

**MEMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE**

**« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE DE
BIOLOGIE MEDICALE »**

VALIDATION DE METHODE EN PORTEE B :
APPLICATION AU DOSAGE DU FIBRINOGENE SUR
AUTOMATE STA-R EN HEMOSTASE

Tassadit Yahouni-Kheyar

2014-2015

Auteur

Docteur Tassadit Yahouni-Kheyar

Médecin biologiste

Service d'hématologie biologique, secteur hémostase,

Groupe hospitalier Est Parisien APHP

Hôpital Armand Trousseau,

26 avenue du Docteur Arnold Netter

75012-Paris

Remerciements

- Je souhaite remercier Monsieur le professeur Luc Douay, chef de service du laboratoire d'hématologie, la responsable d'unité Hélène Lapillonne ainsi que tous mes collègues biologistes.
- L'assurance qualité demeure un travail d'équipe et en continu. Je tiens aussi à remercier toute l'équipe du laboratoire d'hémostase, et en particulier, les techniciens référents du secteur d'hémostase, Amélie, Corinne, et Christophe, pour leur participation dans la réalisation de la technique.
- Tous mes remerciements vont aussi Laure Counil, Responsable qualité du site Trousseau, pour sa collaboration et son aide précieuse.
- Je remercie Amir Khaterchi pour son esprit d'équipe, le temps qu'il m'a accordé pour la relecture de ce mémoire et ses précieux conseils sur le plan technique.
- Je remercie également les Docteurs Vaubourdolle et Pernet, ainsi que tous les intervenants du DU, pour la qualité de leur enseignement.
- Une pensée à mon père.

Sommaire

•	ABREVIATIONS	p 5
•	INTRODUCTION	p 6
I.	CONTEXTE	p7
	a) Présentation du GH.....	p7
	b) Présentation du pôle de biologie de l'Est Parisien.....	p8
	c) Présentation du site Trousseau.....	p8
	d) Présentation du service d'hématologie biologique	p8
	e) Démarche qualité...p9	
II.	PLAN D'ACTION	p11
	a) Objectifs du projet.....	p11
	b) Intérêt du dosage.....	p11
	c) Etapes de réalisation du projet.....	p12
III.	Matériels et méthodes	p13
	a) Matériel et produits.....	p13
	b) Principe du dosage.....	p13
	c) Méthodologie.....	p14
	d) Critère de performance étudiées.....	p15
IV.	RESULTATS	p20
	a) Evaluation de la répétabilité.....	p20
	b) Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire).....	p20
	c) L'exactitude.....	p21
	d) L'incertitude de mesure.....	p22
	e) Comparaison de méthodes.....	p22
	f) Les interférences.....	p23
	g) La contamination inter-échantillon.....	p24
	h) Limite de quantification.....	p24
	i) Intervalle de référence.....	p25
	j) Stabilité du réactif.....	p25
•	DISCUSSION ET CONCLUSION	p29
•	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	p31
•	LISTE DES RES ANNEXES	p32
•	RESUME	

ABREVIATIONS

AP-HP : Assistance Publique - Hôpitaux de Paris

CEQ /EEQ : Contrôle externe de qualité

CIQ : Contrôle interne de qualité

COFRAC : Comité français d'accélération

CRPP : Centre de référence de pathologie plaquettaire

CV : Coefficient de variation

ET : Ecart-type

FE : Fiche d'enregistrement

GBEA : Guide de bonne exécution des analyses

GH : Groupe Hospitalier

GRAAL : Groupe d'Aide à l'Accréditation des Laboratoires

HUEP : Hôpitaux Universitaires Est Parisien

M : Moyenne

MO : Mode opératoire

RAQ : Responsable assurance qualité

SFBC : Société française de biologie clinique

SGL : Serveur de gestion documentaire

STARE : Serveur de transmission de résultats

INTRODUCTION

Selon la norme internationale NF EN ISO 15189 sur les exigences concernant la qualité et la compétence des laboratoires de biologie médicale, un laboratoire de biologie médicale doit vérifier et/ou valider son processus analytique. Pour les méthodes adaptées ou développées par le laboratoire, celui-ci doit procéder à la validation de ses méthodes en portée flexible étendue (B).

Dans le laboratoire, le dosage du fibrinogène est réalisé à partir d'un réactif du fournisseur Siemens et adapté sur automate STA-R Stago. Ce dosage se fait par technique chromométrique selon la méthode de référence CLAUSS.

L'objectif de ce travail est de déterminer la bonne démarche à suivre afin de valider l'ensemble de nos méthodes de dosages en portée B. Un mode opératoire sera rédigé sur la validation de méthode quantitative en portée B. Ce document servira de référence pour les variations de méthode en portée B pour l'ensemble de service et permettra d'harmoniser le dosage du fibrinogène dans les différents sites du GH.

De plus, nous avons évalué les risques de notre processus analytique selon la règle de 5M comme la norme l'exige.

Enfin, nous finaliserons ce travail par la validation du dosage de fibrinogène qui a été réalisé au cours de l'année 2014 sur les automates STA. (Remplissage du formulaire SH FORM 43 et la rédaction du mémoire.).

I. CONTEXTE

a) Présentation du Groupe Hospitalier des Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien (GH HUEP)

Le Groupe Hospitalier Universitaire Est Parisien (GHUEP) est composé des hôpitaux Saint-Antoine (Paris 12e), Rothschild (Paris 12e), Trousseau (Paris 12e), La Roche-Guyon (Val d'Oise) et Tenon (Paris 20e) et il propose une offre de soins complète, d'excellence et de proximité permettant la prise en charge de la plupart des pathologies, du nouveau-né à la personne âgée .



Figure 1 : Cartes du GHUEP

Le GHUEP regroupe plus de 2 260 médecins et 7 340 personnels non médicaux. Avec 1 900 lits, il représente 13 % de la capacité d'hospitalisation de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. Il est associé à la faculté de Médecine Pierre et Marie Curie (Paris VI), et représente le 3e centre de recherche au niveau national. Il abrite aussi des centres d'enseignement tel que les écoles d'infirmiers et d'aides-soignants, de sages-femmes et de puériculture de l'AP-HP.

Le GHUEP dispose de plusieurs pôles d'excellence:

- Appareil locomoteur
- Cancérologie et hématologie
- Digestif et nutrition
- Gériatrie
- Gynécologie et endocrinologie
- Handicap
- Pédiatrie
- Périnatalité
- Urgences et aval généraliste et spécialisé
- Uro-néphrologie
- Tête, cou et poumons

Le GH est organisé en 14 pôles regroupant les activités médico-chirurgicales et les activités supports dont le pôle de biologie médicale et pathologie qui traite les demandes d'examens du groupe hospitalier, des centres de soins extérieurs et des patients de consultations externes.

b) Le Pôle de Biologie Médicale et Pathologie du GHUEP

Le Pôle de Biologie Médicale et Pathologie est composé de 21 laboratoires répartis sur 4 sites (Saint Antoine, Trousseau, Tenon, Rothschild) dont le site principal est l'hôpital St Antoine qui héberge la direction du Pôle de Biologie avec un chef de pôle, le Dr Vaubourdolle, un cadre paramédical de pôle, Mme Guil, et un cadre administratif de pôle, Mme Chanemougame.

L'activité du pôle de biologie a représenté en 2014 environ 6 millions d'actes (tableau 1).

<i>par site</i>	nb actes 2014	% 2014 vs 2013	nb Eq. B en 2014	% 2014 vs 2013
SAT	3 211 689	5%	101 335 363	5%
TNN	1 726 628	-4%	50 563 554	-4,5%
TRS	1 145 380	-4%	54 121 162	-4%
TOTAL	6 083 697	0,4%	206 020 079	-3,4%

Tableau 1 : Activité de biologie pour l'année 2014

c) Présentation du site Trousseau

L'hôpital pédiatrique et périnatal de référence de l'Est parisien, Trousseau, propose une prise en charge des premiers jours de la vie à l'âge adulte. Il dispose de plusieurs activités médicales phares (urgences pédiatrique et gynécologiques, maternité de niveau III, cancérologie, hématologie, centre de traitement de la brûlure, handicap neuro-sensoriel).

L'hôpital compte 2 184 professionnels, 325 lits et 28 places de jour et 5 postes de dialyse, 72 lits d'obstétrique et 9 lits de gynécologie et 253 lits pédiatriques.

d) Présentation du service d'hématologie biologique du site de Trousseau

Le service d'Hématologie biologique de l'Hôpital Trousseau, dirigé par le Pr Douay, traite les demandes des services cliniques de l'hôpital, mais aussi d'autres CHU de l'AP-HP, des hôpitaux de la région, des cliniques et des laboratoires privés. Il réalise aussi des prestations de conseil dans le cadre des maladies constitutionnelles hémorragiques et thrombotiques de l'enfant auprès des cabinets de pédiatrie.

Le laboratoire d'Hématologie est composé de 5 secteurs (cytologie, hémostase, de cytométrie en flux et biologie moléculaire) et est ouvert 7j /7 et 24h/24. Il réalise des examens de routine et des examens spécialisés (bilan de thrombophilie, dosage de facteur XIII, exploration de la fibrinolyse, recherche de maladie constitutionnelle hémorragique de l'enfant...). D'autre part, le laboratoire fait partie du centre de référence de pathologies plaquettaires (CRPP) dirigé par le Dr Favier.

Par ailleurs, le laboratoire accueille des étudiants en BTS ou DUT, des internes en biologie et des étudiants en pharmacie (master, 5ème année hospitalo-universitaire). Les étudiants participent à la validation biologique, aux réunions inter-service, au staff du service, et à tous les travaux réalisés dans le laboratoire.

En 2014, le service d'hématologie biologique a réalisé 5.812764 de B+BHN avec un effectif de 23 personnes (personnel médical et non médical).

Le secteur d'hémostase a réalisé 1437459 de B+BHN pour la même année.

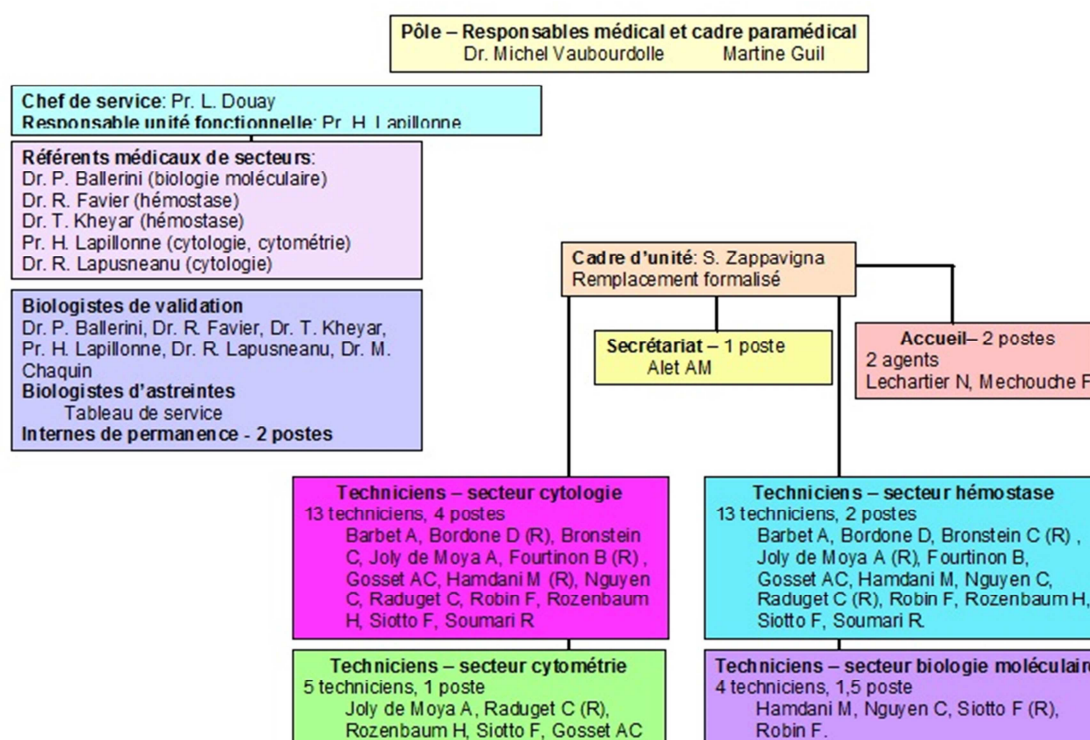


Figure 3 : Organigramme du service

e) Démarche qualité

Le service d'hématologie biologique s'est engagé depuis longtemps à une démarche qualité notamment du fait de l'existence du GBEA. Ainsi, la rédaction systématique de procédures écrites, suivi des indicateurs qualité et la gestion des documents sont de règle. Toute fois une démarche plus engagée est nécessaire compte tenu de l'application de la nouvelle législation relative à la biologie médicale qui implique une accréditation de toutes ses activités par le comité français d'accréditation (Cofrac) selon les exigences de la norme NF EN ISO15189 et du SH REF 02.

La norme NF EN ISO15189 ne concerne pas uniquement la partie technique du laboratoire. Elle s'applique également aux relations avec les fournisseurs, à tous les processus pré-analytique, analytique post-analytique (avec les valeurs de références et interprétation, validations techniques et biologiques, bio thèque, rajouts des examens et gestion des comptes rendus) à la

liste des méthodes analytiques employés, aux conditions environnementales, au fonctionnement informatique et la mise en place d'un système Management de la qualité (audit interne, cellule qualité, revue de direction, gestion documentaire, etc.) Le lancement de cette démarche a débuté en mars 2011 avec l'arrivée du responsable qualité et la signature de la politique qualité du pôle mono-site par l'ensemble des chefs de service. Une cellule qualité était montée composée de référents qualité nommés dans chaque service suivi d'une auto-évaluation pour faire l'état des lieux suivis un plan d'action. Après deux ans de travail, le service a pu obtenir le certificat d'accréditation dont l'évaluation Cofrac a eu lieu en septembre 2013 (examen concerné TP).

En juin 2014, de nouveaux examens ont été ajoutés en portée flexible (TCA, D-Dimères) pour une évaluation en février 2015.

Pour la continuité de la démarche d'accréditation des examens réalisés au laboratoire, le dosage de fibrinogène, ainsi que les facteurs II et V sont planifiés pour l'année 2016 dans le cadre de la portée flexible.

Exigences normatives et recommandations COFRAC

La norme NF EN ISO 15189 sur les exigences concernant la qualité et la compétence des laboratoires de biologie médicale (version décembre 2012), contient un chapitre dédié au processus analytique (§ 5.5 Processus analytique). La norme précise dans le chapitre §

5.5.1.3 Validation des procédures analytiques

Le laboratoire doit valider les procédures analytiques déduites des sources suivantes:

- Les méthodes non normalisées
- Les méthodes conçues ou développées par le laboratoire
- Les méthodes normalisées utilisées en dehors de leur domaine d'application prévu
- Les méthodes validées, puis modifiées

La validation doit être aussi étendue que nécessaire et confirmer, par des preuves tangibles (sous la forme de caractéristiques de performances), que les exigences spécifiques pour l'utilisation prévue de l'examen ont été satisfaites.

D'autre part, la norme indique que les laboratoires doivent étudier tous les risques potentiels ayant un impact sur le résultat:

Dans le « Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation » SH REF 02, rédigé par le COFRAC, un chapitre concerne les équipements critiques (§ 5.6.3 Traçabilité métrologique des résultats de mesure).

4.14.6 Gestion des risques

Le laboratoire doit évaluer l'impact des processus de travail et défaillances potentielles sur la sécurité des résultats des examens et doit modifier les processus pour réduire ou éliminer les risques identifiés, et documenter les décisions et actions menées.

Le LBM identifie ses équipements critiques, c'est à dire ayant une incidence significative sur l'exactitude et la fiabilité des résultats, employés dans le cadre de la surveillance des conditions de réalisation des examens (ex: balances utilisées pour préparer un réactif, pipettes utilisées pour préparer une solution servant à un étalonnage, étuve intervenant dans une incubation, etc.). Il identifie ainsi les grandeurs mesurées correspondant (masse, volume, température, ...), telles que les exigences métrologiques spécifiées (tolérance et plages d'utilisation selon recommandations fournisseurs, bibliographie disponible ou expérience documentée, performances techniques, ...) et les types de raccordement métrologique employés.

Le programme d'étalonnage est établi afin de permettre aux résultats d'être tractables par rapport aux unités du système international ou à une constante naturelle ou à une autre référence reconnue et de s'assurer ainsi de leur justesse. Il doit en particulier établir la périodicité des raccordements, en fonction d'une analyse bénéfice/risque, sachant que des contrôles intermédiaires sont mis en œuvre, si besoin.

II. PLAN D'ACTION

a. Objectif du projet

Au sein du laboratoire, les examens d'hémostase sont réalisés en techniques automatisés. Les réactifs utilisés font partis du marché d'achat négocié entre la centrale d'achat de l'AP-HP, l'AGEPS (sur avis du groupe de travail qui regroupe les biologistes experts en hémostase de l'AP-HP), et les industriels du diagnostic in vitro. La plupart des réactifs sont des méthodes « fournisseur » CE/IVD de type quantitatif, pour lesquelles seule une vérification est nécessaire. Par contre, il existe des méthodes dites adaptées et pour lesquelles il est nécessaire de réaliser une validation de méthode conformément à l'exigence de la norme.

L'objectif de ce projet est de réaliser la validation de méthode appliquée au dosage du fibrinogène afin de garantir la fiabilité des résultats rendus.

Intérêt du dosage de fibrinogène:

➤ Bio- pathologie

Le fibrinogène est une glycoprotéine de haut poids moléculaire, synthétisée par le foie, intervenant dans la thermogénèse et l'arthérogène.

Synonymes: Facteur I, fibrinogène fonctionnel et immunologique

-Protéine de la phase finale de la cascade de coagulation: Le fibrinogène est transformé par la thrombine en fibrine, principale protéine constitutive de caillot sanguin. La demi-vie est de 3 à 4 jours. La concentration plasmatique nécessaire à une hémostase normale est de 0.4/L à 0.5/L.

-Protéine de la phase aigue de l'inflammation

-participation à l'agrégation plaquettaire

-participation au développement de l'athérosclérose: Il favorise l'accumulation de LDL-cholestérol au niveau de la paroi vasculaire, et une fois transformé en fibrine, stimule la prolifération des fibroblastes et des cellules musculaires lisses

Indications du dosage:

Diagnostic d'un syndrome hémorragie

bilan étiologique d'une thrombose veineuse ou d'une dys-fibrinogénémie..

Bilan systématique ou préopératoire

Bilan inflammatoire, bilan des facteurs de risque cardiovasculaire.

b. Méthode du dosage

Mesure d'un temps de thrombine, dans les conditions particulières, par la technique chronométrique de Von Clauss: En présence d'un excès de thrombine et de concentrations faibles de fibrinogène, le temps de coagulation est proportionnel au fibrinogène « fonctionnel ». Le temps mesuré est transformé en g/L grâce à une droite d'étalonnage effectuée avec un plasma témoin dont la concentration en fibrinogène est connue. En cas de diminution ou augmentation du fibrinogène, il convient de modifier la dilution afin de rester dans la zone de linéarité du dosage.

Le dosage du fibrinogène est réalisé à l'aide du réactif Siemens Dade, réactif thrombine marqué CE sur l'automate Star de Stago. Le domaine d'application (cf. notice fabricant) de ce réactif est « la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma ». Comme indiqué au paragraphe « automate de coagulation » de cette même notice.

c. Etapes de réalisation du projet

La vérification de méthode est réalisée en suivant les étapes suivantes :

- Liste du matériel et réactifs utilisés, description des différentes étapes de la méthode, bibliographie existante
- Définition des critères de performance à valider et des limites acceptables, formalisation sous forme d'un plan d'expérience
- Réalisation des essais de vérification
- Exploitation des données
- Rédaction du rapport de vérification

Parallèlement à ces étapes, une analyse de risque est menée, afin de déterminer les risques potentiels pouvant influencer sur le résultat rendu et les moyens de maîtrises proposés.

Limites de l'étude:

Deux difficultés se posent pour la vérification de méthode des charges virales :

- Peu de données bibliographiques sur les performances de la méthode. Les limites acceptables ont été fixées à l'aide des performances revendiquées par le fournisseur et également en fonction de la pertinence clinique
- Le coût unitaire élevé pour la réalisation d'un test. Le plan expérimental a permis d'estimer la consommation en réactifs et d'optimiser l'organisation pour la réalisation des essais et limiter ainsi le nombre de tests.

III Matériels et méthodes

a. Principe du dosage

Mesure d'un temps de thrombine, dans les conditions particulières, par la technique chronométrique de Von Clauss. En présence d'un excès de thrombine et de concentrations faibles de fibrinogène, le temps de coagulation est proportionnel au fibrinogène « fonctionnel ». Le temps mesuré est transformé en g/L grâce à une droite d'étalonnage effectuée avec un plasma témoin dont la concentration en fibrinogène est connue. En cas de diminution ou augmentation du fibrinogène, il convient de modifier la dilution afin de rester dans la zone de linéarité du dosage.

b. Matériels et produits

➤ Réactifs utilisés

Le dosage du fibrinogène est réalisé à l'aide du réactif Siemens Dade, réactif thrombine marqué CE sur l'automate Star de Stago. Le domaine d'application (cf. notice fabricant) de ce réactif est « la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma ». Comme indiqué au paragraphe « automate de coagulation » de cette même notice.

Dade réactif thrombine peut être utilisé sur un grand nombre d'automates de coagulation, les protocoles d'adaptation sont envoyés par Siemens sur demande.

Il n'y a donc pas d'adaptation « maison » de la technique. La configuration du STAR est effectuée à l'aide d'un protocole proposé par Siemens.

➤ Contrôle qualité

CQI avec deux niveaux normal et pathologique (bas) : STA® Control N+P (Diagnostica Stago – ref).

EEQ (QUALIRS STAGO) à raison de deux passages mensuel, un rapport mensuel semestriel puis annuel est envoyé et revue dans la cellule qualité du site .

- Plasma humain standard (Cryopep).
- Automates :

Le laboratoire dispose de 3 automates de la ligne STA®, de la société Diagnostica Stago, les automates STA Compact® 6388 et les automates STA-R® 1588 et 1589.

c. Méthodologie

La méthodologie de travail est issu du mode opératoire du laboratoire rédigé en cohérence avec les documents officiels suivants :

- SH GTA 01 (Guide technique d'accréditation en biologie médicale .)
- SH GTA 04 (Guide technique d'accréditation de vérification / validation des méthodes en biologie médicale.)
- SH GTA 14 (Incertitude de mesure.)
- SH GTA 06 (Contrôles de qualité)
- Les recommandations GEHT, SFBC 5.6

Les critères de performances pour valider une méthode de portée B sont résumés dans le tableau suivant (conformément au SH GTA 04) et sont décrites dans le mode opératoire de validation d'une méthode quantitative de type B du laboratoire.

Paramètres à vérifier et /ou à connaître	Bibliographie	Vérification sur site Portée de type B
Spécificité analytique	Oui	Oui
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Oui	Oui
Justesse	Oui	Oui
Intervalle de mesure (limite de quantification et limite de linéarité)	Oui	Oui
Incertitudes/facteurs de variabilité et évaluation	Oui	Oui
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	Oui	Oui
Stabilité réactifs (après ouverture, embarqués)	Oui	Oui
Robustesse	Non	Si besoin
Interférences (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments)	Oui	Oui
Intervalle de référence « ex-valeurs normales »	Oui	Oui à établir
Comparaison avec une méthode de référence	Oui (si existe)	Oui (si possible)
Comparaison avec méthode déjà utilisée au LBM ou autre méthode du LBM (appareil en miroir, EBMD)	Oui (si existe)	Oui
Analyse des discordances	Oui	Oui

Tableau 2 : Critères de performances à étudier lors d'une validation de méthode en portée B

d. Critères de performance étudiés

La répétabilité

La répétabilité consiste à analyser un même échantillon « n » fois (statistiquement significatif) dans la même série et dans des conditions identiques (même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage) dans un délai le plus court possible. Cette évaluation de la répétabilité a été déterminée à partir des résultats des deux niveaux de contrôles qualité internes (normale et pathologique) et chaque niveau a été analysé 30 fois consécutivement sur chaque automate.

La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation sont calculés pour chaque niveau de contrôle et les résultats obtenus sont comparés aux CV annoncés par le fournisseur et/ou sociétés savantes.

L'exploration de résultats consiste à calculer : $CV(\%) = \frac{(s)}{(m)} \times 100$

Selon la notice du fournisseur, aucun CV limite n'est fourni pour les systèmes d'automate Stago dont dispose le laboratoire. Le CV obtenu sera alors comparé au référentiel RICOS qui fournit un CV limite à 5.4% pour chaque niveau.

La fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire ou reproductibilité intra-laboratoire consiste à analyser chaque niveau de contrôle dans différentes conditions (temps, opérateur, lots, étalonnages...). Les différents niveaux DE CQ ont été analysés deux fois par jour pendant 15 jours sur les trois automates.

La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation sont calculés pour chaque niveau de contrôle. Selon la notice du fournisseur, aucun CV limite de reproductibilité n'est fourni pour les systèmes d'automate Stago. Le CV calculé sera comparé aux Normes d'acceptabilité en Hémostase issu du groupe de travail d'août 2014 de la société savante du GEHT qui est fixé à 6.5% pour tout niveau.

La justesse

L'exactitude (justesse dans le cadre de CQI externalisés) permet de déterminer une erreur « systématique » en déterminant le biais entre la valeur mesurée (m) et la valeur « vraie ». Cette valeur vraie est estimée à l'aide de la valeur moyenne retrouvée par l'ensemble du groupe de pairs.

Au sein du laboratoire, nous ne disposons pas de CIQ inter laboratoire.

Exactitude

L'exactitude est établie à partir des résultats des EEQ en comparant la valeur trouvée (x) cible (moyenne de groupe de pairs) assimilée à la valeur vraie (v) de l'échantillon testé. L'écart observé quantifie l'inexactitude. L'inexactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'EEQ est élevé.

$$\text{Inexactitude(\%)} = \frac{(x-v)x100}{v}$$

Evaluation de l'incertitude de mesure d'après la méthode utilisant des CQI et EEQ ponctuels

Il faut disposer de plusieurs EEQ :

Ensemble des valeurs du laboratoire

Moyennes des pairs ou valeurs cibles pour chaque EEQ

Calcul des écarts (biais) pour chaque EEQ puis de l'écart type des écarts SE

résultat = racine carré ($u(\text{KEEQ})^2 + u(\text{méthode})^2$) avec $u(\text{KEEQ}) = \text{SE}$

Comparaison de méthode

Une étude de comparaison entre le STA-R®1588 (référence), et le STA-R®1589, et entre le STA-R®1588 (référence) et STA Compact® a été réalisée.

Pour comparer les résultats d'une méthode Y à tester avec ceux d'une méthode X de référence, on analyse 30 échantillons de patients couvrant l'étendue du domaine physiopathologique rencontré, selon les deux techniques à corrélérer (que ce soit des techniques manuelles ou automatisées).

Dans le cas où ce nombre d'échantillons ne peut être respecté (coût des analyses, durée des analyses...), le biologiste en charge de la validation/vérification de méthode doit argumenter ce choix sur des critères pertinents.

Pour chacun des couples retenus x_i (méthode X) et y_i (méthode Y)

. Calculer les différences $x_i - y_i$.

. Calculer les rapports $\frac{y_i}{x_i}$

. Le coefficient de corrélation (annexe abaque corrélation)

. Etudier les graphiques des différences, $(x_i - y_i)$

Les données pertinentes sont apportées sur la droite de régression $y = ax + b$ (la pente a égale ou proche de 1 et l'ordonnée à l'origine b égale ou proche de 0).

Etendue de mesure

- **Limite de détection:**

Selon le SH GTA 04, pour l'estimer, on peut 30 mesures répétées des blancs (matrice dépourvue de l'analyse à doser). On calcule l'écart type S_b puis on obtient la limite de détection en appliquant la formule suivante : Limite détection = $3 \times S_b$ (exprimé en concentration de ces 30 mesures).

Cette expérience ne peut être réalisée car le tampon utilisé comme blanc de la réaction ne contient pas de fibrinogène n'est donc pas coagulable.

- **Limite de quantification:**

Selon le SH GTA 04, la limite de quantification est évaluée à l'aide de dilutions d'un étalon ou de l'échantillon de Contrôle Interne de Qualité le plus bas (différent de 0) avec le diluant, selon le schéma : 100 + 0 ; 90 + 10 ;10 + 90 ; 0 + 100 soit 11 échantillons mesurés chacun 10 fois dans une série unique. On calcule, pour chaque série de mesures des différentes dilutions, l'écart-type (s), le Coefficient de Variation (CV) et l'écart de la moyenne (m) à la valeur théorique (réalisation d'un profil de « précision » ou profil de fidélité). A partir de la courbe des CV en fonction des concentrations (courbe d'Horwitz), est déterminée la concentration correspondant à un CV de 10 % et représentant la limite de quantification.

La limite de quantification peut être calculée selon la formule suivante : Limite de quantification = 10 x Sb

La limite de quantification est la plus petite valeur qui peut être fournie pour un échantillon de patient.

Cette technique est lourde, couteuse et utilise un seul niveau interne CQP (que faire des CQN restant dans le coffret.)

Un protocole interne est réalisé à partir du plasma normal commercialisé dont le taux de fibrinogène est à 2.8 g/l dilué dans du sérum physiologique.

Les dilutions sont effectuées de 1/2 au 1/32 jusqu'à avoir un résultat supérieur au temps maximum égal à 60 secondes (annexe configuration. Test Dade Thrombine Siemens)

Dilution	Concentration théorique g/l	Concentration mesurée g/l	Temps coagulation seconde
Pur	2.80		
1/2			
1/4			
1/8			
1/16			
1/32			>Temps max 60

- **La limite supérieure de linéarité**

Cette évaluation n'est pas utile car elle n'est pertinente cliniquement.

Intervalle de référence et valeurs de décision clinique

Le calcul peut se faire :

- . Après une période d'utilisation $n > 100$
- . À partir de patients exempts de pathologie
- . En écartant des valeurs aberrantes.
- . En écartant des valeurs $> m + 2s$ et $m - 2s$.
- . En recalculant la moyenne (moyenne tronquée) m_t et (l'écart type tronqué) s_t .

$$[m_t - 2s_t ; m_t + 2s_t] .$$

Le seuil décisionnel est de 0.8 à 1g/l.

Les interférences

La présence d'interférences de substances endogènes dans les liquides biologiques : hémoglobine, bilirubine triglycérides,.....) ou des substances exogènes (médicaments) peuvent conduire à des résultats erronés.

Ces interférences sont en fonction des examens et des méthodes de mesure.

-L'interférences à l'héparine non Fractionnée a été testée afin de vérifier les spécifications du fabricant, en surchargeant un plasma patient sans traitement d'héparine (anti-Xa < 0.2 UI/ml avec des solutions de concentrations croissantes .

- Ampoule d'héparine à 500UI/ml d'Héparine Choay (Sanofi).

- Eau physiologique

- Plasma d'un patient avec un taux de fibrinogène à (2.79g/l) et sans traitement d'hépariné (anti-Xa-HNF <0.2 UI/ml).

On réalise une gamme de concentration différente d'héparine (0 ; 0.25; 0.5 ; 0.75 et 1 UI/ml) diluée dans de l'eau physiologique qu'on mélange avec le plasma du patient.

Contamination inter-échantillons

A partir d'échantillons patients : prendre un échantillon à valeur élevée et l'analyser trois fois consécutivement (H1, H2, H3 de moyenne H) puis analyser un échantillon blanc passé également trois fois (B1, B2, B3).

Les séquences 'H1 H2 H3 B1 B2 B3) peuvent être répétés plusieurs fois (3 à 5 fois).afin d'établir la moyenne des B1 (m_{B1}) et la moyenne des B3 (m_{B3})

Compte tenu de l'importance clinique de certains résultats, le niveau de contamination doit être proche de 0.

$$\text{Contamination}(\%) = \frac{(m_{B1} - m_{B3})}{(m_H - m_{B3})} \times 10$$

Contamination inter-réactifs

Il n'est pas nécessaire de la réaliser car les automates STA sont configurés avec un lavage spécial: le Cleaneur (liquide rinçage Stago) fait 20 impulsions et une prise d'essai de Desorb U (diluant Stago) dont le volume est de 10% supérieur à la prise de réactif.

Stabilité

Dans le cadre d'une validation de méthode en portée B, le laboratoire doit vérifier la stabilité des réactifs indiqués par le fournisseur. Il est donc nécessaire d'analyser le réactif à intervalle régulier entre un temps T1 et trente-deux dates en fonction de la durée de conservation attendue.

Des limites de stabilité théoriques (Lst en %) est de $\pm 10\%$.

Ce test a été réalisé sur une période de 48 heures correspondant temps de consommation d'un flacon dans le laboratoire.

Robustesse

Dans le cas où certains paramètres (température, luminosité, pH, hygrométrie...) peuvent influencer sur la réalisation des analyses, le laboratoire doit les étudier et mettre en place les actions de maîtrise nécessaires.

Le dossier de validation de méthode pour le dosage du fibrinogène avec réalisation de la fiche de performance SH FORM 43 comprend :

- la description de la méthode
- les informations sur la mise en œuvre de la vérification/validation
- les éléments de maîtrise des risques
- les données d'évaluation des performances

Le dossier de vérification/validation initiale est réalisé avant mise en œuvre de la méthode en routine (peut être réalisé en collaboration avec le fournisseur), et conduit à l'élaboration d'une fiche de performance.

Une nouvelle vérification sur site est nécessaire en cas de :

- changement de référence de réactif
- modification de l'étalonnage
- intervention (jugé lourde par le fournisseur) sur l'instrument touchant un élément critique
- éventuellement mise à jour du logiciel touchant le mode de calcul ou la méthode de mesure

La gestion de ces modifications est décrite dans la procédure de gestion de la portée flexible.

Les dossiers de vérification/validation sont révisés de manière systématique, au minimum une fois tous les 2 ans.

Se référer au mode opératoire qui explique comment sont évalués les différents critères de performances exigés par la norme ISO15189 pour valider une méthode de dosage en portée B. Ce MO sera présenté aux biologistes pour compléter la procédure de vérification de méthode en portée A. Les documents support utilisés pour rédiger le MO :

- SH GTA 01 (Guide technique d'accréditation en biologie médicale.)
- SH GTA 04 (Guide technique d'accréditation de vérification / validation des méthodes en biologie médicale.)
- SH GTA 14 (Incertitude de mesure.)
- SH GTA 06 (Contrôles de qualité)

-Les recommandations GEHT, SFBC 5.6 .

Les critères de performance : la fidélité (répétabilité , reproductibilité) , la justesse , l'exactitude de mesure , l'incertitude de mesure , l'intervalle de mesure (la limite de linéarité) , la contamination inter échantillons , les interférences et la comparaison inter-machines .

Tous les critères ont été définis dans le mode opératoire .

Parmi le paramètre à vérifier on n'a pas étudié la limite de quantification puisque, on s'est référé à la notice de fournisseur.

Les limites d'acceptabilité choisies sont celles recommandés par le RICOS, GEHT et Le GRAAL version 01/10.

IV Résultats:

a. Evaluation de la répétabilité :

Les résultats, présentés dans le tableau 3, sont très satisfaisants pour les trois automates. Les coefficients de Variation (CV%) sont inférieurs à 4% pour le niveau normal et inférieurs à 2% pour le niveau normal pathologique. Ces résultats sont donc conformes par rapport aux CV fournisseurs et aux recommandations du Ricos.

Automates	Niveau concerné	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart type	CV (%)	CV (%) (fournisseur)	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. Ricos)
STA-R 1588	N	30	2.58	0.08	3.17	Normal : 5.9 Pathologique : 4.8	5.4
	P	30	1.8	0.02	1.41		5.4
STA-R 1589	N	30	2.79	0.07	2.45		5.4
	P	30	1.21	0.02	1.79		5.4
STA-C 8563	N	30	2.97	0.06	2.04		5.4
	P	30	1.28	0.02	1.28		5.4

Tableau 3 : Résultats de l'évaluation de la répétabilité

b. Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)

Les résultats obtenus lors de l'étude de reproductibilité sont résumés dans le tableau 4.

Automates	Niveau concerné	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart type	CV (%)	CV (%) (fournisseur)	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. GEHT)
STA-R 1588	N	730	2.79	0.16	5.71	NA	<6.5%
	P	730	1.22	0.08	6.18		
STA-R 1589	N	730	2.79	0.13	4.62		<6.5%
	P	730	1.20	0.05	3.86		
STA-C 8563	N	93	3.03	0.14	5.9		<6.5%
	P	93	1.28	0.05	4.8		

Tableau 4 : Résultats de l'évaluation de la reproductibilité

L'ensemble des résultats est conforme au CV communiqué par le GEHT. La méthode est reproductible sur chacun des automates.

c. L'exactitude :

L'exactitude a été évaluée à partir des résultats de l'EEQ de l'année 2014.

Automates	Niveau concerné	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%)/groupe de pairs	Biais (%)/toutes techniques	Biais (%) Limite (GEHT 2014)
STA-R 1588	Niveau 1	2.83	2.76	2.66	7.9	6.1	11.4
	Niveau 2	2.55	2.41	2.32	5.8	9.9	11.4
	Niveau 3	1.18	1.13	1.08	4.4	9.8	31.2
	Niveau 4	1.44	1.43	1.35	6.7	7.4	31.2
STA-R 1589	Niveau 1	2.89	2.76	2.66	4.7	5.1	11.4
	Niveau 2	2.45	2.41	2.32	1.7	1.9	11.4
	Niveau 3	1.14	1.13	1.08	3.5	5.9	31.2
	Niveau 4	1.44	1.43	1.35	2.1	2.4	31.2
STA-C 8563	Niveau 1	2.90	/	2.66	/	8.3	11.4
	Niveau 2	2.52	/	2.32	/	5.6	11.4
	Niveau 3	1.16	/	1.08	/	7.9	31.2
	Niveau 4	1.39	/	1.35	/	2.9	31.2

Tableau 5 : Résultats de l'étude d'exactitude

L'ensemble des résultats est conforme au biais limite fixé par les critères d'acceptabilité GEHT 2014. On notera que le groupe de pairs pour les STA compact 8563 est insuffisant ($n < 12$), le biais est calculé par rapport à la valeur cible de toute technique confondue. Les résultats sont conformes en particulier pour les valeurs basses proches du seuil décisionnel.

d. L'incertitude de mesure :

L'incertitude de mesure est estimée à partir des données de reproductibilité des contrôles internes de qualité et des résultats du programme annuel Qualiris 2014 (EEQ). Elle est calculée selon la méthode « CIQ + EEQ », avec la formule suivante « $U(c)=\sqrt{V u^2(CIQ)+u^2(EEQ)}$ », décrite dans le guide SH-GTA-14 du COFRAC. Les résultats sont résumés dans le tableau 6.

Automates	Niveau concerné	Incertitudes calculées	Exigence de performances RICOS 12/01/2011
STA-R 1588	N	0.38 g/l	5.4
	P	0.17 g/l	5.4
STA-R 1589	N	0.37 g/l	5.4
	P	0.17 g/l	5.4
STA-C 8563	N	0.41 g/l	5.4
	P	0.15 g/l	5.4

Tableau 6 : Estimation de l'incertitude de mesure d'après la méthode « CIQ + EEQ »

L'incertitude estimée pour chaque niveau est inférieure à 0.5 g/l et est inférieure aux exigences de performance données par le RICOS.

e. Comparaison de méthodes :

Elle est effectuée en comparant l'automate de référence, STA-R 1588, avec le STA-R 1589 ou le STA-C 6388. La validation des résultats obtenus se fait selon l'abaque du fournisseur (cf. annexes : Fichier Stago corrélation). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 7.

Lors de l'étude de comparaison des automates STA-R 1588 versus 1589, la corrélation est très satisfaisante avec un coefficient de corrélation de 0,996, une pente proche de 1 et une ordonnée à l'origine égale à 0,13 g/L.

Lors de l'étude de comparaison des automates STA-R 1588 versus 8563, la corrélation est très satisfaisante avec un coefficient de corrélation de 0,996, une pente proche de 1 et une ordonnée à l'origine égale à 0,07 g/L.

Appareil en miroir	Nombre de mesure	Intervalle de comparaison à l'étendue des mesures du laboratoire	Equation de la droite de régression	Diagramme des différences
STA-R 1588 vs 1589	30	0.30 – 15 g/l	$Y = 1.04x + 0.13$	
STA-R 1588 vs 8563	30	0.30 – 15 g/l	$Y = 1.02x + 0.07$	

Les résultats obtenus permettent une exploitation directe des résultats sans appliquer de facteurs de correction.

f. Les interférences :

Le dosage du fibrinogène est effectué par une méthode chromométrique qui n'interfère pas avec l'hémolyse.

Le fournisseur indique deux interférences possibles :

- l'héparine avec un taux supérieur à 0.6 UI/ml.
- une forte dose de produit de dégradation de la fibrine (D-Dimères).

➤ Evaluation de l'interférence avec l'héparine

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

Concentration d'héparine finale (UI/ml)	Activité Anti-Xa HNF (UI/ml) mesuré dans le plasma après mélange	Taux de fibrinogène en g/l plasmatique après mélange
1	1.17	2.79
0.75	0.87	2.77
0.5	0.61	2.77
0.25	0.34	2.71
0	0	2.80

Tableau 8 : Résultats de l'évaluation de l'interférence avec l'héparine

Absence d'interférence à l'héparine à doses élevée.

➤ Evaluation de l'interférence avec les D-dimères.

Ce travail est en cours de réalisation au sein du laboratoire.

g. La contamination inter-échantillon

Les résultats de la contamination inter-échantillons sont détaillés dans le tableau suivant :

	Contamination
STA-R 1588	0.49%
STA-R 1589	0,49%
STA-C 8563	-0.88%

La contamination inter échantillons réalisée sur les trois automates montre des résultats très proches de 0 ce qui nous amène à conclure à une absence de contamination entre des échantillons à taux élevé en fibrinogène et des échantillons à taux bas proche du seuil décisionnel.

h. Limite de quantification

En première intention, le dosage est réalisé, par défaut, sur du plasma dilué au 1/20e et permet le rendu direct de résultat entre 1.6 et 8 g/l (cf. annexe « notice fournisseur »). Les critères de dilution automatique sont une dilution au ¼ si le taux de fibrinogène est inférieur à 1.6 g/l et une dilution au 1/40e si le taux de fibrinogène est supérieur à 8 g/l.

Calcul de la limite inférieure de quantification :

Dilution	Concentration théorique (g/l)	Concentration mesurée (g/l)	Temps coagulation (sec)
Pur	2.80	3	16.7
1/2	1.40	1.44	6.7
1/4	0.70	0.75	13.3
1/8	0.35	0.39	26.2
1/16	0.13	0.18	59.4
1/32	-	-	> temps maximum

La limite de quantification de la méthode est inférieure à 0.20 g/l.

i. Intervalle de référence

L'hémostase pédiatrique est un système dynamique, profondément influencé par l'âge gestationnel et post-natal. Chez le nouveau-né, le nourrisson et l'enfant, ce système a son équilibre propre qui protège l'enfant de toute manifestation hémorragique ou thrombotique. Une approche est envisagée par les biologistes experts en hémostase des différents hôpitaux pédiatrique de l'AP-HP pour établir ses propres valeurs de référence. En attendant, l'intervalle de référence suivi est celui de la publication de **Monagle P. Thromb Hemost, 2006; 95:362-72.**

Prématuré:

Age	19s- 23s	24s – 29s	30s – 38s
Taux (g/l)	0.85 (0.57 -1.5)	1.12 (0.65 -1.65)	1.35 (1.25 – 1.65)

Nouveau-né à l'âge adulte (16 ans):

Age	0 - 30j	30 - 90j	90j -180j	180j - 1 an	1 - 2ans	2 – 16 ans
Taux (g/l)	1.9 - 4	1.6 - 4	1.5 - 4	1.5 - 4	1.6 - 4	1.5 – 4

j. Stabilité du réactif :

Le réactif, non ouvert, est conservé au frais entre 2 et 8°C. Après reconstitution du flacon, sa stabilité est de 5 jours entre 15 et 19°C.

En pratique, un flacon du Thrombine-Dade reconstitué (volume de 6 ml) dure 48 heures ainsi les tests effectués sur un même flacon ont été réalisés sur une période de 48h et à différentes heures (H0, H8, H16, H32, H48).

Heure	Pool (g/l)	Normal	CN (g/l)	CP (g/l)
H0 (0)	2.88		2.88	1.35
H8 (8h)	2.83		2.83	1.23
H16 (24h)	2.80		2.80	1.19
H32 (32h)	2.83		2.99	1.23
H48 (48h)	2.80		2.83	1.20

- **Analyse de risques**

Parallèlement à la validation de méthodes, une analyse de risque a été menée avec les techniciens et biologistes afin de déterminer les points critiques et les moyens de maîtrise proposés.

L'analyse de risque décrite ci-dessous est issue de l'AMDEC réalisé par la technicienne référente du laboratoire d'hémostase pour son mémoire du diplôme d'assurance qualité de Paris 6, travail effectué en parallèle du mien.

- **Analyse des risques par la méthode des 5M (diagramme d'Ischikawa)**

L'analyse des risques par la méthode des 5M est un diagramme de cause à effet. Cette méthode permet de recenser de manière exhaustive les causes et les effets de dysfonctionnements pouvant survenir pendant un processus. Ici elle est décrite en 5 aspects différents : la matière, le matériel, le milieu, la main d'œuvre et la méthode.

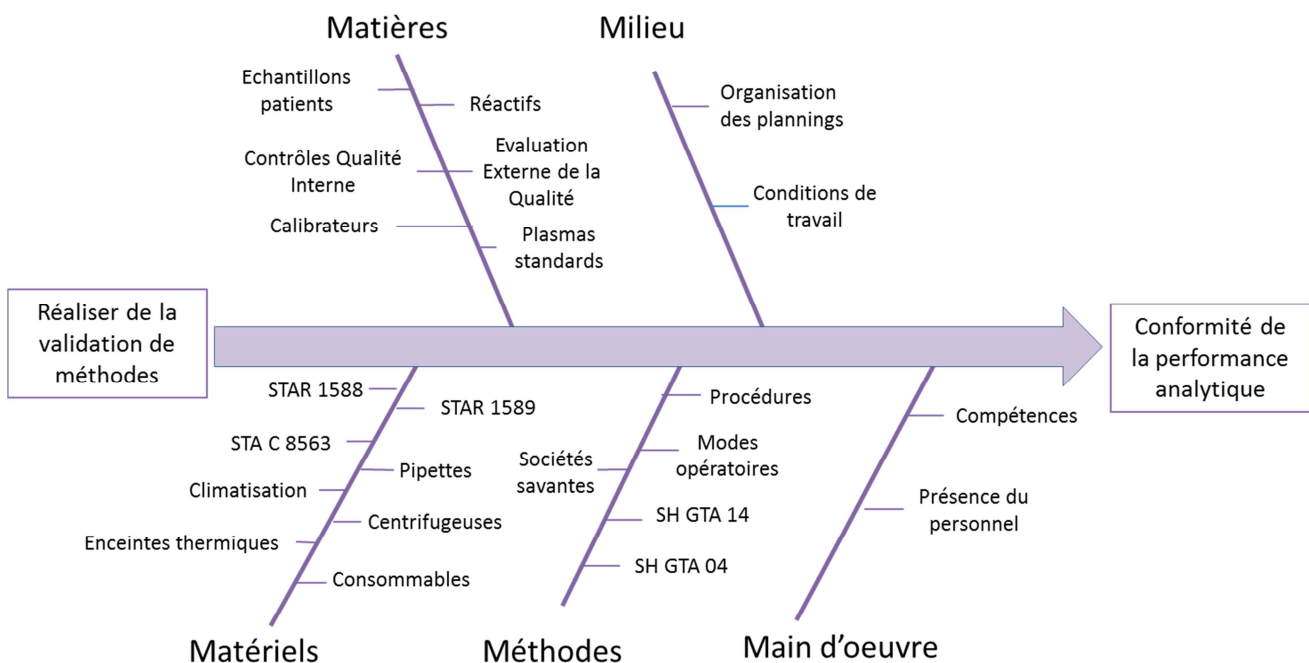


Diagramme d'Ischikawa

Un état des lieux des moyens de prévention et de maîtrise existants a été effectué pour chacun des risques répertoriés dans l'étude des 5M.

- **Etude de la criticité initiale par l'AMDEC**

Grille de cotation

Une grille de cotation en prenant en compte les trois critères AMDEC : Gravité (G), Détectabilité (D) et Fréquence (F) a été analysée. Il a été décidé de choisir une grille à trois niveaux comme dans l'exemple présenté dans le document COFRAC SH GTA 06.

La cotation a été réalisée en tenant compte des moyens de maîtrise existants.

	Capacité de Détection (D)	Gravité (G)	Occurrence (O)
1	pas d'incidence	Pas d'impact patient	0 à 3 fois/an
2	incidence probable	Impact sur le délai ou organisation	1 à 4 fois/mois
3	incidence certaine	Impact sur le résultat rendu	> 1 fois/mois

Gravité : on parle d'incidence quand le dysfonctionnement remet en cause la fiabilité du résultat ou en retarde le rendu.

Fréquence : elle a été évaluée a posteriori et a priori.

L'indice de criticité (C) a ensuite été calculé de la façon suivante : $C = G \times D \times F$

▪ **Matrice de décision**

Sachant que l'indice de criticité calculé peut être compris entre 1 et 27 , il a fallu donc définir les seuils à partir desquels une action est à mettre en place.

Les risques ont été classés en 3 catégories :

- indice de criticité inférieur ou égale à 5 : le risque est considéré comme faible. Il faut vérifier annuellement l'évolution de la criticité.
- indice de criticité compris entre 6 et 9 : le risque est considéré comme moyen et une action est à déclencher. L'évolution de la criticité est à vérifier trimestriellement.
- indice de criticité supérieur ou égal à 10 : le risque est considéré comme fort et l'action est vérifiée à un niveau hebdomadaire. De plus, elle sera rapportée en réunion de service et/ou en Cellule Qualité.

Réalisation des actions d'amélioration :

Pour tous les risques dont la criticité est supérieure à 6, une action a été prévue soit par la mise en place de moyens de maîtrise, soit par l'amélioration des moyens existants.

Tableau récapitulatif des principales modalités de maîtrise des risques:

MAITRISE DES RISQUES
 (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)

5M	Points critiques		Echelle de criticité	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière	Echantillons	Respect du volume de prélèvement	Faible	Volume, aspect, renseignements cliniques	MO préanalytique en hémostase
	Réactifs/ Contrôles/ Consommables	Gestion des stocks	Moyenne	Rupture de stock des produits Péréemption des Lot des produits	Gestion des lots dans un classeur Vérification régulière par les référents du stock en chambre froide
		Gestion des commandes	Faible	Erreur de commandes	Vérification des produits à la réception avec confrontation aux feuilles de commandes Procédure de commande en urgence
		Disponibilité fournisseur	Faible	Commande non réceptionnée Perte de produits	Mise en place Stock minimum
		Conditions de transport	Moyenne	Intégrité des réactifs	Fiche de stress des réactifs fourni par le fournisseur
		Conditions de livraison	Moyenne	Contrôle incomplet à la réception	PO de gestions des commandes
		Milieu	Réseau électrique	Continuité permanente	Faible
Température	Respect des températures des automates, des réactifs, et des consommables	Faible	Température liée à chaque spécificité des produits	Climatisation Gestion des températures informatisées (Siruis) Formation du personnel PO en cas d'alarme de température	
Conditions de travail	Bruit/ Espace/	Moyenne	Hygiène et sécurité	Respect du règlement de travail (port de gants, lunettes...)	
Matériel	Centrifugeuses Enceintes thermiques Pipettes	Fonctionnalité	Faible	Métrologie	Maintenance périodique Vérification métrologique par prestataires externes (biomédicale, Cofrac, pôle du GH)
	Automates	Maintenance	Faible	Réalisation des maintenances	Formation/ habilitation du personnel Suivi des maintenances dans un agenda et sur le tableau des tâches hebdo Procédure dégradée en cas de panne
	Climatisation	Fonctionnalité	Faible	Climatiseur adapté à la surface des pièces	Climatiseur mobile à disposition Ventilateur
	Onduleur	Panne	Faible	Non applicable	Aucun
	Informatique	Panne SGL	Faible	Qualification de l'intégrité du SGL	MO Requalification après panne informatique
		Panne réseau		Non applicable	Hotline informatique
	Méthode	Procédures et modes opératoires	Centrifugation	Moyenne	Respect des vitesses de centrifugation
Evolution des techniques	Version à jour	Faible	Gestion documentaire	Attestation dans Kalilab	
Vérification/ Validation des méthodes	Performance de la méthode	Moyenne	Réalisation des tests de performance	Procédure portée A ou B Formulaire SH Form43 v2012 Habilitation du PM et PNM	
Main d'œuvre	Compétence	Tâches des postes de travail	Faible	Planning de présence à jour Définition des postes	Fiches de postes à jour Planning prévisionnel affiché et tenu par le cadre
Formation/ Habilitation		Formation du personnel		Formation continue Habilitation du personnel	

		Maintien des compétences		Matrice des compétences à jour	Critères de maintien
	Présence du personnel	Sous-effectif	Faible	Service minimum dans les plannings	Etablissement des critères de présence minimum du PM et PNM

Aucun risque majeur n'a été identifié, cependant une attention doit être apportée dans le contrôle du programme utilisé des centrifugeuses.

• DISCUSSION ET CONCLUSION

Le dosage de fibrinogène est réalisé à l'aide du réactif Siemens Dade thrombine marqué CE, sur les automates STA de Stago..en utilisant la méthode de Clauss (Clauss , Acta Haematol 1957 ;17 : 237-46) qui est la méthode de référence utilisée depuis 1957 pour évaluer le fibrinogène coagulant. Le domaine d'application (cf :notice fabricant) de ce réactif est « la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma ». Comme indiqué au paragraphe « automates de coagulation » de cette même notice. ,Dada réactif thrombine peut être utilisé sur un grand nombre d'automates de coagulation .le protocole de configuration du test adapté sur l'automate est envoyé par Siemens sur demande . Il n'y a donc pas d'adaptation maison de la technique.

A noter que Siemens Dade thrombine est le seul réactif dédié au dosage du fibrinogène disponible au marché AP-HP depuis 2011, ce réactif ayant été choisi en 2010 après analyse de dossiers sur avis du groupe de travail AGEPS qui regroupe les biologistes experts en hémostase.de l'AP-HP.

La mise en œuvre dans le laboratoire est depuis avril 2011(suite au changement du marché AP-HP.)

Le dosage du fibrinogène sur les deux STA-R et le STA –compact présente de bonnes performances.

La précision est très satisfaisante : les CV % obtenus par l'étude de la répétabilité sont inférieurs à 5 pour des valeurs normales et 4.8 pour les valeurs basses inférieures à 1.5 g/l ; valeurs proches du seuil décisionnel 0.8 g/l

Les CV% obtenus pour la reproductibilité comparés à celles recommandées par GETH 2014 sont conformes pour les valeurs normales comprises entre 2-4 g/l les valeurs basses inférieures à 1.5 g/l (valeurs proches du seuil décisionnel.)

Pour la justesse et l'incertitude de mesure sont conformes aux valeurs recommandées selon les normes RICOS.

Les rapports d'analyse des EEQ Qualiris Stago sont consultables au laboratoire et font objet d'exploration mensuel. Sur le récapitulatif annuel. On observe un score < 2.5 sur les trois automates sur le rapport annuel 2014 ainsi le seuil de 2.5 n'est jamais dépassé (Annexe rapport annuel EEQ)

Les automates STA compact sont de moins en moins utilisés notamment de garde , ce qui explique le biais calculé par rapport à toute technique confondue et non pas par rapport au groupe de pair qui correspond à n égal à 12 .

Aucune contamination inter-échantillons n'a été détectée, sur les trois automates étudiés (les valeurs testés sont proches de 0).

Les causes d'interférences sont peu nombreuses et connues : Le fournisseur précise deux types interférences endogènes

héparines (l'héparine testée est non fractionnée HNF car les héparines de bas poids moléculaire HBPM ont moins de réaction croisée et d'interférence que les HNF.) , nous avons recherchés le degré d'interférence avec des taux élevés anti-Xa > 0.6UI/ml et aucune interférence est relevée dans la gamme de concentration

L'interférence aux produits de dégradation de fibrine DDimères à taux élevé est en cours de réalisation, le protocole a été réalisé avec l'ingénieur d'application de Diagnostic Stago et collaboration avec l'ingénieur de biologie de TENON car le fournisseur Siemens n'avait pas de protocole détaillé sur la notice fournisseur aucune bibliographie à ce jour.

L'étude de comparaison entre les deux STA-R et entre le STA –R référent et STA –Compact ont montré une bonne corrélation.

L'intervalle de mesure ont été effectuées par dilution de l'étalon (Unicalibrateur Stago) et sont réalisées comme préconise le fournisseur Toutes les valeurs inférieures au seuil de détection 0.30 g/l sont rendues inférieures à <0.2 g/l et les valeurs supérieures au seuil de détection 15 g/l sont rendues > 12 g/l.

En théorie, un laboratoire de biologie médicale doit établir ses propres valeurs de référence selon ses propres méthodologie .En pédiatrie, les difficultés à avoir des cohortes en nombre suffisant font que le plus souvent ces valeurs de référence sont tirés de la littérature, ainsi nos valeurs de référence se réfèrent à P.MONAGLE 2006. En perspective, deux approches sont envisagées par les biologistes experts au GETH en hématologie pédiatrique.

La stabilité de réactif Dade Thrombie Siemens testée sur une période de quarante-huit heures : (temps maximum d'utilisation du flacon) est satisfaisante.

Cette étude a permis de montrer que les performances analytiques du réactif Siemens Dade Thrombine sont satisfaisantes notamment pour les valeurs proches du seuil décisionnel 0.8g/l utilisé en urgence dans les CIVD et les dys-fibrinogénémie hémorragiques ou thrombotiques. Cependant l'analyse des points critiques sur la méthode en portée B adaptée par fournisseur Siemens en absence de marquage CE, nous permet pas d'attester la spécificité de la méthode. les centrifugeuses, les températures des différentes enceintes et des automates ainsi que les performances du système informatique « Intégrité de transfert des données » conditionnent le bon fonctionnement du processus analytique, réalisé par une main d'œuvre habilitée.

La réalisation du protocole et de certains essais a nécessité la collaboration et l'aide de l'ingénieur de biologie du service d'hématologie du site TENON et l'ingénieur d'application de Stago.,la responsable assurance qualité du site a vérifié le formulaire rempli SH FORM43. Les techniciens référents ont exécutés les différents essais : La qualité est un travail d'équipe.

• **BIBLIOGRAPHIE**

- 1 Bioforma biologie** médicale N°20 hémostasie et thrombose 2000. .
- 2 Clauss, Act Haematol** 1957 ; 17 : 237-46
- 3 CLSI EP15 –A3** User verification of performance for Precision and Trueness ; Approved Guideline Third Edition ,2014
- 4 CLCI** procedure of the determination of fibrinogen in plasmas . approved guideline deuxième édition.
- 5** Current databases on biological variations : **Ricos C et al , Scand J Clin Lab Invest 1999 , 59 , 491-50. Updated in 2014 (www.westgard.com).**
- 6** Document **Cofrac SH REF 02** : Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des LBM
- 7** Document **Cofrac SH REF 05** : Règlements d'accréditation.
- 8** Document **Cofrac SH GTA 06** : Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en biologie médicale.
- 9** Document **Cofrac SH GTA 04** : Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / Validation (portée B) des méthodes en biologie médicale.
- 10** Evaluation de l'automate d'hémostase STA-R en pratique hospitalière. Spectra biologie, 1999, Vol 18 n°102 / **Abecassis.L , Sonit T ,Le Bihan- Augereau F .**
- 11** Fiche fournisseur réactif Dade Trombine Siemens : n° B4233 E0501 (682).
- 12** Guide d'aide à l'accréditation des laboratoires (**GRAAL.**) – Critères de fidélité / précision limits version1 janvier 2010.
- 13** Normes d'acceptabilité en hémostase .**GETH Août 2014.**
- 14** Recommandations 2007 : prélèvements destinés aux tests d'hémostase. **GEHT.**
- 15** Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F). **Giroud C,Dumontel M , Vassault A , Braconnier F , Féraud G Ann Bio Clin 2007, 85 : 185-200.**
- 17** Analyses de biologie médicale : spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques. **A. Vassault, D. Grafmeyer, J. DE Graeve , R.Cohen , A. Beaudonnet, J.Bienveu Ann Bio Clin 1999, 57 : 685-95**
- 18 SFBC** « Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale ». **Ann Bio Clin 2010; 68.**

• ANNEXES

ANNEXE I : Cartographie processus analytique

ANNEXE II : Configuration Test fibrinogène Dade Thrombine Siemens

ANNEXE III : Fiche notice réactif Dade Trombine Siemens

ANNEXE IV : Critères d'acceptabilité GETH 2014

ANNEXE V : Rapport annuel des EEQ

ANNEXE VI : Abaque de corrélation (GRAAL)

ANNEXE VII : Corrélation des automates

ANNEXE VIII : Test de fidélité

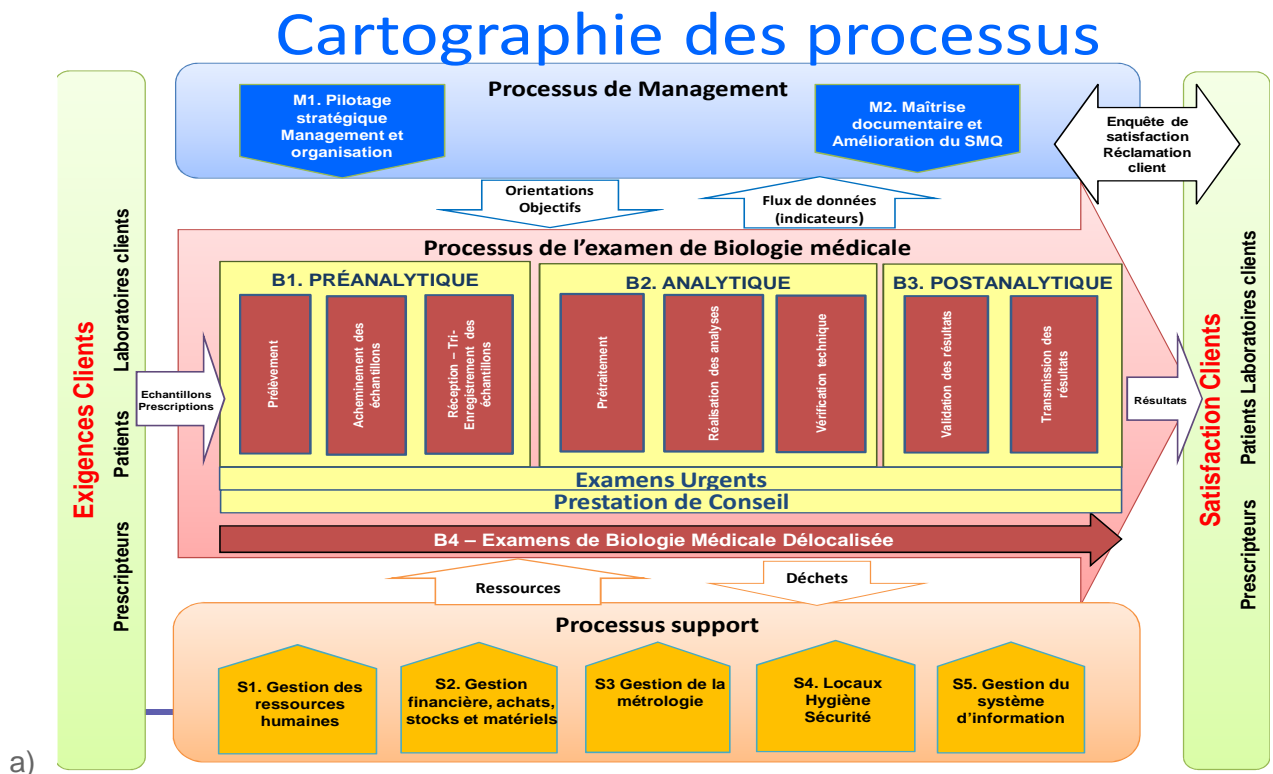
ANNEXE IX : Contamination

ANNEXE X : Mode opératoire : Performances à évaluer dans la méthode quantitative potée B

ANNEXE XI : SH FORM 43

ANNEXE I

Cartographie processus analytique



ANNEXE II

24/04/2015. 15

SPOKE
STA-R n°1588

Configuration de Test

FIBD **Fibrinogène DADE**

Méthodologie

Méthode Chronométrie
Mise à jour 22/04/2011 12:17:10

Echantillon

Volume (µl) : 100
Incubation (sec.) : 240
Dilution : 1/20

Diluant

Identité : 11361
Nom : OWREN-KOLLER
Stabilité (heures) : 72
Vol. flacon (ml) : 15
Vol. Min. flacon (ml) : 0.9

Réactifs

Rd :

Identité : FIBD
Nom : FIBRINOGEN DADE
Volume (µl) : 50
Chauffage : Non
Agitation : Non
Stabilité (heures) : 12
Vol. flacon (ml) : 5
Vol. Min. flacon (ml) : 0.7

Lavage

Avant : Non
Après : Spéc.

Produit

Identité : 12227
Nom : STA-DESORB U
Stabilité (heures) : 120
Vol. flacon (ml) : 15
Vol. Min. flacon (ml) : 0.9

Résultat

Analyse

T Min. (sec.) : 4
T Max. (sec.) : 60
T Moy. (sec.) : 20
Caillot : FAIBLE

Résultat

Unité : g/l
Fact. Correct. : 1.000
Détermination :
SIMPLE
Ecart / Moy. Max. 5.0
Redilution :
1/4 < 1.6
1/40 > 8.0

Acceptation

Min. : 0.20
Max. : 12.00

Calibration

Mode : Linéaire
Code-barrée : Non
Détermination : DOUBLE
Echelle mesure : LOG.
Echelle concentr. : LOG.

Etalons

1 :

Identité : 12350
Nom : STA-UNICALIB.
Dilution : 1/8
Clé : 3
Stabilité (heures) : 4
Vol. flacon (ml) : 1
Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

2 :

Identité : 12350
Nom : STA-UNICALIB.
Dilution : 1/15
Clé : 3
Stabilité (heures) : 4
Vol. flacon (ml) : 1
Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

3 :

Identité : 12350
Nom : STA-UNICALIB.
Dilution : 1/20
Clé : 3
Stabilité (heures) : 4

SPOKE

STA-R n°1588

Configuration de Test

FIBD

Fibrinogène DADE

Vol. flacon (ml) : 1

Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

4 :

Identité : 12350

Nom : STA-UNICALIB.

Dilution : 1/30

Clé : 3

Stabilité (heures) : 4

Vol. flacon (ml) : 1

Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

5 :

Identité : 12350

Nom : STA-UNICALIB.

Dilution : 1/40

Clé : 3

Stabilité (heures) : 4

Vol. flacon (ml) : 1

Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

6 :

7 :

8 :

Edition / Transmission

Unités

Principale

Unité : g/l

Edition : Oui

Rang transmission : 9

Valeur usuelle Min. : 1.8

Valeur usuelle Max. : 3.5

Auxiliaire 1

Unité : Sec.

Facteur Conv. :

Edition : Oui

Rang transmission :

Valeur usuelle Min. :

Valeur usuelle Max. :

Auxiliaire 2

Auxiliaire 3

Limites d'édition

Min. : 0.3

Max. : 15

Contrôle qualité

Niveau 1

Identité : 12354

Nom : STA-SYST CONT N

Clé : 4

Stabilité (heures) : 8

Vol. flacon (ml) : 1

Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

Niveau 2

Identité : 12355

Nom : STA-SYST CONT P

Clé : 4

Stabilité (heures) : 8

Vol. flacon (ml) : 1

Vol. Min. flacon (ml) : 0.5

Période

Temps (heures) : 24

ANNEXE III

Dade® Réactifs pour le dosage du Fibrinogène

Domaine d'utilisation

Pour la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma humain.

Intérêt diagnostique

Un taux diminué de fibrinogène est observé dans les cas suivants :

a) hypo ou afibrinogénémie acquise

Les états de déficits acquis en fibrinogène apparaissent surtout suite à une protéolyse intravasculaire du fibrinogène due à la thrombine (en cas de coagulopathie de consommation, par ex. au moment de l'accouchement ou après une intervention chirurgicale), à un venin de serpent ou à la plasminine (hyperfibrinolyse primaire suite à un traitement à la streptokinase, à l'urokinase ou aux tPA). Par ailleurs, des hypofibrinogénémies modérées peuvent également apparaître en cas de production diminuée de fibrinogène (dans les maladies hépatiques aiguës ou chroniques), en cas de perte de volume intravasculaire (par ex. en cas d'ascite, d'hémorragie aiguë ou encore de brûlure), ainsi qu'en cas d'une augmentation de sa dégradation (en cas de choc ou de cancer).

b) hypo ou afibrinogénémie congénitale.

Des valeurs de fibrinogène augmentées de façon passagère sont observées suite au comportement du fibrinogène en tant que « protéine de la phase aiguë » :

a) hyperfibrinogénémie passagère apparaissant après une opération, un traumatisme, un infarctus du myocarde ou une infection¹ ;
b) hyperfibrinogénémie plus longue observée dans les néoplasies ou les maladies inflammatoires chroniques.

Le taux de fibrinogène augmente faiblement avec l'âge.

Un taux de fibrinogène augmenté constitue un facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires².

Principe de la méthode

Le fibrinogène est une protéine plasmatique, présente sous forme soluble, qui se transforme en polymère insoluble sous l'action de la thrombine. Il se forme alors un caillot de fibrine. Le temps de coagulation de la thrombine ou plasma dilué est inversement proportionnel à la concentration de fibrinogène du plasma^{3,4}. Sur la base de ce principe, Claus⁵ a mis au point une méthode quantitative simple de dosage du fibrinogène, qui mesure le temps de coagulation d'un plasma dilué avec ou sans ajout de la thrombine en excès. Le temps de coagulation ainsi obtenu est ensuite comparé à celui d'une préparation de fibrinogène standardisée.

Réactifs

Conditionnement

Coffret Dade® Réactifs pour le dosage du Fibrinogène, code B4233-15SY, contenant :

6 x pour 1 ml de Dade® Réactif Thrombine

1 x pour 1 ml de Dade® Standard Fibrinogène

3 x 15 ml de Dade® Tampon véronal d'Owren

Composition

Réactif Thrombine : préparation de thrombine bovine lyophilisée (contenant environ 100 unités NI(Hm)), additionnée de stabilisateurs et de tampons.

Standard Fibrinogène : plasma citraté (humain) additionné de solution tampon Hépés (12 g/l) lyophilisé, stabilisé puis lyophilisé. Son taux de fibrinogène est contrôlé par une méthode de dosage de la capacité coagulante de la protéine. La concentration du standard est indiquée sur l'étiquette du flacon.

Tampon véronal d'Owren : 2,84 x 10⁻² M d'acide diéthylbarbiturique sel de sodium dans 1,25 x 10⁻¹ M de solution de chlorure de sodium, pH 7,35 ± 0,1.

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Réservé à un usage de diagnostic in vitro

2. Le Standard Fibrinogène contient une préparation d'origine humaine, et doit être considéré comme potentiellement infectieux. Tout don de sang individuel prévu pour la préparation des Dade® Réactifs pour le dosage du Fibrinogène a été testé vis-à-vis de l'anticorps AghBS, de l'anticorps anti-VHC, de l'anticorps anti-VIH1 et de l'anticorps anti-VIH2. Seuls les dons trouvés négatifs ont été utilisés.

Néanmoins, toutes les préparations obtenues à partir de sang humain doivent être manipulées avec les précautions nécessaires en cas de risque biologique, dans la mesure où l'on ne peut exclure totalement un risque d'infection¹.

3. Le Tampon véronal d'Owren ne doit pas être administré en usage interne ni externe, chez l'homme ni chez les animaux. Éviter la contamination de la préparation lors de pipetages multiples. En cas de contamination visuelle à l'œil nu, ne pas utiliser la solution.

Préparation des réactifs

Reconstituer le Réactif Thrombine avec 1,0 ml d'eau distillée ou déionisée. Puis refermer le flacon et le laisser reposer jusqu'à dissolution complète du lyophilisat. Imprimer avec précaution un mouvement de rotation au flacon pour aider à l'homogénéisation de la solution. Ne pas agiter. Homogénéiser de nouveau avec précaution avant emploi.

Remarque : ne pas utiliser d'eau contenant un conservateur.

Pendant toute la durée d'utilisation du Réactif Thrombine ainsi que pendant sa conservation, le laisser dans son flacon d'origine.

Signes de détérioration : absence de vide à la première ouverture du flacon, ou impossibilité d'obtenir des valeurs reproductibles.

Reconstituer le Standard Fibrinogène avec 1,0 ml d'eau distillée ou déionisée, et l'homogénéiser en l'agitant avec précaution (éviter la formation de mousse). Le laisser reposer au moins 15 min à +15/+25 °C. Ne pas l'agiter. L'homogénéiser de nouveau avec précaution avant emploi.

Le Tampon véronal d'Owren est prêt à l'emploi.

Stabilités après ouvertures :

Conservés à +2/+8 °C avant ouverture des flacons, les Réactifs pour le dosage du Fibrinogène peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Stabilités après ouvertures :

Température	Réactif Thrombine	Standard Fibrinogène	Tampon véronal d'Owren
+15/+25 °C	8h*	4h*	-
+2/+8 °C	5 jours*	-	8 semaines (après première ouverture du flacon)

* dans flacon fermé

Chaque automate de coagulation a des données de stabilités spécifiques.

Autres réactifs et matériel nécessaires

Solution de citrate de sodium pour prélèvements sanguins pour tests de la coagulation

Plasma de contrôle N, code ORKE

Plasma de contrôle P, code OUPZ

Ci-Tro® Niveau 1, code 291070**, B4244-10

Dade® Data-FP Plasma de contrôle Fibrinogène anormal, code B4233-22

Automate de coagulation (cf. paragraphe « Limites du test »)

** non disponible aux USA.

Automates de coagulation

Les Réactifs pour le dosage du Fibrinogène peuvent être utilisés sur un grand nombre d'automates de coagulation. Respecter les instructions du fabricant de l'automate utilisé.

Prélèvement et préparation des échantillons

Remarque : concernant la qualité des échantillons qui peut avoir une influence sur le résultat du test, se reporter au paragraphe « Limites du test ».

Mélanger 9 volumes de sang veineux fraîchement prélevé avec 1 volume de solution de citrate de sodium (utiliser un système de prélèvement du commerce).

Centrifuger l'échantillon le plus rapidement possible après son prélèvement, pendant au moins 10 min à 1500 g. Comme alternative, on peut également prélever l'échantillon selon le document NC-CLS H21-A2⁶. S'il est analysé aussitôt, on peut le laisser sur le sédiment érythrocytaire ou le séparer. Pour le séparer, utiliser une pipette en plastique, transférer le plasma dans un tube en plastique et le conserver au réfrigérateur jusqu'au moment du test. Ne pas le placer sur de la glace.

Bien que des études⁷ aient montré que les échantillons plasmatiques pouvaient être conservés jusqu'à 72 heures à +4 °C sans perte significative de leur valeur de fibrinogène, il est conseillé d'effectuer la mesure aussi rapidement possible après le prélèvement.

Réalisation du test

Méthode manuelle :

Diluer les plasmas de contrôle et de patients au 1/10 en Tampon véronal d'Owren.

Dans un tube de coagulation préchauffé, pipeter comme suit :

	Plasma de patient	Plasma de contrôle
Plasma de patient (dilué au 1/10)	0,2 ml	-
Plasma de contrôle (dilué au 1/10)	-	0,2 ml
Laisser incuber au bain-marie 1-2 min à +37 °C ou dans un thermobloc 2-4 min à +37 °C (pas plus de 5 min)		
Réactif Thrombine (conservé à +15/+25 °C)	0,1 ml	0,1 ml
Déclencher le chronomètre au moment de la distribution du Réactif Thrombine		

Etablissement de la courbe d'étalonnage

Diluer le Standard Fibrinogène du 1/4 au 1/32 en Tampon véronal d'Owren. Utiliser à chaque fois un nouvel embout de pipette, bien mélanger la solution, puis le jeter.

Exemple :

Tube à essai	Tampon véronal d'Owren	Standard Fibrinogène	Transfert du tube 1	Dilution	Facteur de conversion**
1	1,5 ml	0,5 ml	---	1:4	x 2,5
2	0,4 ml	---	0,6 ml	1:6,67	x 1,5
3	0,6 ml	---	0,4 ml	1:10	x 1
4	0,3 ml	---	0,1 ml	1:16	x 0,625
5	0,7 ml	---	0,1 ml	1:32	x 0,312

** déterminer le taux de fibrinogène de chaque dilution du standard par rapport à une dilution au 1/10 en multipliant la concentration indiquée du Dade® Standard Fibrinogène par le facteur de conversion correspondant. Les dilutions du Standard sont utilisées dans le test comme les dilutions au 1/10 des plasmas de contrôle et de patients. Reporter sur papier bilogarithmique le temps de coagulation moyen des 5 dilutions. Indiquer les concentrations en fibrinogène sur l'axe des X, et les temps de coagulation en secondes sur l'axe des Y. Relier les points pour tracer la courbe d'étalonnage.

Remarque : il est recommandé de tester en double aussi bien les dilutions du Standard Fibrinogène que les plasmas de contrôle et de patients.

Etablir une nouvelle courbe d'étalonnage à chaque changement d'automate et à chaque nouveau lot de Réactif Thrombine.

Méthode automatique :

Les adaptations spécifiques à chaque automate de coagulation sont envoyées sur demande par Dade Behring.

Contrôle de qualité interne

Domaine normal : Plasma de contrôle N

Ci-Tro® Niveau 1

Domaine thérapeutique : Plasma de contrôle P

Data-FP Plasma de contrôle Fibrinogène anormal

Introduire deux contrôles (un dans le domaine normal et un dans le domaine thérapeutique) à chaque nouvel étalonnage et au moins toutes les 8 heures sur une journée de travail. Traiter les contrôles comme des échantillons de patients. Chaque laboratoire doit déterminer ses propres domaines de contrôle de qualité, soit à partir des valeurs théoriques et des domaines de confiance des contrôles indiqués par le fabricant, soit à partir de ses propres domaines de confiance préalablement déterminés dans le laboratoire. Si les valeurs obtenues pour les contrôles sortent des domaines de confiance établis, procéder au contrôle du réactif, de la courbe d'étalonnage et de l'automate de coagulation.

Il est recommandé de documenter toutes les étapes qui ont permis d'identifier et de résoudre le problème avant de rendre les résultats des patients.

Calcul des résultats d'analyse (méthode manuelle)

Lire sur la courbe d'étalonnage les concentrations en fibrinogène des plasmas de patients en g/l à partir des temps de coagulation obtenus sur les plasmas dilués au 1/10.

Pour les valeurs de fibrinogène supérieures à 8 g/l : si le temps de coagulation obtenu est extrêmement court, ne pas diluer le plasma au 1/10 mais au 1/20 (0,1 ml + 1,9 ml de Tampon). Lire la valeur sur la courbe et la multiplier par le facteur de dilution 2.

Exemple :

Un temps de coagulation de 6,0 secondes peut, sur une certaine courbe d'étalonnage, signifier une concentration de fibrinogène d'environ 4 g/l. Si la dilution du plasma est au 1/20, multiplier la valeur lue par le facteur 2 :

$$4 \text{ g/l} \times 2 = 8 \text{ g/l}$$

Pour les valeurs de fibrinogène inférieures à 0,5 g/l : si la dilution au 1/10 du plasma de patient donne un temps de coagulation allongé, essayer une dilution au 1/5 (0,2 ml + 0,8 ml de Tampon) ou au 1/2 (0,4 ml + 0,4 ml de Tampon). Lire la valeur sur la courbe et la diviser par le facteur de dilution correspondant (2 pour une dilution au 1/5, et 5 pour une dilution au 1/2).

Exemple :

Pour une dilution au 1/5 de l'échantillon, diviser la valeur lue par le facteur 2 :

$$0,9 \text{ g/l} / 2 = 0,45 \text{ g/l}$$

Si aucune coagulation n'est obtenue avec une dilution au 1/2 de l'échantillon, cela signifie que la concentration de fibrinogène est inférieure à 0,15 g/l ou que le fibrinogène est anormal.

Limites du test

Dade Behring met à la disposition des laboratoires des adaptations pour tous les automates de coagulation adaptés à la réalisation du test.

Si un laboratoire veut utiliser les Réactifs pour le dosage du Fibrinogène sur un autre automate de coagulation, il devra le valider préalablement. Des valeurs différentes de celles indiquées comme caractéristiques du test peuvent alors être obtenues.

Les résultats du test peuvent être influencés par la présence d'héparine ou de produits de dégradation fibrinogénolytiques dans le plasma de patient. Des quantités importantes de chacune de ces substances peuvent être à l'origine de valeurs de fibrinogène diminuées à tort⁸.

Valeurs de référence

1,8 - 3,5 g/l⁹

Chaque laboratoire doit déterminer son domaine de référence normal par rapport à une population comparative représentative, car les valeurs normales varient d'un laboratoire à l'autre.

Caractéristiques du test

Les valeurs obtenues selon la méthode de mesure du temps de coagulation de la thrombine sont parfaitement corrélées avec d'autres méthodes fréquemment utilisées pour le dosage quantitatif du fibrinogène¹⁰.

Précision et reproductibilité

La précision du Réactif Thrombine a été testée sur le Sysmex® CA-1500 avec le Plasma de contrôle N et le Plasma de contrôle P, 8 fois sur 5 jours différents.

Les coefficients de variation respectifs suivants ont été obtenus pour le Plasma de contrôle N et le Plasma de contrôle P : 1,6% et 6,4% pour la répétabilité, et 2,7% et 3,5% pour la reproductibilité.

Littérature

Cf. texte anglais.

La performance de ce produit n'est garantie que s'il est utilisé selon les indications du coffret et les informations fournies par la littérature sur ce produit. Dade Behring n'est pas responsable de la qualité ni de l'adéquation du produit, si celui-ci est utilisé à d'autres fins que celles indiquées, et ne pourra en aucun cas être poursuivi pour des dommages survenant en dehors des garanties contractuelles.

Dade, Ci-Tro® et Data-FI sont des marques déposées de Dade Behring Inc. aux USA, en Allemagne et dans d'autres pays.

Sysmex est une marque déposée de SYSMEX CORPORATION aux USA, en Allemagne et dans d'autres pays.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



Edition Décembre 2003

ANNEXE IV

RESULTATS :

Normes acceptables pour les coefficients de variation (reproductibilité)

Paramètres	Bornes	CV maximum recommandés (90 ^e percentile)	CV maximum acceptables (95 ^e percentile)
TP %	< 25	6,8 %	7,9 %
	25 - 43 [6,8 % *	7,9 % *
	≥ 43	4,8 %	5,6 %
TQ secondes	< 20	2,9 %	3,6 %
	20 - 21 [3,8 %	5,0 %
	≥ 21	6,0 %	7,5 %
INR	< 1,1	4,4 %	5,0 %
	1,1 - 1,6	5,3 % *	7,2 % *
	1,7 - 2,0 [5,3 %	7,2 %
	2,0 - 3,0	7,5 % *	8,5 % *
TCA secondes	≥ 3,0	7,5 %	8,5 %
	< 40	3,9 %	4,9 %
	40 - 45 [4,0 %	4,6 %
TCA ratio	≥ 45	4,7 %	5,3 %
	< 1,1	3,1 %	4,1 %
Fibrinogène g/L	≥ 1,1	4,7 %	5,3 %
	tous niveaux	6,5 %	7,6 %
FII %	< 42	6,6 %	7,5 %
	42- 91	6,6 % *	7,5 % *
	> 90	5,7 %	6,3 %
FV %	≤ 41	7,2 %	8,3 %
	41-90[7,2 % *	8,3 % *
	≥ 90	6,7 %	7,2 %
FVII %	< 50	8,1 %	8,9 %
	50-97	8,1 % *	8,9 % *
	>97	6,6 %	7,6 %
FX %	< 50	7,3 %	8,0 %
	50-90[7,3 % *	8,0 % *
	≥ 90	6,1 %	7,0 %
FVIII %	tous niveaux	7,9 %	9,5 %

Paramètres	Bornes	CV maximum recommandés (90 ^e percentile)	CV maximum acceptables (95 ^e percentile)
FIX %	< 55	8,4 %	10,1 %
	55-102[8,4 % *	10,1 % *
	≥ 102	6,8 %	7,5 %
FXI %	< 40	8,4 %	9,7 %
	40-92[8,4 % *	9,7 % *
	≥ 92	7,4 %	8,0 %
FXII %	< 50	9,1 %	12,3 %
	50-100[9,1 % *	12,3 % *
	≥ 100	7,5 %	7,9 %
VWF:Ag %	Tous niveaux	7,7 %	9,2 %
VWF:RCo %	tous niveaux	12,9 %	17,2 %
Antithrombine %	< 45	10,7 %	12,7 %
	45 - 100 [10,7 % *	12,7 % *
	≥ 100	5,5 %	6,3 %
Protéine C %	tous niveaux	6,7 %	8,7 %
Protéine S %	tous niveaux	8,4 %	9,1 %

* toutes ces valeurs de CV recommandés ou acceptables sont proposées par défaut au plus large pour les zones où les données des CIQ étaient insuffisantes pour établir des seuils.

Normes acceptables pour les biais (inexactitude)

Paramètres	Bornes	Biais maximum recommandés (90 ^e percentile)	Biais maximum acceptables (95 ^e percentile)
TP %	0 - 29	22,7 %	27,7 %
	> 29	8,5 %	10,0 %
TQ secondes	< 17 [8,2 %	11,9 %
	[17 - 23 [14,0 %	19,5 %
	≥ 23	30,0 %	38,7 %
INR	< 1,6	6,0 %	7,0 %
	[1,6 - 1,9 [7,3 %	9,1 %
	[1,9 - 3,0 [10,7 %	13,4 %
	≥ 3,0	20,5 %	23,4 %

Paramètres	Bornes	Biais maximum recommandé (90e percentile)	Biais maximum acceptable (95e percentile)
TCA secondes	< 33	15,6 %	17,7 %
	33 - 50 [18,6 %	21,0 %
	50 - 69 [14,6 %	17,7 %
	≥ 69	12,6 %	17,9 %
TCA ratio	tous niveaux	14,8 %	18,7 %
Fibrinogène g/L	< 1,6 [31,2 %	38,9 %
	[1,5 - 2 [16,3 %	19,8 %
	≥ 2,3	11,4 %	14,8 %
FII %	< 30	16,0 %	27,4 %
	≥ 30	10,0 %	12,4 %
FV %	tous niveaux	12,5 %	17,7 %
FVII %	tous niveaux	11,0 %	15,0 %
FX %	tous niveaux	8,7 %	11,7 %
FVIII %	tous niveaux	15,5 %	18,8 %
FIX %	< 36	28,3 %	32,5 %
	≥ 36	14,0 %	18,7 %
FXI %	< 61	18,8 %	24,7 %
	≥ 61	14,7 %	17,9 %
FXII %	tous niveaux	13,0 %	16,0 %
VWF:Ag %	tous niveaux	14,4 %	17,9 %
VWF:RCo %	pas de donnée		
Antithrombine %	< 81	16,0 %	19,1 %
	≥ 81	8,6 %	10,5 %
Protéine C %	<98	18,4 %	23,3 %
	≥ 98	11,3 %	17,2 %
Protéine S %	tous niveaux	27,0 %	34,9 %

* Les valeurs de biais recommandées ou acceptables sont proposées par défaut au plus large pour les zones où les données des EEQ étaient insuffisantes pour établir des seuils.

ANNEXE V



Année 2014

STAC 0098563

Fibrinogène (Claus)

g/l

Niveau 1							Historique des modifications / Alerte péremption (Mise à jour automatique)			
Ensemble des participants				n	Moyenne	ET		CV		
Global	Fibrinogène			6313	2.73	0.14		5.3		
Methodologie	Claus			6286	2.73	0.14		5.2		
Technique	Dade® Fibrinogène			85	2.66	0.26		9.9		
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA Compact® / STA Compact® Max			6	-	-		-		
Vos Résultats				2.79	2.93	2.78		2.99	2.99	2.97
Ecart type des différences				0.10						
Niveau 2										
Ensemble des participants				n	Moyenne	ET		CV		
Global	Fibrinogène			6113	2.39	0.12	5.2			
Methodologie	Claus			6085	2.39	0.12	5.2			
Technique	Dade® Fibrinogène			80	2.32	0.19	8.0			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA Compact® / STA Compact® Max			6	-	-	-			
Vos Résultats				2.54	2.23	2.39	2.60	2.62	2.53	
Ecart type des différences				0.15						
Niveau 3										
Ensemble des participants				n	Moyenne	ET	CV			
Global	Fibrinogène			6413	1.11	0.05	4.8			
Methodologie	Claus			6386	1.11	0.05	4.8			
Technique	Dade® Fibrinogène			86	1.08	0.12	11.4			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA Compact® / STA Compact® Max			6	-	-	-			
Vos Résultats				1.13	1.16	1.17	1.17	1.21	1.20	
Ecart type des différences				0.03						
Niveau 4										
Ensemble des participants				n	Moyenne	ET	CV			
Global	Fibrinogène			6092	1.45	0.08	5.3			
Methodologie	Claus			6065	1.45	0.08	5.3			
Technique	Dade® Fibrinogène			82	1.35	0.15	10.8			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA Compact® / STA Compact® Max			6	-	-	-			
Vos Résultats				1.43	1.34	1.44	1.43	1.54	1.14	
Ecart type des différences				0.14						

ment est un document non contractuel, transmis à titre d'information uniquement par DIAGNOSTICA STAGO à ses distributeurs officiels. DIAGNOSTICA STAGO fournit ce document en l'état. En aucun cas, DIAGNOSTICA STAGO, ses employés, ses agents ou les tiers mentionnés dans ce document ne pourront être tenus responsables, au titre d'une action en responsabilité contractuelle, en responsabilité délictuelle ou de toute autre action, de tout dommage direct ou indirect, incident ou récurrent, ou de quelque nature qu'il soit, ou de tout préjudice, notamment de nature financière ou commerciale, résultant de l'utilisation des informations contenues dans ce document. La reproduction de ce document n'est autorisée que sous la forme de sa reproduction photographique intégrale. Ce rapport est identifié de façon unique par les éléments suivants : code laboratoire - code instrument - programme - campagne - période - version de rapport.

Fibrinogène (Clauss)

g/l

Niveau 1						Historique des modifications / Alerte péremption (Mise à jour automatique)		
Ensemble des participants		n	Moyenne	ET	CV			
Global	Fibrinogène	6313	2.73	0.14	5.3			
Methodologie	Clauss	6286	2.73	0.14	5.2			
Technique	Dade® Fibrinogène	85	2.66	0.26	9.9			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®	46	2.76	0.17	6.1			
Vos Résultats		2.62	2.58	2.90	2.95		3.01	2.90
Ecart type des différences		0.18						
Niveau 2								
Ensemble des participants		n	Moyenne	ET	CV			
Global	Fibrinogène	6113	2.39	0.12	5.2			
Methodologie	Clauss	6085	2.39	0.12	5.2			
Technique	Dade® Fibrinogène	80	2.32	0.19	8.0			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®	42	2.41	0.12	4.8			
Vos Résultats		2.55	2.35	2.32	2.54	2.62		
Ecart type des différences		0.13						
Niveau 3						Historique des modifications / Alerte péremption (Mise à jour automatique)		
Ensemble des participants		n	Moyenne	ET	CV			
Global	Fibrinogène	6413	1.11	0.05	4.8			
Methodologie	Clauss	6386	1.11	0.05	4.8			
Technique	Dade® Fibrinogène	86	1.08	0.12	11.4			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®	46	1.13	0.08	7.0			
Vos Résultats		1.22	1.08	1.19	1.20		1.14	1.22
Ecart type des différences		0.06						
Niveau 4								
Ensemble des participants		n	Moyenne	ET	CV			
Global	Fibrinogène	6092	1.45	0.08	5.3			
Methodologie	Clauss	6065	1.45	0.08	5.3			
Technique	Dade® Fibrinogène	82	1.35	0.15	10.8			
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®	44	1.43	0.07	5.0			
Vos Résultats		1.36	1.36	1.38	1.48	1.46	1.44	
Ecart type des différences		0.05						

Fibrinogène (Clauss) g/l

Niveau 1										
Ensemble des participants					n	Moyenne	ET	CV		
Global	Fibrinogène				6313	2.73	0.14	5.3		
Methodologie	Clauss				6286	2.73	0.14	5.2		
Technique	Dade® Fibrinogène				85	2.66	0.26	9.9		
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®				46	2.76	0.17	6.1		
Vos Résultats					2.95	2.90	2.93	2.86	2.98	2.73
Ecart type des différences					0.09					

Historique des modifications /
Alerte péremption
(Mise à jour automatique)

N/A

Niveau 2										
Ensemble des participants					n	Moyenne	ET	CV		
Global	Fibrinogène				6113	2.39	0.12	5.2		
Methodologie	Clauss				6085	2.39	0.12	5.2		
Technique	Dade® Fibrinogène				80	2.32	0.19	8.0		
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®				42	2.41	0.12	4.8		
Vos Résultats					2.39	2.48	2.50	2.47	2.52	2.35
Ecart type des différences					0.07					

Historique des modifications /
Alerte péremption
(Mise à jour automatique)

N/A

Niveau 3										
Ensemble des participants					n	Moyenne	ET	CV		
Global	Fibrinogène				6413	1.11	0.05	4.8		
Methodologie	Clauss				6386	1.11	0.05	4.8		
Technique	Dade® Fibrinogène				86	1.08	0.12	11.4		
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®				46	1.13	0.08	7.0		
Vos Résultats					1.15	1.06	1.13	1.19	1.17	1.13
Ecart type des différences					0.04					

Historique des modifications /
Alerte péremption
(Mise à jour automatique)

N/A

Niveau 4										
Ensemble des participants					n	Moyenne	ET	CV		
Global	Fibrinogène				6092	1.45	0.08	5.3		
Methodologie	Clauss				6065	1.45	0.08	5.3		
Technique	Dade® Fibrinogène				82	1.35	0.15	10.8		
Groupe de pairs	Dade® Fibrinogène - STA-R®				44	1.43	0.07	5.0		
Vos Résultats					1.44	1.46	1.46	1.39	1.43	1.41
Ecart type des différences					0.03					

Historique des modifications /
Alerte péremption
(Mise à jour automatique)

N/A

ANNEXE VI

Corrélations de systèmes / System Correlations

SAV 4012 / INDICE A

2 / 2

QUAL 4001-Anx 06 / A

Tableau : Corrélations de systèmes
Comparaison entre automates et réactifs Stago identiques
Table: System Correlations
Comparison Between Identical Stago Analysers and Reagent Systems

Paramètre/ Parameter	r	Pente/ Slope	Biais moyen/ Mean Bias from Average*	Ordonnée à l'origine/ Intercept
TP/PT	≥ 0.98	0.9 – 1.1	+/- 8% (in sec.)	+/- 5%
INR	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 10%	
TCA/APTT	≥ 0.98	0.9 – 1.1	+/- 8%	2 sec.
Fibrinogène/ Fibrinogen	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	0.25 g/L
D-Dimère/ D-Dimer	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 25%	0.30 µg/mL
Antithrombine/ Antithrombin	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 20%	+/- 5%
Facteurs exogènes/ Extrinsic Factors	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 15%	+/- 5%
Facteurs endogènes/ Intrinsic Factors	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 15%	+/- 5%
Héparine/Heparin	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 20% (Taux bas/Low level) +/- 15% (Taux élevé/High level)	0.10 UI/mL
Antiplasmine/ Antiplasmin	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	
Plasminogène/ Plasminogen	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	
Protéine/Protein C	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	
Protéine/Protein S	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 20% (Normal) +/- 30% (Pathologique/Abnormal)	
Reptilase	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 10%	
TT/ Thrombin Time	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 18%	
vWF	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 20%	

* The Mean Bias (Mean Difference) % is calculated using the following formula:
(Mean of Raw Differences/Mean of Averages) x 100

Groupe d'Aide à l'Accréditation des Laboratoires (GRAAL) – Corrélations de systèmes / System Correlations
- Version 1 janv.-10



Ce document, propriété exclusive de DIAGNOSTICA STAGO ne peut être communiqué à des tiers ni reproduit sans autorisation préalable

ANNEXE VII

Comparaison de méthodes

juillet

2015

v4 - nov 2011

Paramètre **Fibrinogène**
 Instruments **A : STA-R VADOR**
B : STA-Compact

Service d'hématologie Biologique du site Armand Trousseau
 Secteur Hémostase

Informations sur les conditions du test

Date
 Réactifs
 Echantillon

	Série X VADOR (ref)	Série Y STA-Compact	Moyenne (Xi ; Yi)	Différences (Xi - Yi)	Ratio (Yi / Xi)	Flag +/- 5%
1 01 - Soir	1,70	1,67	1,69	0,03	0,98	
1 02 - Soir	3,04	2,83	2,94	0,21	0,93	0,93
1 03 - Soir	4,52	4,60	4,56	-0,08	1,02	
1 04 - Soir	3,06	3,10	3,08	-0,04	1,01	
1 05 - Soir	3,12	2,84	2,98	0,28	0,91	0,91
1 06 - Soir	4,37	4,06	4,22	0,31	0,93	0,93
1 07 - Soir	5,27	5,12	5,20	0,15	0,97	
1 08 - Soir	5,11	4,74	4,93	0,37	0,93	0,93
1 09 - Soir	3,66	3,55	3,61	0,11	0,97	
1 10 - Soir	4,33	4,21	4,27	0,12	0,97	
1 11 - Soir	1,90	1,98	1,94	-0,08	1,04	
1 12 - Soir	2,72	3,05	2,89	-0,33	1,12	1,12
1 13 - Soir	4,30	4,29	4,30	0,01	1,00	
0 14 - Soir						/
1 15 - Soir	2,81	2,50	2,66	0,31	0,89	0,89
1 16 - Soir	4,33	3,92	4,13	0,41	0,91	0,91
1 17 - Soir	3,56	3,58	3,57	-0,02	1,01	
1 18 - Soir	4,73	4,60	4,67	0,13	0,97	
0 19 - Soir						/
1 20 - Soir	4,53	4,21	4,37	0,32	0,93	0,93
1 21 - Soir	1,77	1,76	1,77	0,01	0,99	
1 22 - Soir	2,37	2,28	2,33	0,09	0,96	
1 23 - Soir	2,76	2,60	2,68	0,16	0,94	0,94
1 24 - Soir	1,51	1,40	1,46	0,11	0,93	0,93
0 25 - Soir						/
0 26 - Soir						/
1 27 - Soir	3,33	3,14	3,24	0,19	0,94	0,94
1 28 - Soir	3,11	2,83	2,97	0,28	0,91	0,91
1 29 - Soir	4,69	4,29	4,49	0,40	0,91	0,91
1 30 - Soir	3,00	2,83	2,92	0,17	0,94	0,94
1 31 - Soir	4,61	4,42	4,52	0,19	0,96	

Résultats statistiques

Moyenne :	Série X (ref) 3,5	Série Y 3,3	Nb valeurs :	27
Moyenne	Moyenne (Xi ; Yi) 3,4	Différences (Xi - Yi) 0,2	Ratio (Yi / Xi) 0,96	

Corrélation

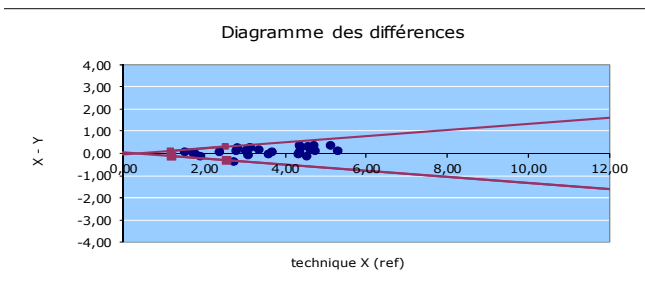
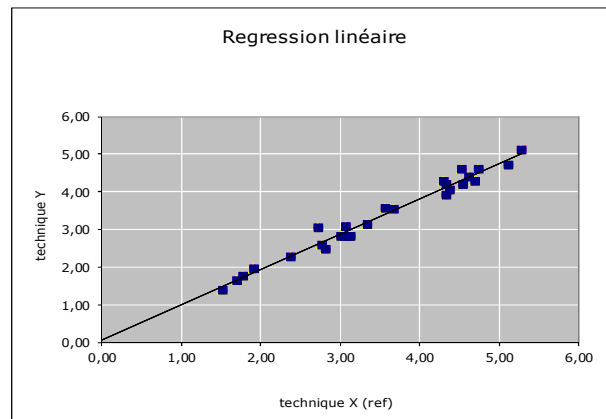
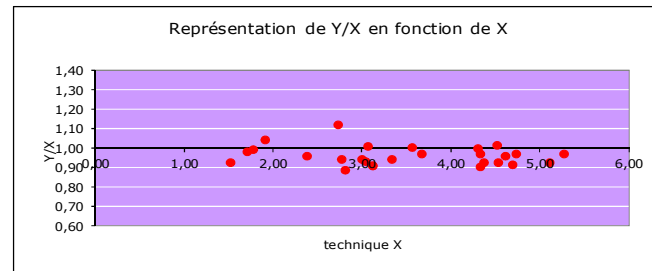
	Résultats	*Valeurs attendues
Pente (a)	0,94	
Ordonnée Origine (b)	0,08	
Coef. de corrélation (R)	0,989	
Biais moyen (%)	5,15	

Biais moyen = (moyenne des différences (Xi - Yi) / moyenne (Xi;Yi)) x 100
 * : Critères d'acceptation STAGO

Calcul des limites de suivi du diagramme des différences

	Série X VADOR	Série Y STA-Compact	(Vador)	(Spoke)
Moyenne des CIQ :	2,66	2,44	2,66	2,39
niveau P	1,15	1,22	1,15	1,09
Ecart-type de Fidélité Intermédiaire obtenue à partir des CIQ :	0,07	0,07	0,07	0,06
niveau N	0,03	0,02	0,03	0,05
niveau P	0,03	0,02	0,03	0,05
Limite de suivi calculée selon SH GTA 04 :				
niveau N	0,3			
niveau P	0,1			

x	y1	y2
2,55	0,3	-0,3
1,19	0,1	-0,1



Opérateur	Conclusion sur la performance	Nom et Signature du biologiste
-----------	-------------------------------	--------------------------------

Comparaison de méthodes

Aout

2015

v4 - nov 2011

Paramètre **Fibrinogène**
 Instruments **A : Vador**
B : Spoke

Service d'hématologie Biologique du site Armand Trousseau
 Secteur Hémostase

Informations sur les conditions du test

Date
 Réactifs
 Echantillon

Résultats statistiques

Moyenne :	Série X (ref) : 3,8	Série Y (STA-Compact) : 3,5	Nb valeurs : 31
Moyenne (Xi ; Yi)	3,7	Différences (Xi - Yi) : 0,3	Ratio (Yi / Xi) : 0,95

Corrélation

	Résultats	*Valeurs attendues
Pente (a)	0,93	0,8-01,2
Ordonnée Origine (b)	0,03	0,25
Coef. de corrélation (R)	0,996	≥0,95
Biais moyen (%)	8,72	+/-15%

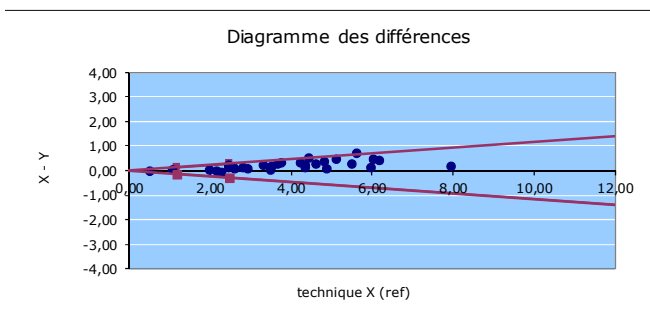
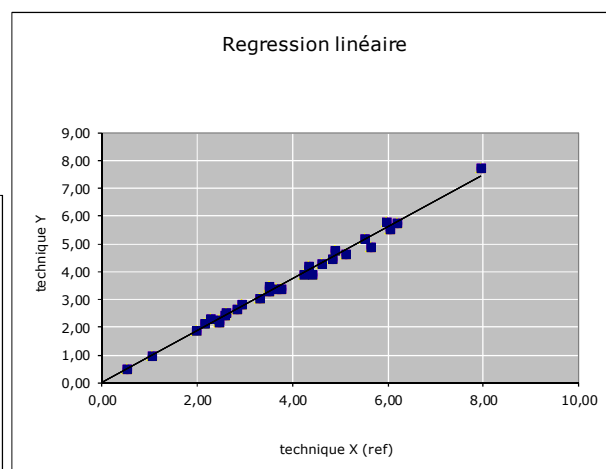
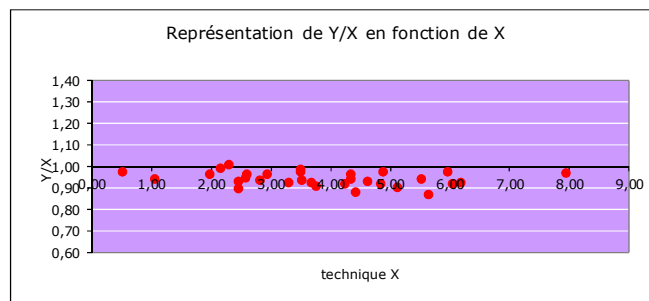
Biais moyen = (moyenne des différences (Xi - Yi) / moyenne (Xi;Yi)) x 100
 * : Critères d'acceptation STAGO

Calcul des limites de suivi du diagramme des différences

	Série X	Série Y (STA-Compact)	(Vador)	(Spoke)
Moyenne des CIQ :				
niveau N	2,53	2,44	2,66	2,39
niveau P	1,12	1,22	1,15	1,09
Ecart-type de Fidélité Intermédiaire obtenue à partir des CIQ :				
niveau N	0,07	0,07	0,07	0,06
niveau P	0,04	0,02	0,03	0,05
Limite de suivi calculée selon SH GTA 04 :				
niveau N	0,3			
niveau P	0,1			

x	y1	y2
2,48	0,3	-0,3
1,17	0,1	-0,1

	Série X (ref)	Série Y (STA-Compact)	Moyenne (Xi ; Yi)	Différences (Xi - Yi)	Ratio (Yi / Xi)	Flag +/- 5%
1 01 - Soir	2,44	2,19	2,32	0,25	0,90	0,90
1 02 - Soir	6,17	5,74	5,96	0,43	0,93	0,93
1 03 - Soir	2,14	2,13	2,14	0,01	1,00	
1 04 - Soir	4,61	4,30	4,46	0,31	0,93	0,93
1 05 - Soir	4,33	4,09	4,21	0,24	0,94	0,94
1 06 - Soir	2,28	2,31	2,30	-0,03	1,01	
1 07 - Soir	0,51	0,50	0,51	0,01	0,98	
1 08 - Soir	2,45	2,29	2,37	0,16	0,93	0,93
1 09 - Soir	1,05	0,99	1,02	0,06	0,94	0,94
1 10 - Soir	4,33	4,19	4,26	0,14	0,97	
1 11 - Soir	3,66	3,39	3,53	0,27	0,93	0,93
1 12 - Soir	4,87	4,75	4,81	0,12	0,98	
1 13 - Soir	3,29	3,06	3,18	0,23	0,93	0,93
1 14 - Soir	3,49	3,46	3,48	0,03	0,99	
1 15 - Soir	3,49	3,41	3,45	0,08	0,98	
1 16 - Soir	1,97	1,90	1,94	0,07	0,96	
1 17 - Soir	2,92	2,83	2,88	0,09	0,97	
1 18 - Soir	2,81	2,64	2,73	0,17	0,94	0,94
1 19 - Soir	7,93	7,73	7,83	0,20	0,97	
1 20 - Soir	5,95	5,81	5,88	0,14	0,98	
1 21 - Soir	3,74	3,41	3,58	0,33	0,91	0,91
1 22 - Soir	2,59	2,51	2,55	0,08	0,97	
1 23 - Soir	5,50	5,20	5,35	0,30	0,95	0,95
1 24 - Soir	3,51	3,30	3,41	0,21	0,94	0,94
1 25 - Soir	5,11	4,62	4,87	0,49	0,90	0,90
1 26 - Soir	4,82	4,45	4,64	0,37	0,92	0,92
1 27 - Soir	4,23	3,89	4,06	0,34	0,92	0,92
1 28 - Soir	2,56	2,43	2,50	0,13	0,95	0,95
1 29 - Soir	5,62	4,89	5,26	0,73	0,87	0,87
1 30 - Soir	4,41	3,89	4,15	0,52	0,88	0,88
1 31 - Soir	6,02	5,55	5,79	0,47	0,92	0,92



Opérateur	Conclusion sur la performance	Nom et Signature du biologiste
-----------	-------------------------------	--------------------------------

ANNEXE VIII



Etude de la REPETABILITE

V1 fev 2010

Laboratoire

Laboratoire des Urgences

Paramètre
Instrument

Fibrinogène

STAc 8365

Informations sur les conditions du test

31/03/2015

Réactifs

Dade Thrombine : Siemens

Echantillon CQP n=30

Commentaires

Résultats des mesures

	Unité
1	3,1
2	2,9
3	3,0
4	3,0
5	3,0
6	3,0
7	2,9
8	3,0
9	3,0
10	3,0
11	2,9
12	3,0
13	3,1
14	3,0
15	3,0
16	3,0
17	2,9
18	3,0
19	2,9
20	2,9
21	2,9
22	2,9
23	2,9
24	3,0
25	3,0
26	3,0
27	2,9
28	3,0
29	3,0
30	2,9

Résultats statistiques

Nombre de valeurs 30

Moyenne 2,97

Ecart-type 0,06

CV (%) 2,04

valeur min 2,85

valeur max 3,12

moyenne - 2SD 2,85

moyenne + 2SD 3,09

REPETABILITE

V1 fev 2010

Laboratoire

Hémostase TRS

Paramètre
Instrument

Fib - CQ Normal
SPOKE

Informations sur les conditions du test

date 31-03-2015

Réactifs Thrombin reagent - Lot 547221
System Control N - Lot 112575

Echantillon

Commentaires Validation de méthode

Résultats des mesures

	Unité
1	2,64
2	2,64
3	2,66
4	2,66
5	2,68
6	2,68
7	2,60
8	2,62
9	2,75
10	2,71
11	2,61
12	2,54
13	2,64
14	2,64
15	2,64
16	2,54
17	2,47
18	2,49
19	2,47
20	2,49
21	2,51
22	2,60
23	2,56
24	2,47
25	2,53
26	2,54
27	2,56
28	2,52
29	2,46
30	2,48

Résultats statistiques

Nombre de valeurs 30

Moyenne 2,58

Ecart-type 0,08

CV (%) 3,17

valeur min 2,46

valeur max 2,75

moyenne - 2SD 2,42

moyenne + 2SD 2,74

REPETABILITE

V1 fev 2010

Laboratoire

Hémostase TRS

Paramètre
Instrument

Fib - CQ Patho

SPOKE

Informations sur les conditions du test

date 31-03-2015

Réactifs Thrombin reagent - Lot 547221
System Control P - Lot 112575

Echantillon

Commentaires Validation de méthode

Résultats des mesures

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

Résultats statistiques

Nombre de valeurs 30

Moyenne 1,18

Ecart-type 0,02

CV (%) 1,41

valeur min 1,16

valeur max 1,23

moyenne - 2SD 1,15

moyenne + 2SD 1,21

REPETABILITE

V1 fev 2010

Laboratoire

Hémostase TRS

Paramètre
Instrument

Fib - CQ Normal

VADOR

Informations sur les conditions du test

date 31-03-2015

Réactifs Thrombin reagent - Lot 547221
System Control N - Lot 112575

Echantillon

Commentaires Validation de méthode

Résultats des mesures

	Unité
1	2,79
2	2,82
3	2,93
4	2,74
5	2,74
6	2,77
7	2,77
8	2,83
9	2,77
10	2,76
11	2,82
12	2,86
13	2,90
14	2,77
15	2,77
16	2,74
17	2,91
18	2,62
19	2,90
20	2,77
21	2,74
22	2,82
23	2,76
24	2,71
25	2,76
26	2,80
27	2,76
28	2,73
29	2,69
30	2,80

Résultats statistiques

Nombre de valeurs 30

Moyenne 2,79

Ecart-type 0,07

CV (%) 2,42

valeur min 2,62

valeur max 2,93

moyenne - 2SD 2,65

moyenne + 2SD 2,92

REPETABILITE

V1 fev 2010

Laboratoire

Hémostase TRS

Paramètre
Instrument

Fib - CQ Patho

VADOR

Informations sur les conditions du test

date 31-03-2015

Réactifs Thrombin reagent - Lot 547221
System Control P - Lot 112575

Echantillon

Commentaires Validation de méthode

Résultats des mesures

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

Résultats statistiques

Nombre de valeurs 30

Moyenne 1,21

Ecart-type 0,02

CV (%) 1,79

valeur min 1,13

valeur max 1,24

moyenne - 2SD 1,17

moyenne + 2SD 1,26

ANNEXE IX

Etude de la Contamination inter-échantillons

Laboratoire d'Hémostase

Paramètre
Contaminant suspecté
Instrument

Fibrinogène

Taux élevé versus taux bas de fibrinogène
SPOKE - STAR 1588

Renseignements :

Date : 42104

Instrument : STAR 1589 - VADOR

Réactifs : Thrombine Reagent : lot 547221

Plasma H : CN : LOT 112575

Plasma B : CP : LOT 112575 dilué au 1/3

Contamination inter-échantillons

Séquence des dosages d'après SH GTA 04

		SEC
Séquence 1	H 1	2,74
	H 2	2,64
	H 3	2,92
	B 1	0,80
	B 2	0,88
	B 3	0,81
Séquence 2	H 1	2,73
	H 2	2,73
	H 3	3,59
	B 1	0,82
	B 2	0,80
	B 3	0,80
Séquence 3	H 1	2,73
	H 2	2,80
	H 3	2,76
	B 1	0,82
	B 2	0,80
	B 3	0,80

Moyennes

H 2,85

B1 0,81

B3 0,80

Formule d'après SH GTA 04

$$\text{Contamination en \%} = \frac{\text{moy B1} - \text{moy B3}}{\text{moy H} - \text{moy B3}} \times 100$$

C (%) = 0,49

Laboratoire d'Hémostase

Paramètre
Contaminant suspecté
Instrument

Fibrinogène

Taux élevé versus taux bas de fibrinogène
VADOR

Renseignements :

Date : 10/04/2015

Instrument : STAR 1589 - VADOR

Réactifs: Thrombine Reagent : lot 547221

Plasma H : CN : LOT 112575

Plasma B : CP : LOT 112575 dilué au 1/3

Contamination inter-échantillons

Séquence des dosages d'après SH GTA 04

		SEC
Séquence 1	H 1	2,93
	H 2	2,79
	H 3	2,95
	B 1	0,82
	B 2	0,82
	B 3	0,82
Séquence 2	H 1	2,85
	H 2	2,78
	H 3	2,87
	B 1	0,85
	B 2	0,81
	B 3	0,87
Séquence 3	H 1	3,02
	H 2	2,98
	H 3	2,79
	B 1	0,9
	B 2	0,81
	B 3	0,85

Moyennes

H 2,88

B1 0,86

B3 0,85

Formule d'après SH GTA 04

$$\text{Contamination en \%} = \frac{\text{moy B1} - \text{moy B3}}{\text{moy H} - \text{moy B3}} \times 100$$

C (%) = 0,49

Etude de la Contamination inter-échantillons

Laboratoire

Laboratoire de Garde Hémostase

Paramètre

Fibrinogène

Contaminant suspecté

Taux élevé versus taux bas de fibrinogène

Instrument

STAc

Renseignements :

Date : 25/06/2015

Instrument : STAc

Réactifs: Thrombine Reagent : lot 547221

Plasma H : CN : LOT 112575

Plasma B : CP : LOT 112575 dilué au 1/3

Contamination inter-échantillons

Séquence des dosages d'après SH GTA 04

		SEC
Séquence 1	H 1	2,66
	H 2	2,71
	H 3	2,66
	B 1	0,41
	B 2	0,42
	B 3	0,42
Séquence 2	H 1	2,67
	H 2	2,71
	H 3	2,7
	B 1	0,42
	B 2	0,42
	B 3	0,42
Séquence 3	H 1	2,69
	H 2	2,74
	H 3	2,76
	B 1	0,37
	B 2	0,43
	B 3	0,42

Moyennes

H 2,70

B1 0,40

B3 0,42

Formule d'après SH GTA 04

$$\text{Contamination en \%} = \frac{\text{moy B1} - \text{moy B3}}{\text{moy H} - \text{moy B3}} \times 100$$

$$C (\%) = -0,88$$

ANNEXE X

Performances à évaluer dans la méthode quantitative en portée B Procédure de vérification/ validation de méthode

I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente procédure décrit les tests à réaliser afin de valider des méthodes quantitatives en portée B.

L'objectif de ces validations de méthodes est de démontrer :

- que les méthodes fonctionnent dans les conditions opératoires du laboratoire
- la fiabilité et l'exactitude des résultats qui sont/seront rendus aux patients.

II. PERSONNES CONCERNEES

Biologistes, cadres, techniciens.

III. DOCUMENTS DE REFERENCE

- Norme NF EN ISO 15189 et NF EN ISO 22870.
- Document COFRAC - SH GTA 04 : Guide de validation des méthodes en biologie médicale.
- Document COFRAC - SH GTA 14 : Guide d'évaluation des incertitudes de mesure des analyses de biologie médicale.
- Document COFRAC – SH FORM 43 : Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale.
- Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress." Scand J Clin Lab Invest 1999, 59:491-500. Mises à jour : <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.

IV. TERMINOLOGIE

- Analyte : composant à mesurer (ex glucose)
- Exactitude de mesure : étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et valeur vraie du mesurande.
- Fidélité : répétabilité et reproductibilité
- Intervalle de référence biologique : intervalle correspondant au 95% de la distribution des valeurs de référence.
- Justesse : étroitesse de l'accord entre la moyenne des valeurs mesurées répétées et la valeur de référence.
- Mesurande : grandeur soumise à un mesurage (ex concentration en glucose de l'urine).
- Méthode adaptée (portée B) : méthode validée qui est modifiée pour l'ajuster aux besoins du LBM/Client (patient/prescripteur).
- Méthode de type quantitatif : Méthode fournissant un résultat chiffré, sur une échelle continue à partir de la mesure d'un signal en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte. Sont également assimilés au type quantitatif les examens fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'un signal continu quantifiable, avec interprétation par rapport à un seuil.

- **Portée flexible étendue B :**

* « Portée correspondant à une demande d'accréditation du LBM souhaitant avoir la possibilité, entre 2 visites d'évaluation du COFRAC, de mettre en œuvre, sous accréditation, des méthodes qu'il a adaptées ou développées ».

* Le dossier attendu est un dossier de validation de méthode.

- **Validation (NF EN ISO 9000) :** Confirmation par des preuves tangibles que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue ont été satisfaites.

DESCRIPTION DU PROCESSUS

1 Répétabilité, reproductibilité

La reproductibilité : déterminer la variabilité du résultats d'un même échantillon
On analyse n fois dans les mêmes conditions (n≥30) en compilant les données de CIQ accumulées pour les différents niveaux de concentration (un des niveau doit être dans le seuil décisionnel.)

L'exploration des résultats consiste à calculer la moyenne (m) , l'écart type(s)

La répétabilité : déterminer la variabilité du résultats et le coefficient de variation (CV) calculés à partir des résultats de CIQ.. L'essai est réalisé au cours de séries successives en général 1 à 2 par jour. La fidélité intermédiaire est établie sur sur au moins 15 jours avec 30 déterminations et deux niveaux minimum

L'exploration de résultats consiste à calculer :

$$CV(\%) = ((s)/(m)) \times 100$$

2 La justesse

La justesse quantifiée par le biais , est estimée en comparant la moyenne (m) de la reproductibilité établie par CIQ à la valeur cible attendue (moyenne de groupe de pairs .)
Elle est exprimée en pourcentage de la valeur cible , assimilée à la valeur vraie (v) de l'échantillon testée.

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

3 Etude de l'exactitude

L'exactitude est établie à partir des résultats des EEQ en comparant la valeur trouvée cible (moyenne de groupe de pairs assimilée à la valeur vraie (v) de l'échantillon testé : l'écart observé quantifie l'inexactitude .l'inexactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'EEQ est élevé.

$$\text{Inexactitude}(\%) = ((x-v) \times 100) / v$$

Avec : x : valeur trouvée pour EEQ et v : valeur cible.

4 Evaluation de l'Incertitude de mesure

Les deux approches présentées ici sont des approches pragmatiques mais toute autre méthode documentée peut être utilisée pour évaluer l'incertitude de mesure.

1- Utilisation des EEQ

Le COFRAC édite un guide d'évaluation des incertitudes de mesure [LAB GTA 14] qui propose de calculer l'incertitude en utilisant les résultats des CQI et EEQ :

- CQI utilisé comme EEQ

Il faut disposer de :

- Moyenne du laboratoire, valeurs minimum et maximum
- Ecart type du laboratoire ($u_{\text{méthode}}$)
- Moyenne des pairs

La moyenne du laboratoire ne doit pas être significativement différente de la moyenne des pairs (pas de biais).

$$u_{\text{résultat}} = \text{racine carré } (u(K_{\text{EEQ}})^2 + u_{\text{méthode}}^2)$$

avec $u(K_{\text{EEQ}}) = \text{biais maxi} / \sqrt{3}$

biais maxi : |valeur minimum ou maximum du laboratoire – moyenne des pairs|

et $u_{\text{méthode}}$: incertitude de la méthode, reproductibilité au long cours (écart type) du CQI

Pour un niveau de confiance donnée, incertitude élargie $U = k \times u_{\text{résultat}}$ et pour un niveau de 95%, $k=2$ donc $U = 2 \times u_{\text{résultat}}$

- CQI et EEQ ponctuels

Il faut disposer de plusieurs EEQ :

- Ensemble des valeurs du laboratoire
- Moyennes des pairs ou valeurs cibles pour chaque EEQ
- Calcul des écarts (biais) pour chaque EEQ puis de l'écart type des écarts S_E

$$u_{\text{résultat}} = \text{racine carré } (u(K_{\text{EEQ}})^2 + u_{\text{méthode}}^2)$$

avec $u(K_{\text{EEQ}}) = S_E$

et $u_{\text{méthode}}$: incertitude de la méthode, reproductibilité au long cours (écart type) du CQI

Pour un niveau de confiance de 95%, $U = 2 \times u_{\text{résultat}}$

2- Utilisation de l'incertitude de l'étalon

La SFBC considère que l'incertitude de mesure est la somme de l'incertitude justesse (incertitude de l'étalon) et de l'incertitude de reproductibilité ou fidélité intermédiaire [Ann Biol Clin 2007, 65 :185-200]:

$$u_{\text{résultat}} = \text{racine carré } (u_{\text{étalonnage}}^2 + u_{\text{méthode}}^2)$$

avec $u_{\text{étalonnage}}$: incertitude de l'étalon (attention l'incertitude donnée par le fournisseur est l'incertitude élargie avec $k=2$)

et $u_{\text{méthode}}$: incertitude de la méthode, reproductibilité au long cours (écart type) du CQI

Pour un niveau de confiance de 95%, $U = 2 \times u_{\text{résultat}}$

L'incertitude peut être exprimée en valeur absolue ou en pourcentage de la valeur à laquelle elle a été calculée. L'incertitude peut être communiquée et expliquée au prescripteur sur demande par un biologiste.

5 Etude de mesure

Limite de détection :

Pour l'estimer, on peut 30 mesures répétées des blancs (matrice dépourvue de l'analyse à doser). On calcule l'écart type S_b . Exprimé en concentration de ces 30 mesures.

$$\text{La limite détection} = 3 \times S_b$$

Limite de quantification :

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

$$\text{La limite de quantification} = 10 \times S_b$$

La limite supérieure de linéarité permet de vérifier la linéarité entre les dilutions effectuées et les concentrations calculées. Elle permet, avec la limite de quantification, de définir le domaine de mesure de la méthode.

6 Comparaison de méthode

Pour comparer les résultats d'une méthode Y à tester avec ceux d'une méthode X de référence, on analyse 30 échantillons de patients couvrant l'étendue du domaine physiopathologique rencontré, selon les deux techniques à corrélérer (que ce soit des techniques manuelles ou automatisées).

Dans le cas où ce nombre d'échantillons ne peut être respecté (coût des analyses, durée des analyses....), le biologiste en charge de la validation/vérification de méthode doit argumenter ce choix sur des critères pertinents.

Pour chacun des couples retenus x_i (méthode X) et y_i (méthode Y)

. Calculer les différences $x_i - y_i$.

. Calculer les rapports $\frac{y_i}{x_i}$

. Etudier les graphiques des différences, $(x_i - y_i)$

Le calcul du coefficient de corrélation ne s'applique qu'à des variables indépendantes (pas d'intérêt pour la comparabilité de deux méthodes.)

Les données pertinentes sont apportées sur la droite de régression $y = ax + b$ (la pente a égale ou proche de 1 et l'ordonnée à l'origine b égale ou proche de 0).

7 Interférences et spécificité analytique

La présence d'interférences de substances endogènes dans les liquides biologiques : hémoglobine, bilirubine, triglycérides,.....) ou des substances exogènes (médicaments) peuvent conduire à des résultats erronés.

Ces interférences sont en fonction des examens et des méthodes de mesure.

8 Vérification de la non contamination inter-échantillon et inter-réactif

En cas de possible contamination inter échantillon, l'évaluation de cette dernière peut être calculée de la manière suivante :

A partir d'échantillons patients : prendre un échantillon à valeur élevée et l'analyser trois fois consécutivement (H1, H2, H3 de moyenne H) puis analyser un échantillon blanc passé également trois fois (B1, B2, B3).

Les séquences 'H1 H2 H3 B1 B2 B3' peuvent être répétées plusieurs fois (3 à 5 fois) afin d'établir la moyenne des B1 ($Mb1$) et la moyenne des B3 ($mB3$)

Compte tenu de l'importance clinique de certains résultats , le niveau de contamination doit être proche de 0.

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

Remarque : pour vérifier la contamination pour les technique qualitative , il est possible de vérifier , en alternant des échantillons positifs et négatifs : que les échantillons négatifs restent négatifs et les échantillons positifs restent positifs.

La contamination inter réactifs peut être effectuée après rinçage l'appareil avec lavage programme spécifique.

9 Robustesse

Dans le cas où certains paramètres (température, luminosité, pH, hygrométrie...) peuvent influencer sur la réalisation des analyses, le laboratoire doit les étudier et mettre en place les actions de maîtrise nécessaires.

10 Stabilité

Dans le cadre d'une validation de méthode B Le laboratoire doit vérifier la stabilité des réactifs indiquée par le fournisseur .

Analyser le réactif à intervalle régulier entre T1 et Tn entre deux dates en fonction de la durée de conservation attendue

Des limites de stabilité théoriques (Lst en %) est de $\pm 10\%$.

11 Intervalle de référence et valeurs de décision clinique

Le calcul peut se faire :

- . après une période d'utilisation $n > 100$
- . à partir de patients exempts de pathologie
- . en écartant des valeurs aberrantes.
- . en écartant des valeurs $> m + 2s$ et $m - 2s$.
- . en recalculant la moyenne (moyenne tronquée) m_t et (l'écart type tronqué) s_t .

$$[m_t - 2s_t ; m_t + 2s_t]$$

12 Dossier de validation de méthode

Le dossier comprend :

- la description de la méthode
- les informations sur la mise en œuvre de la vérification/validation
- les éléments de maîtrise des risques
- les données d'évaluation des performances

Le dossier de validation initiale est réalisé avant mise en œuvre de la méthode en routine (peut être réalisé en collaboration avec le fournisseur), et conduit à l'élaboration d'une fiche de performance.

Pour chaque mesurande, compléter une fiche de performance [SH FORM 43 ou kalilab] résumant les performances analytiques.

Une nouvelle vérification sur site est nécessaire en cas de :

- changement de référence de réactif
- modification de l'étalonnage
- intervention (jugée lourde par le fournisseur) sur l'instrument touchant un élément critique
- éventuellement mise à jour du logiciel touchant le mode de calcul ou la méthode de mesure

La gestion de ces modifications est décrite dans la procédure de gestion de la portée flexible.

Les dossiers de validation sont révisés de manière systématique, au minimum une fois tous les 2 ans

ANNEXE XI

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : <p style="text-align: center;">Fibrinogène sur plasma</p>
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)

DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Sous-processus 1	Éléments à vérifier (Méthode quantitative)	Modalités de vérification/validation ¹ : <input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input checked="" type="checkbox"/> 4. Justesse <input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude <input checked="" type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input checked="" type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences <input checked="" type="checkbox"/> 11. Contamination <input checked="" type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input checked="" type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

Pour chaque étape, le laboratoire procèdera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 2 à 8 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un autre élément du processus lui semble critique, il devra vérifier / valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique.

Argumentaire (le cas échéant) :

¹ Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu a minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, a minima.

Le types de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer.

L'absence d'applicabilité de certains items (NA) doit être justifiée dans le corps du document.

SOUS-PROCESSUS 1 : FibrinogènePortée A ; Portée B (Utilisation d'un réactif non qualifié par le fournisseur d'automate)**DESCRIPTION DE LA METHODE**

Analyte / Mesurande :	Détermination quantitative du Fibrinogène dans le plasma
Principe de la Méthode :	Transformation du fibrinogène en fibrine par la thrombine. Mesure du temps de coagulation est inversement proportionnel au taux de fibrinogène dans le plasma (base de principe Clauss) Mesure chronométrique sur instrument de la gamme : STA
Type d'échantillon primaire :	sang total
Type de récipient, additifs :	Tubes avec citrate trisodique à 0.109M (1 volume de citrate pour 9 volumes de sang.) :RECOMMANDATIONS ANALYTIQUES GEHT 2007. PR2
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation 15 minutes à 2000-2500g
Unités :	g/L
Critères d'interprétation² :	Valeurs de référence selon la bibliographie (Monagle P. Thromb Hemost, 2006; 95:362-72)
Marquage CE (Oui/Non) :	Marquage CE
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	HEM
Equipement (instrument, analyseur, etc.) :	STAR 1588 - STAGO STA R 1889 - STAGO STA Compact 8365 - STAGO
Référence du réactif :	Dade réactif thrombine – Siemens – Mai 2008
Matériau d'étalonnage (références) :	Calibration Usine Pool de plasma standard humain (Cryopep)
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Etalonnage linéaire en 5 niveaux : 1- 1/8 2- 1/15 3- 1/20 4- 1/30 5- 1/40

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Amélie De Moya / Corinne Bronstein
--	------------------------------------

² Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

Procédure de validation/mode opératoire :	EP-HUEP-QUAL-ANA-PT-001.
Procédure de gestion de la portée flexible :	EP-HUEP-QUAL-SMQ-PG-007 Gestion de la portée flexible
Période d'étude :	Préciser Du : 31/03/2015 au 10/04/2015 Données EEQ 2014
Date de 1^{ère} utilisation :	Avril 2005

MAITRISE DES RISQUES
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)

5M	Points critiques	Echelle de criticité ³	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité		Formation et information du personnel	Sensibilisations des infirmières lors de formation et par diffusion du manuel de prélèvements (EP-HUEP-PRE-PRE-PG-004) Formation du personnel sur l'identitovigilance et instructions décrites dans les documents : - EP-TR-HE-PRE-PRE-PT001 Prise en charge des prélèvements à la réception - EP-TR-BI-PRE-PRE-PT-001 Prise en charge des prélèvements à la réception - EP-HUEP-PRE-PRE-PG-001 TRS Gestion des non-conformités préanalytiques dans GLIM'S
	Préparation du patient		Information des patients et préleveurs	Sensibilisations des infirmières lors de formation et par diffusion du manuel de prélèvements (EP-HUEP-PRE-PRE-PG-004) Instructions de prélèvements indiqués dans les documents : - EP-HUEP-PRE-PRE-PG-004 – TRS - Manuel de prélèvement - Catalogue des examens Accessibles sur le site internet « bmp-huep » et site intranet.
	Type de contenants		Formation des préleveurs	Instructions de prélèvement et Critères d'acceptation/de refus :
	Nature et volume de l'échantillon		Contrôle à réception	- EP-TR-HE-PLUS-PRE-MT-001 Préanalytique en hémostase. - EP-TR-HE-PRE-PRE-PT001 Prise en charge des prélèvements à la réception - EP-TR-BI-PRE-PRE-PT-001 Prise en charge des prélèvements à la réception - EP-HUEP-PRE-PRE-PG-001 TRS Gestion des non-conformités préanalytiques dans GLIM'S
	Délai et température avant traitement analytique		Gestion logistique (navettes inter site, mallettes de transport)	- « EP-HUEP-PRE-PRE-PG-004 – TRS - Manuel de prélèvement » et Catalogue des examens accessibles sur le site internet « bmp-huep » et site intranet. - EP-HUEP-PLUS-PRE-PG-001 Transport des échantillons inter sites - EP-HUEP-METRO-MAT-IT-003 Qualification des valisette de transport des prélèvements
	Prétraitement : centrifugation		Conditions de centrifugation	Suivi des recommandations préconisations du GEHT 2007. EP-HUEP-PRE-PRE-PT-002 Recommandation en matière de centrifugation EP-TR-HE-HEMOS-ANA-DE-005 Programme centrifugeuse d'hémostase – Labofuge.

				EP-TR-BI-PRE-PRE-DE-010 Programmes de la centrifugeuse B-CENT2-5810R
	Interférences		Formation des préleveurs Contrôle à réception	Suivi des recommandations du fournisseur SIEMENS et Suivi des recommandations préconisations du GEHT 2007. - EP-TR-HE-PRE-PRE-PT-001 Prise en charge des prélèvements à la réception - EP-TR-HE-PLUS-PRE-MT-001 Préanalytique en hémostase. - EP-TR-HE-PLUS-ORP-PG-001 Formation et habilitation des techniciens - EP-TR-HE-PLUS-ORP-PG-002 Formation et habilitation des aides de laboratoire
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)		Métrologie / suivi des enceintes	Suivi des recommandations du fournisseur SIEMENS et Suivi des recommandations préconisations du GEHT 2007. - Suivi des températures à partir de sonde étalonnées COFRAC reliées au logiciel SIRIUS. - EP-HUEP-METRO-ANA-PT-001 Gestion métrologique des enceintes thermostatiques critiques: caractérisation, vérification et suivi. - EP-TR-HE-PLUS-MAT-PG-002 Gestion des alarmes de température des enceintes réfrigérées - EP-TR-HE-HEMOS-MAT-IT-001 Conduite à tenir en cas d'alarme de température en Hémostase sur Sirius.
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)			
	Exigences environnementales pour le matériel ou l'opérateur		Climatisation de la pièce technique (secteur hémostase)	Manuel d'utilisation du fournisseur STAGO. Suivi des recommandations du fournisseur SIEMENS. Enregistrements des conditions environnementales par sonde SIRIUS étalonnée COFRAC. - EP-HUEP-METRO-ANA-PT- 001 Gestion métrologique des enceintes thermostatiques critiques: caractérisation, vérification et suivi. - EP-TR-HE-PLUS-MAT-PG-002 Gestion des alarmes de température des enceintes réfrigérées - EP-TR-HE-HEMOS-MAT-IT-001 Conduite à tenir en cas d'alarme de température en Hémostase sur Sirius.
Matériel (équipements)	Qualité de l'eau		Eau distillée stérile pour reconstitution des réactifs Eau de rinçage	Utilisation d'ampoule d'eau distillée à usage unique et par des flacons d'OWEREN KOLLER. Eau de rinçage automate : commercialisé par STAGO.

Surveillance des dérives		Périodicité des maintenances Maîtrise des équipements (suivi métrologique, raccordement, ...)	<p>Enregistrements des maintenances :</p> <ul style="list-style-type: none"> - EP-TR-HE-HEMOS-HYG-MT-001 Entretien hebdomadaire du STAR. - EP-TR-BI-GARDE-MAT-DE-003 Fiche de maintenance hebdomadaire - STA compact - Manuel d'utilisation du STA Compact - EP-HUEP-EHS-HYG-PT-001 Entretien des équipements de laboratoire <p>Suivi des CQI et EEQ :</p> <ul style="list-style-type: none"> - EP-TR-HE-HEMOS-ANA-MT-002 Contrôles de Qualité Internes sur le STAR - EP-TR-BI-GARDE-ANA-MT-011 Contrôle qualité interne sur STA Compact - EP-TR-HE-HEMOS-ANA-IT-002 Contrôles EEa Qualiris <p>Suivi métrologique :</p> <ul style="list-style-type: none"> - EP-HUEP-METRO-ANA-PT-001 Gestion métrologique des enceintes thermostatiques critiques: caractérisation, vérification et suivi.
Contamination		Respect des conditions opératoires du fournisseur (lavage spécifique des aiguilles)	Bibliographie SIEMENS et enregistrement de l'essai sur site (Cf. tests de performance dans ce dossier)
Informatique embarquée		Paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données, ...	<p>Réalisation périodique de jeux d'essai</p> <ul style="list-style-type: none"> EP-HUEP-PLUS-INF-PG-002 Procédure de Gestion du Système d'Information du LBM EP-HUEP-INF-INF-IT-005 Vérification de la transmission informatique des résultats d'un analyseur

Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation		Métrie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Suivi des recommandations du fournisseur SIEMENS. Suivi métrologique des enceintes réfrigérées à partir de sonde étalonnées COFRAC reliées au logiciel SIRIUS. - EP-HUEP-METRO-ANA-PT- 001 Gestion métrologique des enceintes thermostatiques critiques: caractérisation, vérification et suivi. - EP-TR-HE-PLUS-MAT-PG-002 Gestion des alarmes de température des enceintes réfrigérées - EP-TR-HE-HEMOS-MAT-IT-001 Conduite à tenir en cas d'alarme de température en Hémostase sur Sirius.
	Gestion des stocks		Acceptation à réception des réactifs Gestion des stocks	Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation à chaque livraison) - EP-TR-HE-PLUS-MAT-PG-001 Procédure de Gestion des stocks et des lots - EP-TR-BI-PLUS-GDA-PG-001 Gestion des approvisionnements et des stocks
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles		Métrie des pipettes Respect du mode opératoire de reconstitution et gestion des stocks (y compris acceptation)	Suivi des recommandations du fournisseur SIEMENS. Instructions de reconstitution : - EP-TR-HE-PLUS-ANA-PT-001 Chronologie d'un bilan d'hémostase - EP-TR-BI-GARDE-ANA-MT-011 Fibrinogène SIEMENS sur STA Compact. - EP-TR-BI-GARDE-ANA-MT-011 Contrôle qualité interne sur STA Compact Pipettes étalonnées COFRAC : - EP-HUEP-METRO-ANA-PT-002 Gestion métrologique des pipettes.
Méthode	Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, ...)		Limite de détection, limite de quantification, linéarité, interférences, ... Sensibilité, spécificité Corrélation des automates afin de s'assurer qu'il n'y ait pas de dérive	Voir SH GTA 04 §9.6.1.7 Corrélation périodique des automates : EP-TR-HE-HEMOS-ANA-IT-001 Corrélation automates de Jour et Pool en hémostase
	Causes d'incertitude de mesure		Calcul des incertitudes de mesure	Voir SH GTA 04 §9.6.1.5
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel		Formation et évaluation des compétences du personnel, plan de formation Disponibilité du personnel pour assurer le respect de la procédure	Enregistrements des compétences du personnel Traçabilité de l'occupation des postes de travail EP-TR-HE-PM-ORP-PG-007 Formation/ Habilitation des Biologistes EP-TR-HE-PLUS-ORP-PG-007 Formation/ Habilitation des internes du service d'hématologie EP-TR-BI-PLUS-ORP-PG-005 Procédure de formation et d'habilitation des internes de garde EP-TR-HE-PLUS-ORP-PG-002 Formation-habilitation des aides de laboratoire EP-TR-HE-PLUS-ORP-PG-001 Formation - habilitation des techniciens EP-TR-BI-GARDE-ORP-PG-001 Procédure de formation et d'habilitation des Techniciens de Garde

Echelle de criticité

1	Peu critique
2	Moyennement critique
3	Très critique

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) :
 Contrôle qualité interne – STAGO – REF 00678 – lot 112575

REPETABILITE – STAR 1588

Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. RICOS)	Conclusion ⁴
CQI Niveau N	30	2.58	0.08	3.17	5,9	5.4	Conforme
CQI Niveau P	30	1.18	0.02	1.41	4.8	5.4	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Méthode répétable sur STAR 1588.

REPETABILITE - STAR 1589

Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. RICOS)	Conclusion
CQI Niveau N	30	2.79	0.07	2.45	5,9	5.4	Conforme
CQI Niveau P	30	1.21	0.02	1.79	4.8	5.4	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Méthode répétable sur STAR 1589

REPETABILITE – STA C 8365

Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. RICOS)	Conclusion
CQI Niveau N	30	2.97	0.06	2.04	5,9	5.4	Conforme
CQI Niveau P	30	1.28	0.02	1.28	4.8	5.4	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Méthode répétable sur STA C 8365

Ricos_Scan J Clin Lab Invest_1999, Vol 59, p 491-500.

FIDELITE INTERMEDIAIRE– STAR 1588
Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. GETH)	Conclusion ⁵
CQI Niveau N	730	2,79	0,16	5,71	5,9	10,7	Conforme
CQI Niveau P	730	1,22	0,08	6,18	4,8	10,7	Acceptable

Argumentaire de la conclusion :

FIDELITE INTERMEDIAIRE– STAR 1589
Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. GETH)	Conclusion ⁵
CQI Niveau N	730	2,79	0,13	4,62	5,9	10,7	conforme
CQI Niveau P	730	1,20	0,05	3,86	4,8	10,7	conforme

Argumentaire de la conclusion : Conforme

FIDELITE INTERMEDIAIRE– STA C 8365
Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. GETH)	Conclusion ⁵
CQI Niveau N	93	3,03	0,14	4,71	5,9	10,7	conforme
CQI Niveau P	98	1,28	0,05	3,94	4,8	10,7	conforme

Argumentaire de la conclusion : Conforme

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) – STAR 1588
Contrôles quantitatifs ; Contrôles qualitatifs

Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
EEQ - Niveau 1	2,88	2.76	2,66	7.9	6,1	11,4	Conforme
EEQ - Niveau 2	2,55	2.41	2,32	5.8	9.9	11.4	Conforme
EEQ - Niveau 3	1,18	1.13	1,08	4.4	9.8	31,2	Conforme
EEQ - Niveau 4	1,44	1.43	1,35	6.7	7.4	31,2	Conforme

Argumentaire de la conclusion : validé

Reference : Groupe de travail GETH 2014

⁴ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...) : Ricos_Scan J Clin Lab Invest_1999, Vol 59, p 491-500.

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) – STAR 1589 Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
EEQ - Niveau 1	2,89	2.76	2,66	4.7	5,1	11,4	Conforme
EEQ - Niveau 2	2,45	2.41	2,32	1.7	1,9	11,4	Conforme
EEQ - Niveau 3	1,14	1.13	1,08	3.5	5,9	31,2	Conforme
EEQ - Niveau 4	1,44	1.43	1,35	2.1	2,4	31,2	Conforme

Argumentaire de la conclusion : validé

Reference : Groupe de travail GETH 2014

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) – STA Compact Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
EEQ - Niveau 1	2,90	/	2,66	/	8.3	11,4	Conforme
EEQ - Niveau 2	2,52	/	2,32	/	5,6	11,4	Conforme
EEQ - Niveau 3	1,16	/	1,08	/	7.9	31,2	Conforme
EEQ - Niveau 4	1,39	/	1,35	/	2.9	31,2	Conforme

Argumentaire de la conclusion : validé.

Reference : Groupe de travail GETH 2014

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/> - Méthode quantitative	
Vrais positifs	Spécificité, sensibilité, VPN, VPP -Méthode est basée sur la méthode de référence de CLAUSS. -Technique commerciale marquée CE , avec application de la configuration test proposé par le fabricant sans aucune modification. La calibration se fait à l'aide de calibrant raccordé à un étalon international.
Vrais négatifs	

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : STAR 1588 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	CIQ/EEQ	Référence

Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	Valeur \pm 0.38 g/L	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	Valeur \pm 0.17 g/L	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion : Résultats validés.

Le mode de calcul SH GTA 14.

Interprétation : l'incertitude de mesure est cliniquement non pertinente.

⁴ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...) : GHET – Norme d'acceptabilité en hémostase – Aout 2014.

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : STAR 1589 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	CIQ/EEQ	Référence
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	Valeur \pm 0.37 g/L	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	Valeur \pm 0.17 g/L	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion : Résultats validés.

Le mode de calcul SH GTA 14.

Interprétation : l'incertitude de mesure est cliniquement non pertinente.

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : STA Compact Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	CIQ/EEQ	Référence
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	Valeur \pm 0.41 g/L	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	Valeur \pm 0.15 g/L	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion : Résultats validés .

Le mode de calcul SH GTA 14.

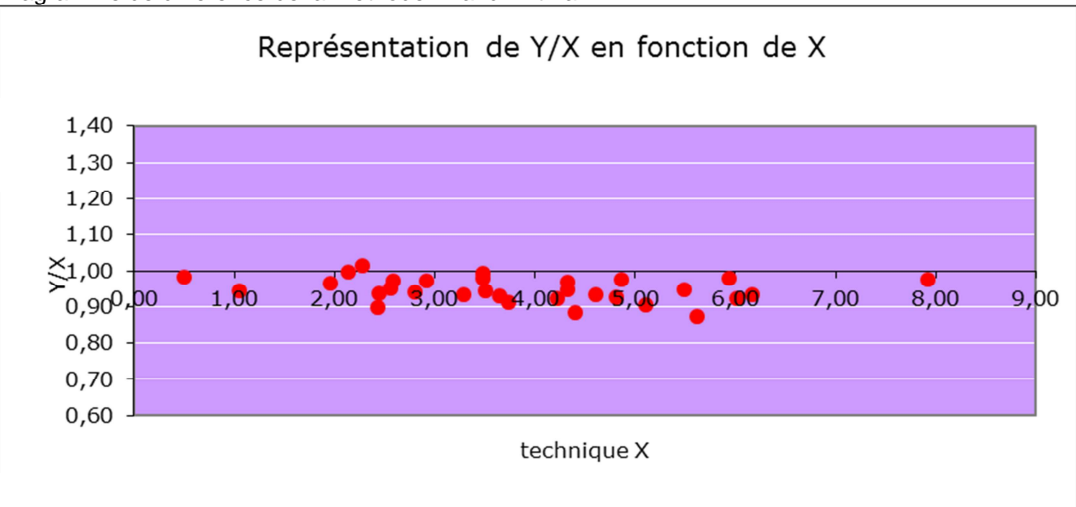
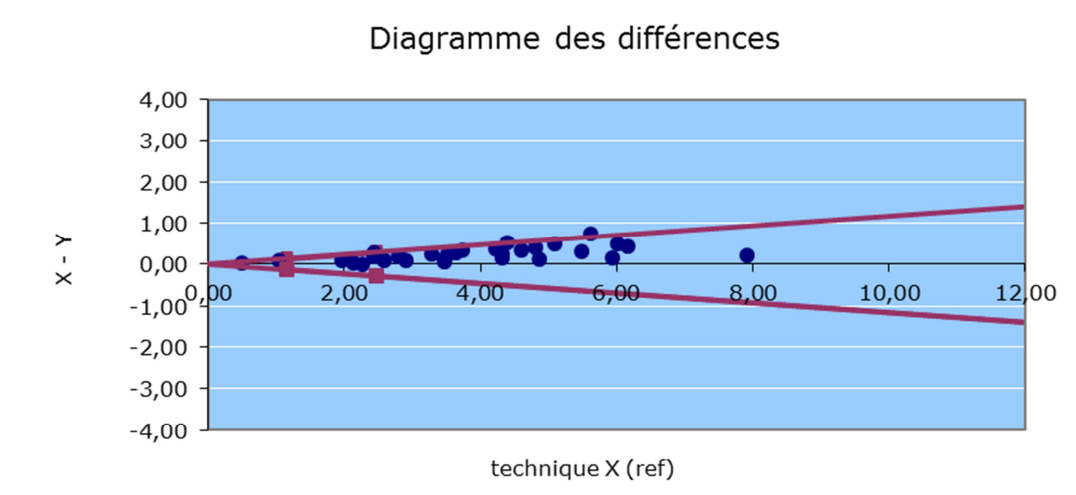
Interprétation : l'incertitude de mesure est cliniquement non pertinente.

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Limite de détection :	0.3-15 g/l (<0.2->12 g/l)

Référence : notice fournisseur avec la configuration test sur 3 STA par Siemens

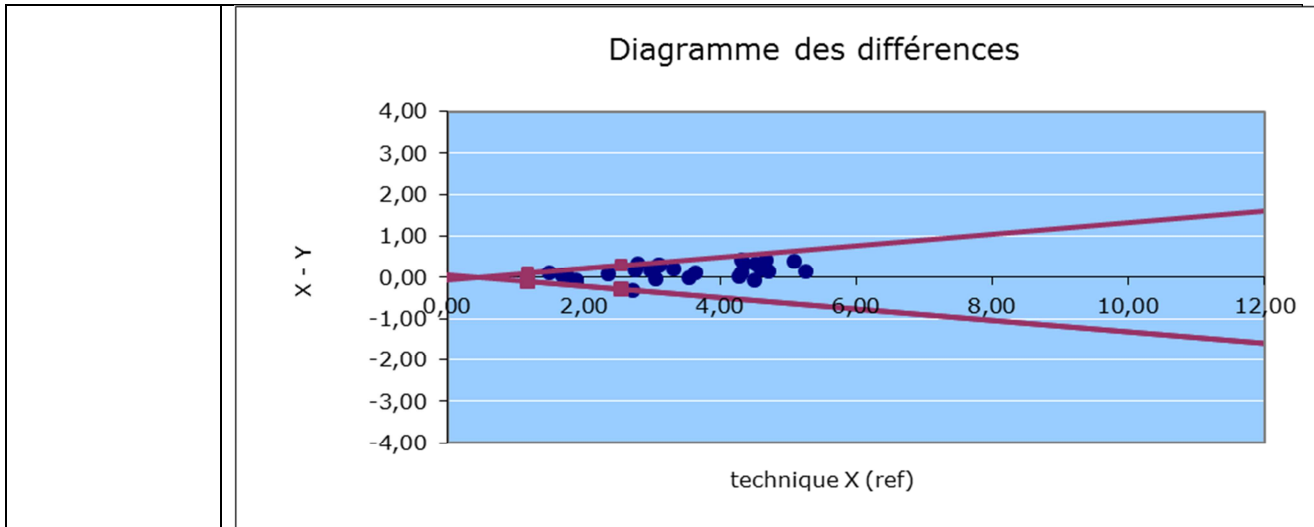
Argumentaire de la conclusion : ces limites de détection couvrent la totalité des valeurs utilisés dans le laboratoire

COMPARAISON DE METHODES : - STAR 1588 / STAR 1589 Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	SAV 4012 corrélation de systèmes (STAGO)
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Corrélation Aout 2015 Service d'hématologie biologique Appareils en miroir : STA-R1588/ STA-R1589

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Corrélation Aout 2015 Service d'hématologie biologique Appareils en miroir : STA-R1588/ STA-R1589
Nombre de mesures :	31
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Préciser les valeurs minimum et maximum de l'étendue des mesures : 0.50 - 7.93 g/l
Méthode d'exploitation des résultats :	SGTA 04 Comparaison avec du plasma frais (patients et une échelle de valeurs représentative de l'activité de routine.
Equation de la droite de régression :	$Y = 0.93x + 0.03$
Diagramme des différences et/ou des rapports :	<p>Diagramme de différence de la méthode Bland -Altman</p> <p>Représentation de Y/X en fonction de X</p>  <p>Diagramme des différences</p> 

Argumentaire de la conclusion : La corrélation entre les automates miroir est conforme ne nécessite pas de facteur de correction

COMPARAISON DE METHODES : - STAR 1588 / STA Compact Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	SAV 4012 corrélation de systèmes (STAGO)
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Appareils en miroir : Corrélation STA-R1588 STA -Compact 6388
Nombre de mesures :	30
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Préciser les valeurs minimum et maximum de l'étendue des mesures / 1.40-5.27g/l
Méthode d'exploitation des résultats :	, SH GTA 04 Comparaison de méthode avec des plasmas de patients et une échelle représentative de l'activité de routine.
Equation de la droite de régression :	$Y = 0.94x + 0.08$
Diagramme des différences et/ou des rapports :	<p style="text-align: center;">Représentation de Y/X en fonction de X</p> <p style="text-align: center;">technique X</p>



Argumentaire de la conclusion : La corrélation entre les automates miroir est conforme ne nécessite pas de facteur de correction

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...) STA R 1589 / 1589 /6388 Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Limite de détection :	Données fournisseur SIEMENS	0.3
Limite de quantification :	Données fournisseur SIEMENS	NA
Limite supérieure de linéarité :	Données fournisseur SIEMENS	15g/l

Argumentaire de la conclusion : Les limites inférieure et supérieure de détection couvrent l' étendue des valeurs attendues au laboratoire.

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Hémolyse	Méthode d'analyse en chromatométrie interfère très peu : hémoglobine libre > 600mg/dl
Turbidité	Absence d'interférence : technique coagulation
Bilirubine, ictère	Bilirubine > 60 mg/ dl
Médicaments	Pas d'interférences médicamenteuses
...Héparine et monomères de fibrine	Absence d'interférences testée à des taux > 0.6 UI/ml En cours .

Argumentaire de la conclusion : il n'existe à ce jour pas d'interférence sur le dosage de fibrinogène , dans la limite d'utilisation au laboratoire.

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
--	--

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, βHCG, ...) :	Dans la littérature le paramètre n'est pas réputé sensible aux contaminations , cependant on a remarqué l'oxydation rapide des aiguilles. Le fournisseur préconise un lavage spécifique car risque de dépôt de fibrine d'où la réalisation d'un test de contamination dont les résultats sont les suivants . <ul style="list-style-type: none"> - STA R 1588 : C = 0,049% proche de 0 - STA R 1589 : C = -0,050% proche de 0 - STA Compact : C = -0,88% proche de 0
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...) :	Pas de risque de contamination(lavage spécifique des aiguilles.)

Argumentaire de la conclusion : Pas de contamination inter-échantillon pour l'ensemble des 3 automates.

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	Le fibrinogène est un paramètre robuste peu influencé par des paramètres extérieurs à l'exception des conditions préanalytiques comme indiqués dans le tableau de maitrise des risques cf. ci-avant.
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	<u>Fournisseur indique, après reconstitution réactif :</u> <ul style="list-style-type: none"> - 5 jours entre 2° et 8°C - 8 heures à T° ambiante <p><u>Dans le laboratoire :</u> un flacon reconstitué est utilisé en moins de 32h. Les tests ont donc été réalisés en T0, T8, T24, T32, T48 sur un même flacon reconstitué. Réactifs stable : valeur 2,38% < 5,9% (CV répétabilité CQ normal fournisseur)</p>

Argumentaire de la conclusion :

Méthode robuste.

Réactif stable sur la période d'utilisation au laboratoire.

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>															
Valeurs de référence	Prématurés :														
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Age</th> <th>19s- 23s</th> <th>24s – 29s</th> <th>30s – 38s</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Taux (g/l)</td> <td>0.85 (0.57 - 1.5)</td> <td>1.12 (0.65 - 1.65)</td> <td>1.35 (1.25 – 1.65)</td> </tr> </tbody> </table>	Age	19s- 23s	24s – 29s	30s – 38s	Taux (g/l)	0.85 (0.57 - 1.5)	1.12 (0.65 - 1.65)	1.35 (1.25 – 1.65)						
	Age	19s- 23s	24s – 29s	30s – 38s											
Taux (g/l)	0.85 (0.57 - 1.5)	1.12 (0.65 - 1.65)	1.35 (1.25 – 1.65)												
Nouveau né à l'âge adulte (16 ans).															
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Age</th> <th>0 - 30</th> <th>30 - 90j</th> <th>90j - 180j</th> <th>180j - 1</th> <th>1 - 2ans</th> <th>2 – 16</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Age	0 - 30	30 - 90j	90j - 180j	180j - 1	1 - 2ans	2 – 16							
Age	0 - 30	30 - 90j	90j - 180j	180j - 1	1 - 2ans	2 – 16									

		90j		an		ans
Taux (g/l)	1.9 - 4	1.6 - 4	1.5 - 4	1.5 - 4	1.6 - 4	1.5 - 4
Reference: Monagle P. Thromb Hemost, 2006; 95:362-72						

Argumentaire de la conclusion : Ces normes sont utilisées dans le laboratoire..

DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du ..09/09/2015 : Siemens Dade Thrombine est le seul réactif dédié au dosage du fibrinogène disponible au marché depuis juillet 2011 .
Ce réactif a été choisi après analyse de dossiers sur avis du groupe de travail AGEPS qui regroupe les biologistes experts en hémostase à l'AP-HP.

Autorisée par / Les résultats de cette validation de méthode sont conformes pour l'utilisation faite pour ce test.

Méthode validée

:

Signature Dr .T.yahouni.kheyar ..KT.

RESUME

Dans le cadre de l'accréditation selon la norme ISO 15189, le service d'hématologie biologique du site de Trousseau a présenté pour l'année 2016 une demande d'extention des examens suivants la formule sanguine , le fibrinogène et les facteurs II ET V de la coagulation.

Dans cette démarche le laboratoire doit prouver la maitrise du processus analytique grâce à la vérification et validation des methodes employées .Ce mémoire présente la méthodologie et les résultats obtenus pour la validation de méthode du dosage du fibrinogène coagulant. Ce dernier est réalisé à l'aide du réactif Dade Trombie Siemens et d'automates STA Stago.

L'utilisation des guides technique SH GTA 04 et SH GTA 14 et les recommandation des sociétés savantes a permis de réaliser le mode opératoire et définir les critères de performance à vérifier

Parallèlement une analyse de risque du processus analytique a été menée par la cellule qualité du service afin d'identifier les risques potentiels et mettre en œuvre des moyens pour les maitrisés. Le formulaire SH FORM 43 a été rempli en partie et sera finalisé à la fin des essais du protocole .

Ce travail réalisé servira dans les différents secteurs analytiques de tout le GH et permettra d'harmoniser les méthodes quantitatives en potée B.

La rédaction du dossier de validation est réalisée en complétant le formulaire SH FORM 43 et sera finalisé à la fin des essais du protocole.

Du fait de la pauvreté des sources bibliographiques notamment du fournisseur , ce dossier est à ce jour incomplet..