

Mise en place du processus de validation de méthode en Immunohistochimie

Marquage du TTF-1 sur l'automate Bond Leica Biosystems

Département de Pathologie des HUPNVS

K. Tabbech

18 Octobre 2016

Présentation

■ L'ImmunoHistoChimie

- ▶ Technique de seconde intention
- ▶ Contribution à l'établissement d'un diagnostic précis ou de théranostic
- ▶ Ressource essentielle pour les pathologies complexes
- ▶ Ac émergent de recherche valorisable pour une utilisation dans le cadre d'un diagnostic

■ Moyens mis en place

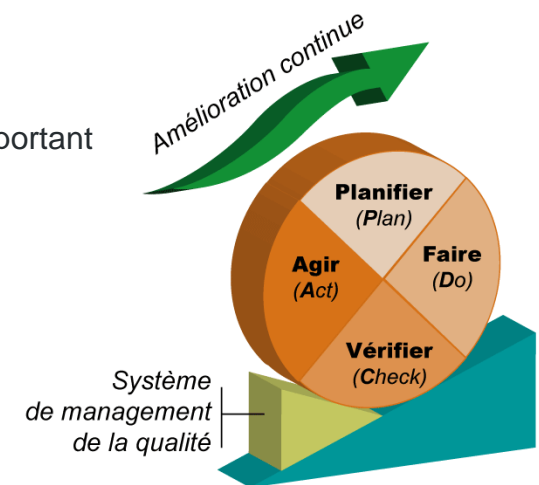
- ▶ Groupe de travail qualité sur le secteur
- ▶ Établissement d'un planning de réunion
- ▶ Documents provenant de la cellule qualité et des formations antérieurs

■ Limites de l'étude

- ▶ Impact important du pré analytique → se limiter au secteur IHC
- ▶ Structure multi sites → gestion du temps
- ▶ Automates différents entre les deux sites, large panel d'Ac, coût à la lame important

■ Afin de valider les méthodes de marquage IHC, il nous a fallu :

- ▶ Dégager les axes d'amélioration sur le secteur IHC
- ▶ Formaliser l'organisation de la démarche
- ▶ Définir les responsabilités de chacun
- ▶ Harmoniser les pratiques sur l'ensemble du Département



Gestion documentaire

■ Modifications du mode opératoire existant

- ▶ Pour intégrer la notion de contrôle qualité et validation de méthode

■ Liste des témoins

Ac / bloc témoin / responsable par marqueur
Témoin externe sur la lame

■ Contrôle Qualité

- ▶ Maîtrise du processus analytique
Parcours de compétence du personnel (Qualification, Evaluation, Formation Continue)
Environnement
Equipements
Echantillon primaire
Méthodes et réactifs
Enregistrement dysfonctionnement / évaluation du marquage
- ▶ CIQ
Témoin interne / externe
Comparaisons entre les automates mensuelles
Tester les nouveaux lots d'Ac
- ▶ CIL
Beaujon-Bichat
- ▶ EEQ
AFAQAP
Nordic QC / UK NEQAS à mettre en place si possible

■ Dossier pilote de validation de méthode qualitative en IHC

Description de la méthode IHC

■ Méthodes

- ▶ Marquage qualitatif : présence / absence de marquage
- ▶ Marquage semi-quantitatif : score / %

■ Mise au point d'Ac

- ▶ Gamme de dilutions
- ▶ Restauration des sites Ag (Enz, Chaleur, pH)
- ▶ Incubation du marqueur (20' / 1h)
- ▶ Amplification / Révélateurs

■ Cas test TTF-1 : vérification de méthode qualitative portée A

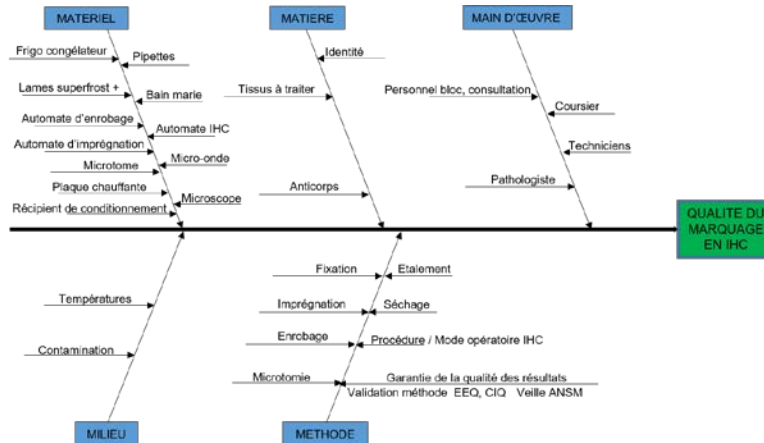
- ▶ Carcinomes bronchiques non à petites cellules pour différencier :
 - les adénocarcinomes (TTF-1+ dans environ 75% des cas)
 - des carcinomes épidermoïdes (TTF-1-)
- ▶ Origine primitive d'une métastase d'adénocarcinome :
 - pulmonaire (TTF-1+ / thyroglobuline -)
 - thyroïdienne (TTF-1+ / thyroglobuline +)
- ▶ Pour visualiser l'architecture alvéolaire sous-jacente d'un poumon pathologique



Maîtrise de risques

■ Identifier les grandeurs d'influence

- ▶ Listes des éléments pouvant influencer la technique
- ▶ Diagramme des 5M



■ Tableau de maîtrise de risques

- ▶ Pour chaque éléments à maîtriser, on y oppose nos moyens de maîtrise
Formation du personnel, vérification expérimentale, documents (procédure, instruction, enregistrement, notice, ...)

Plan expérimental


■ SH-GTA-04

CRITERES A EVALUER	Vérification (portée A)		Validation (portée B)	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai	Essai	Essai
Justesse/exactitude (approche)	Essai	Essai	Essai	Essai
Incertitudes/facteurs de variabilité et évaluation	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité
Comparaison avec méthode déjà utilisée au laboratoire ou autre méthode du laboratoire (appareil en miroir ⁹ , EBMD) et analyse des discordances ¹⁰	Essai	Essai	Essai	Essai
Intervalle de mesure (Limite de quantification et limites de linéarité)	Bibliographie	/	Essai	/
Interférences (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments, ...)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Robustesse	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Stabilité réactifs (après ouverture, embarqués)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Intervalle de référence (valeurs usuelles)	Bibliographie (fournisseur ou autre, s'assurer de la cohérence avec l'état de l'art)	Bibliographie	Essai	Essai
Limite de détection	/	Bibliographie	/	Essai
Spécificité/sensibilité analytique	/	Bibliographie	/	Essai

Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude¹¹ de la méthode ou du système analytique.

Critères à évaluer	Vérification de la méthode qualitative
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai
Justesse/Exactitude (approche)	Essai
Incertitudes/facteurs de variabilité et évaluation	Maîtrise des risques
Comparaison	Essai
Interférences	Fiche technique de l'Ac TTF-1 Manuelle d'utilisation des automates Maîtrise des risques Bibliographie
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	
Robustesse	
Stabilité réactifs	
Intervalle de référence (valeurs usuelles)	
Limite de détection	
Spécificité/Sensibilité analytique	

Plan expérimental

- **Justesse** : mise au point de l'Ac
- **Répétabilité** : 10 lames identiques sont passées en même temps et dans les mêmes conditions
- **Variabilité inter opérateur** sur une période d'1 mois (environ 30 lames)
- **Comparaison** : 1 lame par rack par automate
- **Photo marquage** 
- **Pour chaque test réalisé conclure** quant à la conformité des résultats vis-à-vis de nos exigences et celles de la norme

Dossier de validation de méthode

■ Validation de méthode qualitative en IHC

- ▶ Démonstration de notre maîtrise d'un savoir-faire selon les exigences de la norme
- ▶ Description de la méthode
- ▶ Maîtrise de risques
- ▶ Plan expérimental
 - Fiche technique : validation de méthode (formaliser la démarche)
 - Enregistrement : Plan d'expérience validation de méthode qualitative en IHC
- ▶ Rapport de suivi annuel
 - CIQ / Evaluation du marquage / Déclaration de dysfonctionnement
 - EEQ si réalisée

■ Responsabilités

- ▶ Techniciens référents : informations techniques (référence, dilution, pH, consommation...)
- ▶ Pathologiste responsable de la validation : description de l'Ac, bibliographie, validation, signature

■ Difficultés

- ▶ Harmoniser les pratiques avec automates différents sur les 2 sites
- ▶ Personnel médical moins sensible à la démarche qualité
 - Sans obligation de résultat comme pour les autres laboratoires

Axes d'amélioration

- *Fin 2016*

- ▶ Finir les habilitations du personnel sur le secteur (4/6) pour l'unité Bichat
- ▶ Finaliser le tableau de maîtrise avec la colonne de criticité
- ▶ Gestion de stock : réévaluer l'intérêt du panel d'Ac actuel, répartition sur les deux sites
5 – 6 Ac non utilisés durant l'année mais conservés au cas où

- *Janvier 2017*

- ▶ Bilan sur le test de validation de méthode sur Beaujon
- ▶ Evaluation bi-sites du système mis en place

- *Pour plus tard*

- ▶ Mise en place de la validation de méthode semi-quantitative (Her2, Ki67, RO-RP)
- ▶ Prise en compte de la phase pré analytique
- ▶ Étendre la méthode d'approche pour les autres secteurs de portée d'accréditation
- ▶ Mise en place d'audit interne et d'auto évaluation plus régulière
- ▶ Valider le projet d'accréditation