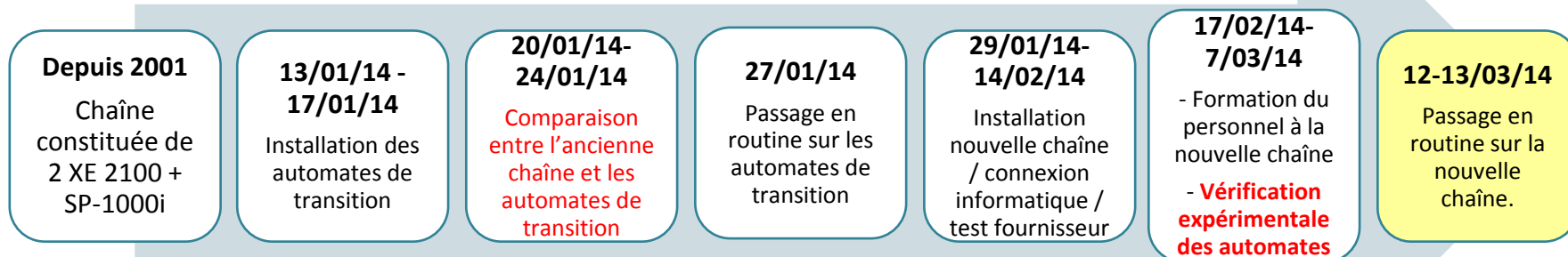
Structure / avancement qualité



Le contexte

- Renouvellement des automates de cytologie.
- Accréditation de l' HEMOGRAMME pour la prochaine visite COFRAC

Déroulement de l'installation de la nouvelle chaîne analytique



Chaîne XN-9000:
3 analyseurs XN-10

Objectif:
Réalisation du dossier de vérification de méthode de l'hémogramme automatisé des nouveaux automates.

Personnels impliqués:

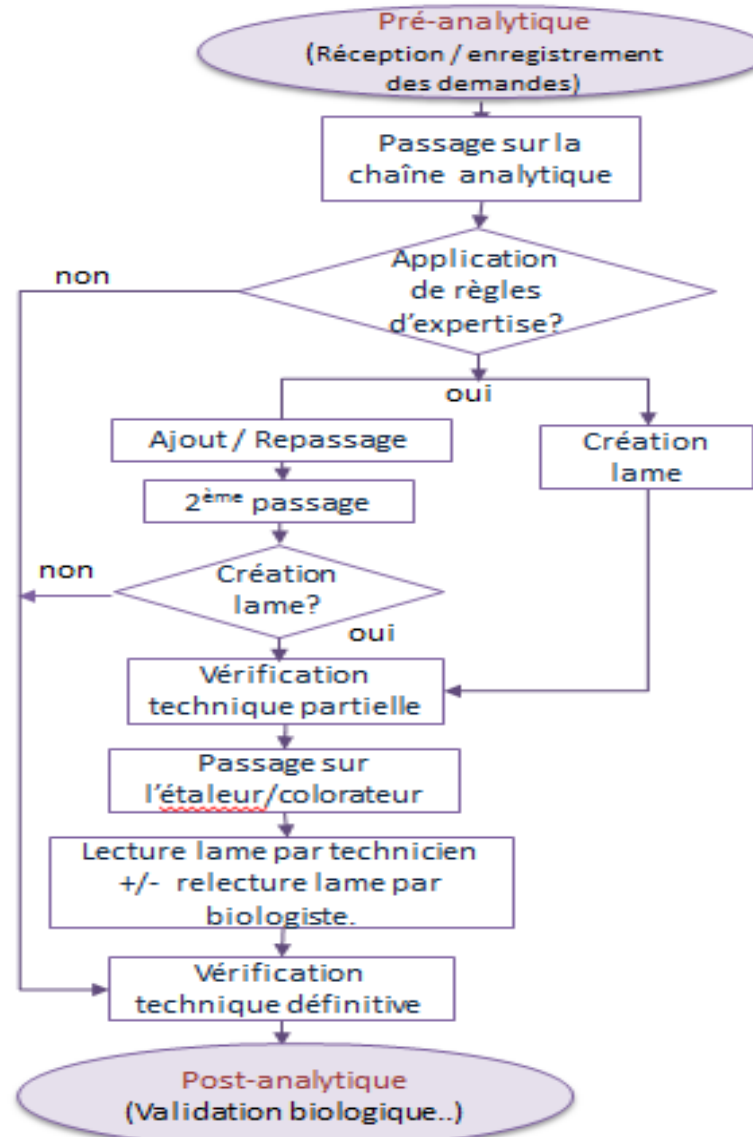
- Une biologiste
- Deux techniciennes
- Un interne
- La cellule qualité

Processus analytique

Hémogramme automatisé
méthode QUANTITATIVE
de portée A



VERIFICATION de méthode
(7180-PR-022)



Vérification de la
bonne exécution des
règles d'expertises:
groupe informatique
(après vérification de
méthode)

Plan expérimental

(7180-IM-062)

Rédaction:
interne/biologiste

- Déterminer les paramètres devant faire l'objet d'une vérification de méthode = paramètres mesurés.

Paramètres mesurés		
Paramètre	unité	Principe mesure
GR (globule rouge)	T/L	Impédance
Ht (hématocrite)	%	Impédance
Hb (hémoglobine)	g/dl	Spectrophotométrie
IDR (indice de répartition des rouges)	%	Impédance
PLT-I (plaquette impédance)	G/L	Impédance
PLT-F (plaquette mode fluo)	G/L	C.M.F
Plaquetocrite	%	Impédance
GB (globule blanc)	G/L	C.M.F
PN (Polynucléaire neutrophile)	G/L	C.M.F
Ly (Lymphocyte)	G/L	C.M.F
Mono (Monocyte)	G/L	C.M.F
PNEo (Polynucléaire Eosinophile)	G/L	C.M.F
PNBa (Polynucléaire basophile)	G/L	C.M.F
IG (Immature granuleux)	%	C.M.F
EB (erythroblaste)	G/L	C.M.F
Réticulocytes	G/L	C.M.F

Paramètres calculés		
Paramètre	unité	Calcul
VGM (volume globulaire moyen)	fl	$Ht(\%) * 10 / GR(T/L)$
CCMH (concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine)	g/dl	$Hb(g/dl) * 100 / Ht(\%)$
TCMH (teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine)	pg	$Hb(g/dl) * 10 / GR(T/L)$
VPM (volume plaquettaire moyen)	fl	$PCT \% * 10000 / PLT (G/L)$
PN	%	$PN(G/L) * 100 / GB(G/L)$
Ly	%	$Ly(G/L) * 100 / GB(G/L)$
Mono	%	$Mono(G/L) * 100 / GB (G/L)$
PNEo	%	$PNEo(\%) * 100 / GB(G/L)$
PNBa	%	$PNBa(\%) * 100 / GB(G/L)$
IG	%	$IG(\%) * 100 / GB(G/L)$
Réticulocytes	G/L	$Ret^{\circ\circ} * GR * 10^3 / 1000$
EB	%	$EB(\%) * 100 / TNC-N(G/L)$

Vérification des calculs

Plan expérimental (suite)

- **Définir les critères d'acceptabilité:** Ricos, fournisseur
- **Définir le planning et les responsabilités.**
- **Déterminer pour chaque paramètre les critères de performances à vérifier et dans définir les modalités de mise en œuvre:**

Vérification sur site obligatoire:

- ✓ Répétabilité
- ✓ Fidélité intermédiaire
- ✓ Justesse /exactitude
- ✓ Comparaison
- ✓ (Incertitude)

Vérification bibliographique:

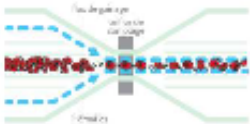
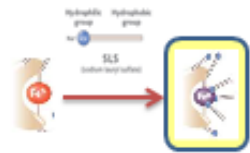

- ✓ Intervalle de mesure
- ✓ Stabilité réactif
- ✓ Interférences
- ✓ Contamination

Vérification sur site non obligatoire:

- ✓ contamination: GB, plaquettes
- ✓ Limite de quantification: GB, plaquettes

Rapport de vérification de méthode

Description de la méthode

Analyte / Mesurande :	Globules rouges	Hémoglobine	Globules blancs
Principe de la mesure :	Impédance	Spectrophotométrie	Cytométrie en flux
Méthode de mesure :	<p>Le passage de cellules en suspension dans un liquide conducteur (principe de focalisation hydrodynamique à volume fixe calibré) à travers un orifice modifie la résistance électrique entre deux électrodes. Cette variation d'impédance est enregistrée sous forme d'impulsions. Quand une cellule coupe le champ électrique cela entraîne :</p> <ul style="list-style-type: none"> * une diminution de la conductivité * l'augmentation de la résistance électrique <p>Le nombre d'impulsions enregistré correspond au passage des cellules. La hauteur des impulsions est proportionnelle au volume de la cellule détectée d'où l'identification.</p> 	<p>Méthode du Lauryle Sulfate de Sodium (SLS). Le SLS détruit les membranes des globules rouges et libère l'hémoglobine. Le réactif SLS se combine alors avec l'hémoglobine pour former un hémichrome stable. La concentration en hémoglobine est ensuite quantifiée par colorimétrie en utilisant un photomètre à filtre.</p> 	<p>ANALYSE CELLULAIRE TRIDIMENSIONNELLE:</p> <ul style="list-style-type: none"> * fluorescence (SFL): information selon le contenu en ADN/ARN de la cellule. * petit angle (FSC) : information sur la taille de la cellule. * grand angle (SSC): information sur la structure de la cellule <p>Le Lysercell WNR lyse les GR, PLT et le cytoplasme des GB (excepté les basophiles qui restent intacts). Le Fluorocell WNR marque les acides nucléiques des GB et des NRBC.</p> 
Type d'échantillon primaire :	Sang total	Sang total	Sang total
Type de récipient, Additifs :	EDTA	EDTA	EDTA
Prétraitement de l'échantillon :	Agitation des tubes par retournement	Agitation des tubes par retournement	Agitation des tubes par retournement
Unités :	Tera/L	g/dl	G/L
Intervalles de référence :	Document: 9240 - DI - 136 "Intervalles de référence de la numération globulaire et plaquettaire en fonction de l'âge"	Document: 9240 - DI - 136 "Intervalles de référence de la numération globulaire et plaquettaire en fonction de l'âge"	Document: 9240 - DI - 136 "Intervalles de référence de la numération globulaire et plaquettaire en fonction de l'âge"
Codage C.N.Q. :			
Instrument :	Module XN10 sur chaîne XN-9000 de SYSMEX(n°serie: 13622/ 13621/ 13620)	Module XN10 sur chaîne XN-9000 de SYSMEX(n°serie: 13622/ 13621/ 13620)	Module XN10 sur chaîne XN-9000 de SYSMEX(n°serie: 13622/ 13621/ 13620)
Référence du réactif :	Cellpack	Sulfolyser	Fluorocell WNR et Lysercell WNR
Matériau d'étalonnage / Raccordement métrologique	NA	aucun	NA
Type d'étalonnage :	NA	aucun	NA

Maîtrise des risques

Matériel

Méthode

Milieu

Dérive automate
Passage CQI plsr x/j , avt et après maintenance

Absence de maintenance
Suivi maintenance dans MPL + MO maintenance

Pb transmission automate/middleware
Vérif connexions

Pb Connexion MPL/SIL
Procédure dégradée

Non maîtrise gestion CQI
Formation/habilitation.
MO passage des CQI/ conduite à tenir si CQI NC

Modification règles d'expertises
Vérification règles expertises initiale/ si changement version MPL

Procédure obsolète
Mise à jour procédure

Condition environnementale non respectée: température

Salle climatisé

Condition environnementale non respectée: électricité

Automate sur réseau ondulé

Vérification analytique inapproprié

Formation/habilitation tech + MO validation ≠ lignées

Analyse spécialisée non réalisée
Formation/habilitation CRTE + nvlls règles expertises

Q.I.
Vérif quantité avt mise sur automate

Micro caillot tube ped
Vérif de tout les µtubes avt analyse

Pb homogénéisation
Formation/habilitation tech

Caillot/ plvt hémolysé/ lactescent
Formation/habilitation + MO (vérif caillot/ CCMH)

Réactif périmé/ mal conservé
Gestion des stocks/ traçabilité lots et péremption réactif par automate

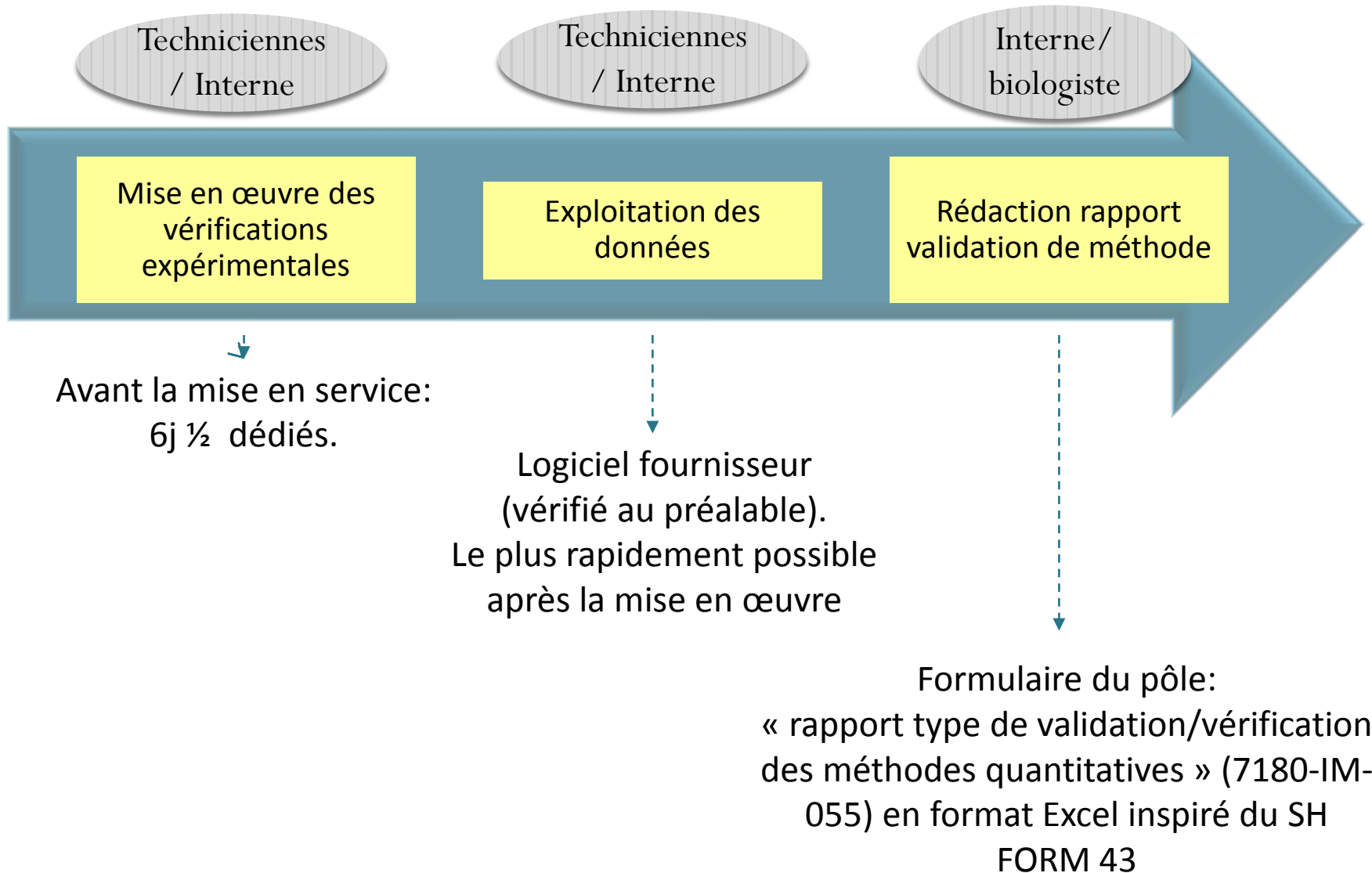
Rupture stock réactif

Gestion des stocks/ MO suivi conso réactif par automate

Main-oeuvre

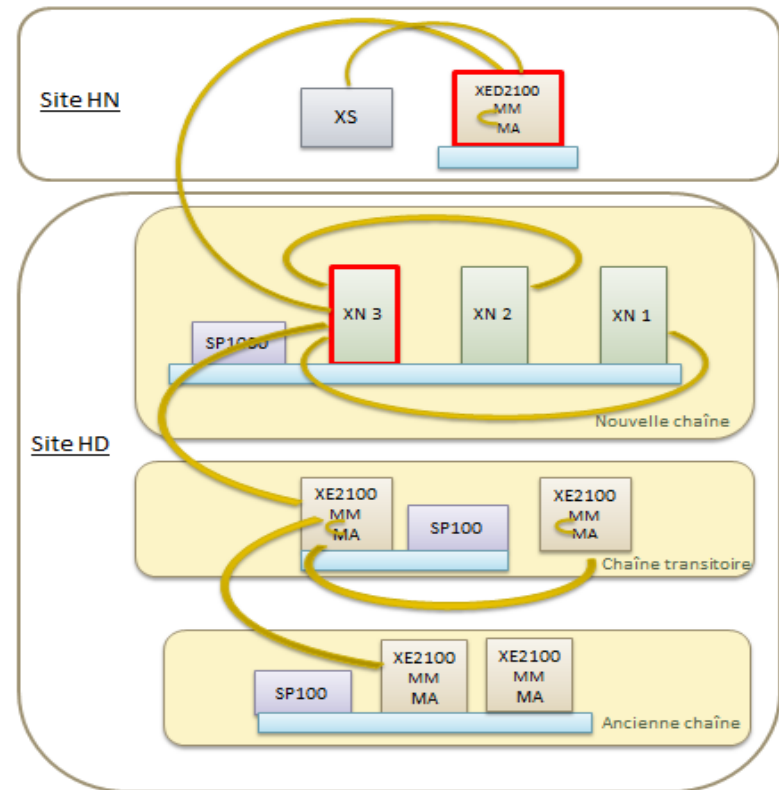
Matière

Vérification de méthode



Méthode

- **Répétabilité:** 3 niveaux, 30 passages CQI sur chaque automate + 1 patient.
- **Reproductibilité:** 3 niveaux, 30 passages CQI sur 15 jours sur chaque automate.
- **Exactitude:** 4 échantillons provenant d'EEQ de concentrations différentes.
- **Limite quantification:** plus faible concentration correspondant à un CV de 10%.
(répéta sur n=10)
- **Contamination:** H1, H2, H3 / B1, B2, B3 .
3x
- **Comparaison de méthode:**
40 patients sur large gamme de mesure.



Résultats / conclusion

Dans l'ensemble, les résultats obtenus ont été jugés conformes aux critères d'acceptabilité définis au préalable, et la méthode considérée comme apte à être utilisée en routine.

➔ Vérification et approbation du rapport de validation par la cellule qualité.

Perspectives:

- Calcul des incertitudes de mesure.
- Mise à jour des modes opératoires.
- Formation/habilitation du personnel.
- Validation formule manuelle.

Merci de votre attention.