



**Validation de méthode qualitative
de
portée B:
HLA-B27 par cytométrie en flux**

Sommaire

1. **Présentation du laboratoire Biomnis**
2. **Objectifs**
3. **Intérêts**
4. **Démarche utilisée**
5. **Difficultés rencontrées**
6. **Résultats**
7. **Conclusion**



Le laboratoire Biomnis

❖ **Laboratoire sous traitant**

❖ **2 sites opérationnels**



Ivry sur Seine : Traitement des analyses à gros volume et aux délais de rendu courts



Lyon Gerland : Traitement des analyses hyper spécialisées, nécessitant une expertise de pointe

Le laboratoire Biomnis

❖ Compétences

- ✓ Biologie spécialisée
- ✓ Recherche clinique
- ✓ Empreintes génétiques



❖ Activités

- ✓ Nombre de dossiers patients/jour : 20 000
- ✓ Nombre d'analyses/jour : 40 000

❖ Accréditation Cofrac NF EN ISO 15189 DEPUIS 2010

- ✓ 213/500 paramètres accrédités (Ivrysur seine)
- ✓ 52% des examens rendus sous accréditation



Objectifs

- ❖ Répondre aux exigences de la réforme de la biologie médicale
- ✓ Accréditation sur 100% des familles et 50% de l'activité avant 2016
- ❖ Ouverture nouvelle famille
- ✓ Portée d'accréditation
 - Sous-domaine : Immunologie
 - Famille : Immunologie cellulaire spécialisée et histocompatibilité
- ✓ Ligne de portée

Code	Nature de l'échantillon biologique	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres)
IC4	Échantillons biologiques d'origine humaine	Recherche et/ou identification AC HLA Typage HLA Cross match lymphocytaire	Méthode de type qualitatif ou quantitatif Prétraitement : Isolement des lymphocytes Préparation du sérum Réaction immunologique : sur support cellulaire - Principe général des techniques : - Cytométrie de flux...	Méthodes reconnues (A) Méthodes reconnues, adaptées ou développées (B) (**)	

❖ Intérêt clinique

✓ Aide au diagnostic spondylarthrite ankylosante

❖ Intérêt opérationnel

✓ 2 méthodes de détection disponibles au Laboratoire Biomnis

La méthode de référence de Biologie Moléculaire (PCR temps réel) réalisée à Lyon

! Attestation de consultation et consentement éclairé du patient obligatoire

La méthode alternative de Cytométrie en Flux (réactifs et instruments Beckman Coulter) réalisée à Ivry sur Seine

Pas d'attestation ni de consentement



Rapide +
Facile +
Coût -



DEMARCHE UTILISEE

PROCESSUS

Type de méthode (qualitative/quantitative)
Type de portée (A/B)



Choix des limites d'acceptabilité



Détermination des paramètres
à vérifier/valider



Vérification expérimentale



Conclusion par rapport
aux limites définies



Utilisation de la méthode
en routine



Vérification en continue
(CQI, EEQ)



DOCUMENTS

SH GTA 04
SH INF 50

Documents fournisseurs
Bibliographie

SH GTA 04

SH GTA 04
SH GTA 06

SH FORM 43

SH GTA 06

RESPONSABLES

Biologiste

Biologiste

Biologiste

Technicien

Biologiste

Technicien

Technicien
Biologiste

DIFFICULTES RENCONTREES

- ❖ **CQI non commercialisé en Europe**
- ❖ **Choix du type de méthode et de portée**
- ✓ **Méthode qualitative (résultat Négatif/Positif extrapolé à partir d'un signal quantifiable mais non linéaire)**
- ✓ **Portée B (Méthode commercialisée mais adaptée au laboratoire)**
- ❖ **Critères à valider**

Critères quantitatifs évalués sur site

Répétabilité
Reproductibilité
Comparaison miroir
Contamination
Robustesse
Stabilité échantillon
Stabilité préparation

Critères qualitatifs évalués par comparaison inter- laboratoire

Sensibilité/Spécificité relatives
Exactitude relative
Incertitude relative
Intervalle de référence
Index de concordance Kappa

Résultats quantitatifs

Critères	Limites d'acceptabilité	Résultats	Conclusion
Répétabilité	CV < 10%	CV(1) = 7.5% CV(2)=5.9% CV(1) = 8.7% CV(2)=6.0%	Conforme
Reproductibilité	CV < 15%	CV(1) = 8.7% CV(2)=9.7% CV(1) = 8.7% CV(2)=11.8%	Conforme
Automates en miroir		Absence de discordances Y=0.90 + 0.10	Conforme
Contamination		Contamination=0.24%	Conforme
Stabilité prélèvement sur 72h	Ecart < 15%	Ecart=13.7%	Conforme
Stabilité préparation sur 1h	Ecart < 15%	Ecart=13.6%	Conforme
Robustesse pipetage		Y=0.96-0.05	Conforme



Résultats qualitatifs

Résultats obtenus par comparaison de méthode Etude réalisée sur 194 échantillons

- ❖ Spécificité relative = **100%**
- ❖ Sensibilité relative = **95%**
- ❖ Exactitude relative = **99.5%**
- ❖ Incertitude de mesure
0% de faux POS et **0.05%** de faux NEG
AMDEC = Formation/habilitation du technicien
- ❖ Index Kappa = **0.97**
- ❖ Intervalle de référence MIF < 3 Résultats NEG
 3 < MIF < 6 Résultat INI
 MIF > 6 Résultats POS

Conclusion

Déclaration d'aptitude

- ❖ Les Résultats illustrent la fiabilité de la CMF et permettent de déclarer la méthode apte à l'utilisation en routine

Limites

- ❖ La technique de BM reste néanmoins prioritaire si les attestations sont disponibles
- ❖ La technique de BM reste indispensable pour 5% des échantillons rendus ininterprétables

Et après?

- ❖ Mis en place de moyen nécessaires pour garantir la pérennité des performances de la méthode tout au long de son utilisation
- ✓ CIQ
- ✓ EEQ
- ✓ Gestion des habilitations et compétences du personnel



Je vous remercie