

Université Pierre et Marie Curie -
Sorbonne Universités

MÉMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME UNIVERSITAIRE
«ASSURANCE QUALITÉ AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MÉDICALE»

MISE EN PLACE DE NOUVEAUX APPAREILS
A GAZ DU SANG DANS LE BUT D'UNE DEMANDE
D'AJOUT D'ACCREDITATION

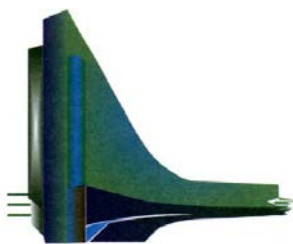
GIBORY Jessie
2016-2017

NOTE AU LECTEUR

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

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

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



Centre Hospitalier Robert Bisson
14100 LISIEUX

Auteur du mémoire

Mme Gibory Jessie
Technicienne de laboratoire
Référente Métrologie
Référente Qualité
Référente Achat réactifs
Centre Hospitalier Robert Bisson, Lisieux

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée à la réalisation de ce mémoire :

- Tous les Biologistes du laboratoire pour m'avoir orientée et soutenue lors de mon projet.
- Mme Corbon Emmanuelle, gestionnaire assurance qualité au laboratoire, pour m'avoir orientée et aidée à la réalisation de mon mémoire.
- le CH de Lisieux ainsi que le biologiste responsable du laboratoire le Dr Antoine Legros et le cadre de santé du laboratoire de m'avoir permis de réaliser ce DU.
- L'ensemble des techniciens du laboratoire.

Je remercie également les enseignants du DU qui ont consacré beaucoup de temps et de patience pour transmettre leur savoir.

SOMMAIRE

NOTE AU LECTEUR	2
REMERCIEMENTS	4
1. Contexte	8
1.1 Présentation du Centre Hospitalier.....	8
1.2 Présentation du laboratoire	9
1.3 Organisation de la qualité	10
2. Objectifs et déroulement du projet.....	10
2.1 Etat des lieux.....	10
2.2 Méthodologie.....	12
2.3 Etapes du projet	12
3. Vérification sur site des performances des appareils à gaz du sang	13
3.1 Portée flexible.....	13
3.2 Maitrise des risques.....	13
3.3 Identification des performances à évaluer	15
3.4 Description de la méthode	15
3.5 Mise en œuvre.....	16
3.6 Résultats et exploitation des données	16
3.7 Indicateur.....	25
4. Conclusion.....	29

GLOSSAIRE

AMDEC : Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

CH : Centre Hospitalier

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CQI : Contrôle de Qualité Interne

CV : Coefficient de Variation

DU : Diplôme Universitaire

EBMD : Examens de Biologie Médicale Délocalisés

EEQ : Evaluation Externe de Qualité

EFS : Etablissement Français du Sang

EHPAD : Etablissement d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes

ETP : Equivalent Temps Pleins

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

MCO : Médecine, Chirurgie, Obstétrique

NA : Non Applicable

SFBC : Société Française de Biologie Clinique

INTRODUCTION

Notre laboratoire s'est engagé depuis 2010 dans une démarche qualité afin de répondre aux exigences de la norme internationale ISO 15189 V2012. La première visite du COFRAC en décembre 2015 nous a permis d'accréditer 17% des analyses dans les secteurs Hémostase, Biochimie et Sérologie infectieuse. Actuellement le laboratoire est accrédité à 50% suite à notre demande d'ajout d'analyse dans le secteur Biochimie et à notre visite de suivi en mars 2017.

Dans l'optique d'accréditer 100% de nos analyses en 2020 et suite à l'acquisition de nouveaux appareils à gaz du sang, nous souhaitons ajouter à notre liste d'examen accrédités les paramètres effectués sur les ABL 90 en 2019. Ces examens étant dans le même domaine Biologie Médicale, sous domaine Biochimie-Génétique et famille Biochimie générale et spécialisée (BIOCHBM) que les examens présentés en 2015, ils font l'objet d'ajout de la portée d'accréditation.

Ce mémoire décrit les différentes étapes réalisées par notre laboratoire nécessaire à la demande d'ajout d'examens à notre liste d'analyses accréditées en s'appuyant sur la procédure de gestion de la portée flexible.

1. Contexte

1.1 Présentation du Centre Hospitalier

Le centre hospitalier Robert-Bisson est un établissement public de santé situé à Lisieux dans le Calvados. Il s'agit du centre hospitalier de proximité dans le territoire Nord-Est de la région Basse-Normandie. Sa zone d'attractivité déborde ce territoire vers le département de l'Eure et vers le Nord du département de l'Orne.



Le centre hospitalier de Lisieux possède une capacité moyenne de 622 lits (et places) (300 MCO et 322 EHPAD) répartis sur plusieurs entités :

- le tripode principal : qui regroupe les services de médecine et de chirurgie.
- le pavillon mère-enfant : inauguré en 2010 qui abrite une maternité de type 2b, la pédiatrie et la néonatalogie.
- le pavillon Vauquelin où se trouvent la gériatrie, la néphrologie et l'hémodialyse.
- les pavillons Colombe et Devaux : qui hébergent les services de longs séjour et de maison de retraite

L'hôpital de Lisieux est organisé en pôles d'activités qui regroupent des spécialités médicales et techniques :

- Activités transversales cliniques : Urgences et Réanimation

- Activités transversales support : Laboratoire, Pharmacie, Radiologie et Stérilisation
- Chirurgie
- Gériatrie
- Médecine
- Médecine vasculaire
- Mère-Enfant

Le Centre hospitalier Robert Bisson dispose d'un plateau médico-technique performant :

1. un bloc opératoire avec 7 salles d'opération et une salle de réveil
2. un service de réanimation (8 lits) et de soins continus (4 lits)
3. une unité de neurologie vasculaire de 2 lits
4. un service de soins intensifs de cardiologie de 6 lits
5. un bloc obstétrical doté de 4 salles de naissance, dont 1 nature, 4 salles de pré travail, 1 salle de réanimation nouveau-né et 1 salle pour les césariennes
6. un service d'imagerie médicale avec 2 IRM, 1 scanner, radiologie conventionnelle et échographie
7. une unité technique d'endoscopie
8. une unité échodoppler de médecine vasculaire
9. un laboratoire de biologie médicale polyvalent ouvert à tout public
10. une pharmacie à usage intérieur
11. un service d'urgences-SAMU-SMUR qui réalise près de 400 sorties par an

Le Centre Hospitalier évolue et se modernise en permanence, comme en témoignent le Pôle Mère/Enfant ou le Service Réanimation, récemment rénovés.

1.2 Présentation du laboratoire

Le laboratoire du CH de Lisieux est un laboratoire polyvalent dont l'activité d'environ 16 millions de B est répartie entre les examens de biologie des services de soins de l'établissement, ceux du CH de Pont l'Evêque distant de 17 km et les patients venant de l'extérieur. Nous sommes dans un laboratoire d'urgence fonctionnant 24h/24 365 jours par an, avec un technicien polyvalent sur place la nuit et un d'astreinte pour le secteur d'immuno-hématologie.

Il est constitué de plusieurs secteurs né de la réunion des 2 laboratoires en 2010 : le secteur de biochimie, le secteur d'hématologie-bactériologie et le secteur d'immuno-hématologie dont les locaux sont partagés avec le site EFS (les techniciens de ce secteur sont mis à disposition par l'hôpital)

L'équipe du laboratoire est composée de 4 biologistes, un cadre, 28 techniciens (25,5 ETP), 4 secrétaires (3,5ETP) et 3 agents de services hospitaliers (2,5ETP).

Le laboratoire réalise plus de 98 % de ses analyses sur site et travaille en collaboration avec les laboratoires du CHU de Caen et le laboratoire privé CERBA.

1.3 Organisation de la qualité

Le Centre Hospitalier de Lisieux possède un service qualité composé d'un responsable qualité et d'un gestionnaire de risques.

En 1998, une démarche qualité a été instaurée au laboratoire grâce à la mise en place du GBEA mais s'est vite essouffée. Puis en lien avec la politique qualité générale de l'établissement, le laboratoire du CH Robert Bisson s'est engagé depuis 2010 dans une démarche qualité afin d'assurer à l'ensemble de ses clients des prestations en tous points conformes à leurs exigences et à la norme internationale ISO 15189 V2012 (1). Le laboratoire a décidé de solliciter un accompagnement à l'accréditation par l'organisme Bioqualité (puis BioConsultants).

La première visite en décembre 2015 par les auditeurs COFRAC, nous a permis d'être accrédité à 17% dans les secteurs Biochimie, Hémostasie et Sérologie. Actuellement le laboratoire est accrédité à 50% suite à notre demande d'ajout d'analyse dans le secteur Biochimie et à notre visite de suivi en mars 2017.

2. Objectifs et déroulement du projet

2.1 Etat des lieux

En 2016, le laboratoire possède 2 appareils à gaz du sang :

- Rapidlab 1265 mise en route en 2007 (appareil principal)
- Opticca Roche mise en route en 2003 (appareil de secours)

Avec la vétusté des appareils, les pannes et les erreurs de contrôles externes sont de plus en plus fréquents (cf. Tableau récapitulatif du nombre de pannes et contrôles externes non conformes).

Tableau récapitulatif du nombre de pannes et contrôles externes non conformes :

Appareil	2015			2016		
	Nombres de pannes	Nombres de résultats EEQ probioqual Non-Conforme	Nombres de résultats ANSM Non-Conforme	Nombres de pannes	Nombres de résultats EEQ probioqual Non-Conforme	Nombres de résultats ANSM Non-Conforme
Rapidlab 1265	>5	4 EEQ sur 6 avaient certains paramètres non conformes	2 paramètres dont les résultats étaient à contrôler sur le contrôle ANSM de l'année	>5	1 EEQ sur 8 avait certains paramètres non conformes	0/1

Roche Opticca	3	4 EEQ sur 6 ont certains paramètres non conformes	1 paramètre dont le résultat était à contrôler sur le contrôle ANSM de l'année	1	6 EEQ sur 8 ont certains paramètres non conformes	1 paramètre dont le résultat était non conforme sur le contrôle ANSM de l'année
---------------	---	---	--	---	---	---

Aucun contrat de maintenance n'est établi pour ces 2 appareils, ce qui entraîne surcoût lors des réparations.

Chaque année le laboratoire organise une revue de direction, comme l'impose norme ISO 15189 (1) (chapitre 4.15 « Revue de direction ») permettant de faire un point sur les automates du laboratoire et d'envisager les différents changements à réaliser.

Bilan de la revue de direction de 2016 pour ces 2 appareils :

Nombreuses Pannes + nombreux EEQ Non-conformes → **Demande de nouveaux appareils**

L'objectif du laboratoire, après acquisition de ces nouveaux appareils, est d'accréditer les examens sur automate de gaz du sang. Selon le SH INF 50 version 4 (2), les analyses réalisées sur les gaz du sang se trouvent dans le domaine Biologie Médicale, sous domaine Biochimie-Génétique et famille Biochimie générale et spécialisée (BIOCHBM). Cette ligne de portée étant déjà ouverte lors de notre première demande d'accréditation en 2015, le laboratoire fera un ajout de la portée d'accréditation.

Extrait du SH INF 50 version 4 (2): « *Tableau de portée d'accréditation* »

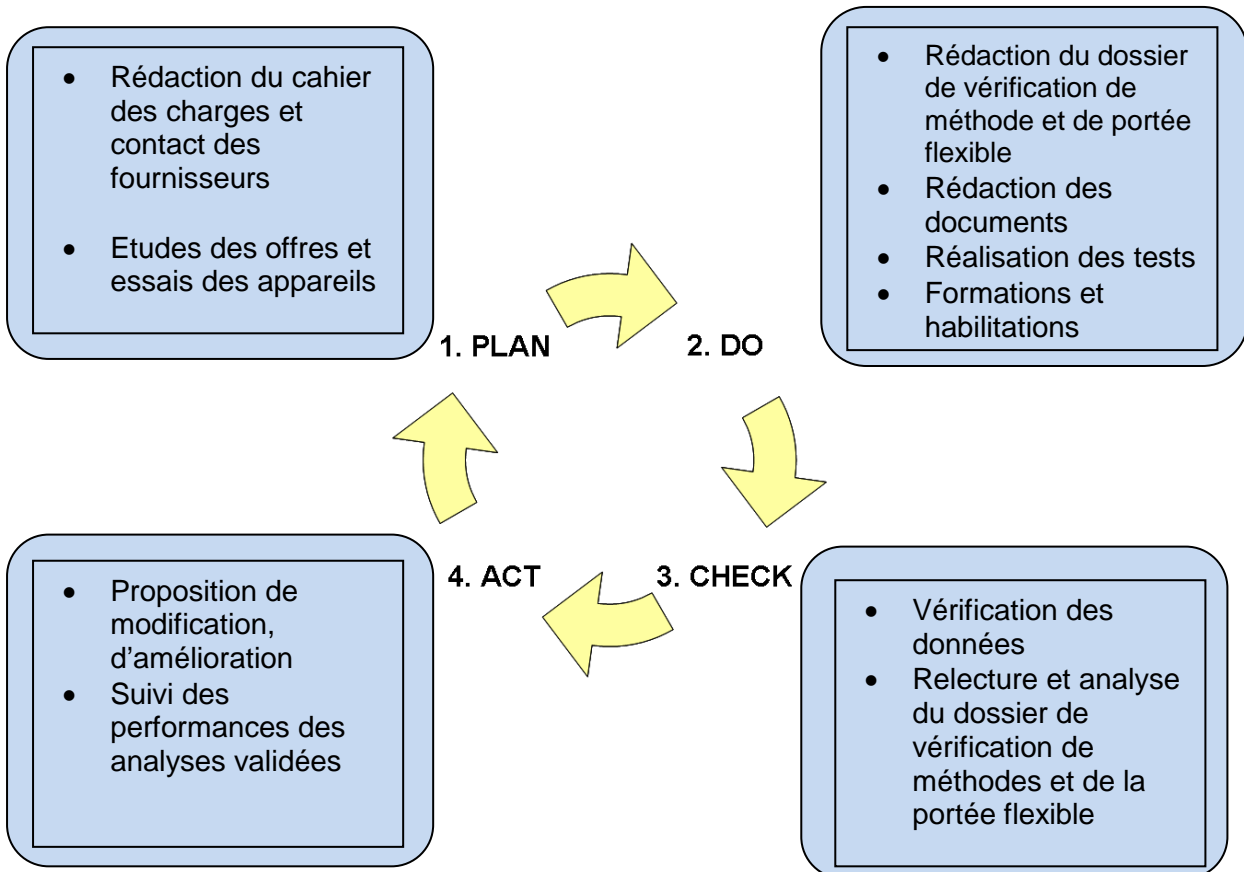
Domaine : Biologie médicale - Sous-domaine : Biochimie – Sous-famille : Biochimie générale et spécialisée (BIOCHBM) »

Code	Nature de l'échantillon biologique	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres critiques, ...)
BB1	Echantillons biologiques d'origine humaine Dispositifs implantables	Détermination de la concentration d'analytes de biochimie et/ou d'activité enzymatique Type d'analytes : substrats-métabolites, électrolytes, enzymes, protéines (immunoglobulines, complément, HbA1c, peptides, ...), hormones, marqueurs tumoraux, marqueurs cardiaques, gaz du sang, vitamines, minéraux - oligo-éléments, xénotoxiques (médicaments, stupéfiants, drogues-toxiques, ...)	Méthode de type quantitatif Principe général des techniques : - Spectrophotométrie, Néphélométrie et Turbidimétrie, - Réfractométrie – Réfectométrie, - Enzymatique et Immunoenzymatique, - Fluorescence, Immunofluorescence et Chimiluminescence, - Electrochimie	Méthodes reconnues (A)	

2.2 Méthodologie

Le projet a été organisé selon la roue de Deming (PDCA)

- P : « Plan » préparation et planification du travail (ce que l'on va réaliser)
- D : « Do » réalisation des actions
- C : « Check » vérifications des actions mises en place
- A : « Act » prendre des mesures correctives pour atteindre les objectifs



2.3 Etapes du projet

- Rencontre des différents fournisseurs
- Essais des différents appareils pendant 48h au laboratoire
- Evaluations des offres et des essais
- Commande des appareils
- Etudes de la réorganisation de la paillasse
- Livraison des 2 appareils
- Rédaction du formulaire de la portée flexible
- Maitrisés des risques
- Création ou modification des documents
- Réalisation des répétabilité, comparaisons de méthodes entre les différents automates et analyse des résultats
- Formation et habilitation du personnel
- Rédaction des dossiers de vérifications de méthodes SH FORM 43
- Mise en place d'indicateur

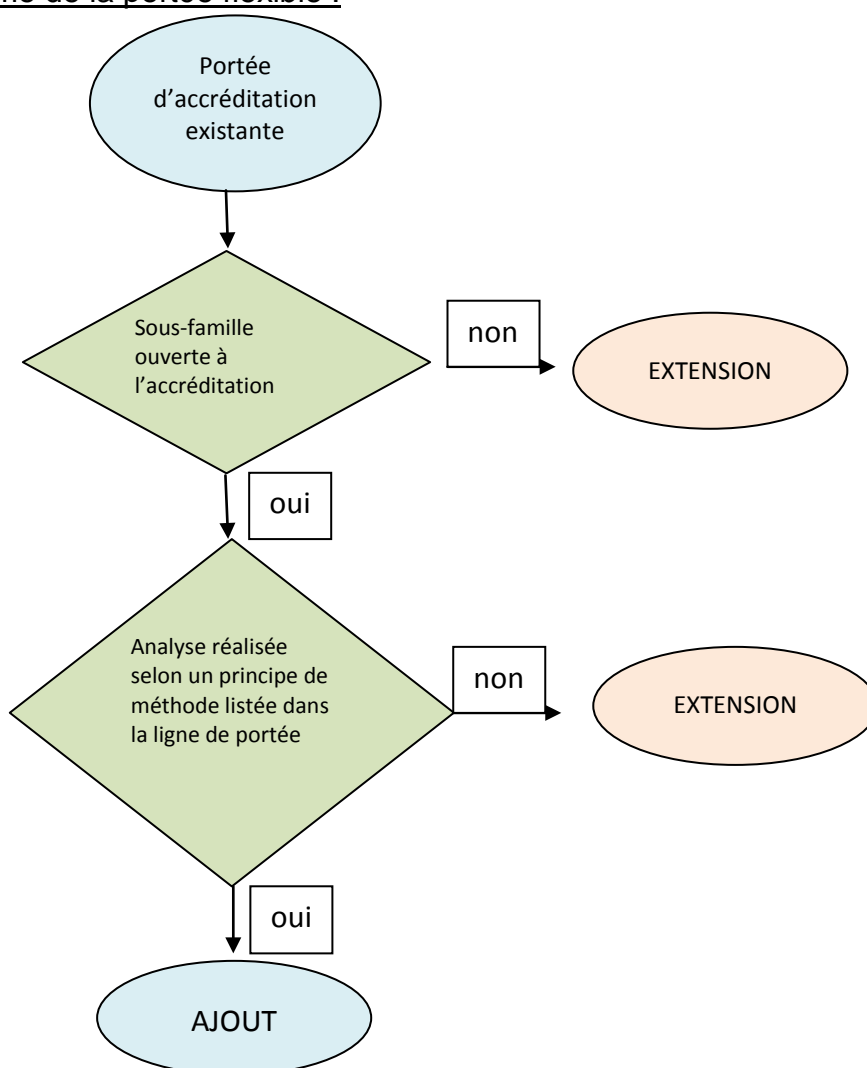
- Relecture des dossiers de vérification de méthodes et de portée flexible
- Proposition d'amélioration

3. Vérification sur site des performances des appareils à gaz du sang

3.1 Portée flexible

Pour les gaz du sang, la méthode est de type quantitatif car elle fournit un résultat chiffré sur une échelle continue à partir de la mesure d'un signal en relation directe avec une quantité. Nous sommes en portée flexible standard A (cf. SH REF 08 (3)).

Logigramme de la portée flexible :



- Formulaire de portée flexible :
Cf. Annexe I Formulaire de portée flexible

3.2 Maitrise des risques

La maîtrise des risques est présentée sous forme d'un tableau selon une analyse des 5M (main d'œuvre, méthode, milieu, matériel, matière) et la méthode AMDEC (Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité). Elle est détaillée pour les étapes du pré-analytique, analytique et post-analytique. Pour chaque processus de réalisation sont envisagés tous les points critiques concernant le personnel (formation, évaluation des compétences), la méthode, les locaux et conditions environnementales (conditions ambiantes), les réactifs et équipements (lots, recommandations fournisseurs, maintenance, ...), et la qualité des échantillons analysés.

L'évaluation des risques doit se faire de manière globale et exhaustive (aborder et lister tous les risques) en s'appuyant sur la prise en compte des situations de travail réelles.

Après identification, les risques sont évalués selon leur nature (gravité de leurs conséquences), la fréquence ou probabilité d'apparition et des moyens de prévention déjà en place. Chaque critère est évalué dans une plage de note allant de 1 à 4.

G Echelle de gravité	1	Mineure
	2	Significative
	3	Grave
	4	Critique

F Fréquence	1	Nulle ou Occasionnelle
	2	Ponctuelle
	3	Fréquente
	4	Continue

P Mesure de préventions existantes	1	Très efficace
	2	Efficace
	3	Moyennement efficace
	4	Inefficace

Lorsque les 3 critères ont été évalués, le produit des 3 notes obtenues permet de calculer la criticité. Plus la note est élevée, plus sa sévérité est grande.

Criticité = G (gravité) x F (fréquence) x P (prévention)
--

Les seuils de criticité et actions à engager sont définis selon les tableaux suivants :

Criticité	<6	Risque acceptable	Pas d'action engagée
	>6 et <24	Risque moyennement acceptable	Priorité d'action 3 = pas d'urgence, action planifiée à long terme
	>24 et <48	Risque élevé	Priorité d'action 2 = urgence relative, action planifiée à court ou moyen terme
	>48	Risque inacceptable	Priorité d'action 1 = urgence, action planifiée à très court terme

G x F	Très élevé 12-16				Priorité 1 >48
	Elevé 8-9			Priorité 2 >24 et < 48	
	Moyen 4-6		Priorité 3 >6 et <24		
	Faible 1-3	<6			
		Très efficace 1	Efficace 2	Moyennement efficace 3	Inefficace 4
P					

Cf. annexe II Maitrise des risques

3.3 Identification des performances à évaluer

Afin de répondre aux exigences de la norme, le laboratoire doit réaliser une vérification bibliographique et une évaluation des performances sur sites des paramètres effectués sur les appareils à gaz du sang. Cf. Annexe VIII Procédure : vérification/validation des méthodes

Tableau « Performances à évaluer »:

Critères à évaluer	Vérification en Portée A méthode quantitative
Répétabilité	Essai
Fidélité intermédiaire	Essai
Justesse	Essai
Exactitude	Essai
Incertitude	Essai
Étendue de mesure	Bibliographie
Comparaison de méthodes avec la méthode déjà utilisée au laboratoire et appareil en miroir	Essai
Interférences	Bibliographie
Contamination	Bibliographie
Robustesse et stabilité des réactifs	Bibliographie
Intervalles de référence	Bibliographie
Limite de détection	Bibliographie

3.4 Description de la méthode (A TRAVERS L'EXEMPLE DE LA pCO₂ sur ABL1)

Tableau « description de la méthode » :

Champ à renseigner	Description
Nom	pCO ₂ -ABL1
Portée	Portée A
Nom de l'analyse	pCO ₂
Automate	ABL FLEX 90 RADIOMETER 1
Analyse/Mesurande	pCO ₂ pression partielle en dioxyde de carbone dans le sang

Champ à renseigner	Description
Principe de mesure	Méthode automatisée de type quantitatif/Principe général de la technique : Électrochimie (potentiométrie)
Méthode de mesure	Méthode reconnue (portée flexible standard A)/NIST Les gaz utilisés pour la tonométrie sont traçable aux matériaux de référence étalons certifiés NIST
Type d'échantillon primaire	Sang total
Type de récipient, additifs	Seringue à gaz du sang avec héparine de lithium
Prétraitement de l'échantillon	NA
Unités	mmHg
Intervalles de référence	Cf. chapitre intervalle de référence
Marquage CE	Oui
Codage CQN	WRS
Référence du réactif	Mode d'emploi ABL 90 FLEX réf 996195 version 201604D (4)
Matériau d'étalonnage	Mode d'emploi ABL 90 FLEX réf 996195 version 201604D(4)
Raccordement métrologique	Les gaz utilisés pour la tonométrie sont traçable aux matériaux de référence étalons certifiés NIST
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs	Linéaire en 3 points

3.5 Mise en œuvre

Tableau « mise en œuvre » :

Champ à renseigner	Description
Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode	Corine Dudouit Gibory Jessie
Autorisation de mise en service par	Camille Lefevre
Procédure de gestion de la portée flexible	HD6-PR001 Gestion de la portée flexible version 4
Procédure de validation	HD6-PR002 Vérification/Validation des méthodes Version 3

3.6 Résultats et exploitation des données

A. Répétabilité (à travers l'exemple de la pCO₂ sur ABL1)

- Définition :

La répétabilité consiste à analyser dans un délai le plus court possible le même échantillon dans des conditions strictement identiques : même opérateur, même lot de réactif, même instrument, même calibrateur.... L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (instrument/réactif) pour le paramètre concerné.

- Evaluation :

L'essai de répétabilité est mené sur 2 niveaux de contrôles fournis (sous forme d'ampoule en verre) par Radiometer conformément au contrat signé avec le fournisseur à l'achat. Pour chacun des paramètres testés un niveau bas et haut est utilisé. Au moins 30 essais sont effectués pour chaque niveau de contrôle le 01/02/17 (niveau haut) et le 06/02/17 (niveau bas) afin d'obtenir une valeur statistique élevée. Les essais pour la répétabilité ont été effectués par le technicien de Radiometer conformément au contrat signé lors de l'achat des appareils.

Une fois les essais terminés, les valeurs obtenues sont rassemblées et sauvegardées dans le dossier de vérification des méthodes dans kalilab, pour pouvoir calculer les moyennes, CV et écart types. Ces valeurs sont ensuite comparées aux valeurs des sociétés savantes. Le laboratoire a choisi les CV limites de la société SFBC (5) (cf. annexe III Etat de l'art SFBC).

Tableau : Résultats de la répétabilité pour le paramètre pCO₂ sur ABL 1

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne	Ecart - type	CV (%)	CV (%) Limite (hors fournisseurs) (SFBC)	Conclusion
niveau bas	31	21.042	0.126	0.60	4.5	Conforme
niveau haut	32	68.506	0.141	0.21	3.8	Conforme

Les résultats des CV de répétabilité pour les 2 niveaux testés sont inférieurs aux données de la SFBC et répondent à nos exigences et donc conformes pour le paramètre pCO₂. (cf. annexe IV Résultats obtenus lors de la répétabilité)

B. La fidélité intermédiaire (à travers l'exemple de la pCO₂ sur ABL1)

- Définition :

La fidélité intermédiaire consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse en faisant varier au moins une des conditions : l'opérateur, le temps, les lots de réactifs, les calibrateurs peuvent être des données variables, correspondant à une activité normale et quotidienne du laboratoire.

- Evaluation :

L'essai de fidélité intermédiaire est mené sur 3 niveaux de contrôles présents dans la cassette de réactif fournie par Radiometer. Pour chacun des paramètres testés un niveau bas, moyen et haut est utilisé. Au moins 30 essais sont effectués pour chaque niveau de contrôle entre le 20/01/17 et 21/02/17 afin d'obtenir des résultats statistiquement significatifs.

Une fois les essais terminés, les valeurs obtenues sont rassemblées et sauvegardées dans le dossier de vérification des méthodes dans kalilab, pour pouvoir calculer les moyennes, CV et écart types. Ces valeurs sont ensuite comparées aux valeurs des sociétés savantes SFBC (5) (cf. annexe III Etat de l'art SFBC).

Tableau : Résultats de la fidélité intermédiaire pour le paramètre pCO₂ sur ABL 1

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne	Ecart - type	CV (%)	CV (%) Limite (hors fournisseurs) (SFBC)	Conclusion
S9030 niveau moyen	37	26.741	0.313	1.171	6.0	Conforme
S9040 niveau haut	33	66.603	1.950	2.927	5.0	Conforme
S9050 niveau bas	37	19.984	1.086	5.436	6.0	Conforme

Les limites d'acceptabilités fixées par le laboratoire sont les CV limite SFBC. Pour le paramètre pCO₂, les CV de fidélité intermédiaire sont inférieurs aux spécifications prédéfinies par SFBC (cf. annexe V Résultats obtenus lors de la fidélité intermédiaire).

Ainsi, la fidélité intermédiaire est conforme aux exigences fixées pour le paramètre pCO₂ des gaz du sang.

Pour le paramètre de la pO₂, nous avons rencontré certaines difficultés pour la fidélité intermédiaire. La réalisation des 30 points de contrôles (les solutions de contrôles se trouvent dans la cassette réactif) est obligatoirement effectuée sur au moins 2 cassettes de réactifs différentes. Nous avons utilisé 2 cassettes de réactifs de même lot de cassette. Le fournisseur Radiometer nous a expliqué que pour un même lot de cassette nous pouvions avoir des lots différents de contrôles avec des valeurs cycles légèrement différentes. Pour un des 3 niveaux de contrôles, le CV obtenu est supérieur au CV SFBC. Plusieurs solutions ont été envisagées :

- de réaliser les essais sur la même cassette donc en moins de 15 jours et nous obtenons moins de 30
- de garder uniquement 2 CQ (comme pour la répétabilité) pour le dossier de vérification de méthode

Selon SH GTA 04 (6), le laboratoire établit sa fidélité intermédiaire sur au moins 15 jours et 30 points avec 2 niveaux minimum. Nous avons donc pris la décision de prendre uniquement 2 niveaux de contrôles pour remplir le SH FORM 43 pour le paramètre de la pO₂.

C. Justesse

- Définition :

La justesse est l'étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence (ou valeur vraie).

Une approche de la justesse nécessite la comparaison de la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible. L'écart observé correspond au biais.

- Evaluation :

Non applicable, absence de CIQ externalisés.

D. Exactitude (à travers l'exemple de la pCO₂ sur ABL1)

- Définition :

L'exactitude est définie comme l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie d'un mesurande.

Une étude d'exactitude correspond à la comparaison du résultat d'un seul dosage d'un échantillon inconnu à une valeur cible consensuelle. L'écart observé correspond à l'inexactitude (erreur d'exactitude).

- Evaluation :

Pour évaluer l'exactitude, le laboratoire utilise les valeurs des EEQ.

L'évaluation est normalement plus pertinente avec un nombre d'échantillons plus élevé, mais les appareils venant juste d'être installés nous n'avons que 4 EEQ.

Tableau des valeurs pour l'exactitude :

Echantillon	Valeur labo	Cible groupe de pairs	Biais groupe de pairs (%)	Biais limite SFBC cf. annexe III (%)	Conclusion
17BK01	2.93	2.895	1.209	10.00	Conforme
17BK02	9.23	8.89	3.825	8.00	Conforme
17BK03	12.6	12.508	0.736	8.00	Conforme
17BK05	7.06	6.908	2.200	8.00	Conforme

Les Biais obtenues pour les 4 EEQ sont conformes selon les recommandations de la SFBC pour le paramètre de la pCO₂.

E. Incertitudes de mesure

- Définition :

L'incertitude de mesure est calculée selon la méthode CQI/EEQ, décrite dans le guide SH-GTA-14 (6) du COFRAC. Elle est estimée à partir des valeurs obtenues à la reproductibilité et des résultats des EEQ.

$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(EEQ)}$$

u^2 (CQI) = représente la variance de reproductibilité

u^2 (EEQ) = représente la variance liée à la justesse

- Evaluation :

Tableau des résultats des calculs de l'incertitude :

Mode de calcul (SH-GTA-14) (7)	CIQ + EEQ		
	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
U (c)	1.09	0.37	1.95
Incertitude élargie U = k(U _C) (k=2)	2.18	0.73	3.90
Incertitude en relatif (%)	10.92	2.74	5.86

Tableau de conclusion de l'incertitude de mesure :

Quantification de l'incertitude Niveau bas	19,98 +/- 2.18 mmHg (10.92%)	Exigence de performance (SFBC) Niveau bas	<20%	acceptable
Quantification de l'incertitude Niveau moyen	26.74 +/- 0.73 mmHg (2.74%)	Exigence de performance (SFBC) Niveau bas	<16%	acceptable
Quantification de l'incertitude Niveau haut	66.60 +/- 3.90 mmHg (5.86%)	Exigence de performance (SFBC) Niveau bas	<16%	acceptable

Les données d'incertitudes de mesure sont acceptables par rapport à notre utilisation et conformes aux données SFBC.

F. Etendue de mesure

L'appareillage étant marqué CE, les valeurs des intervalles de mesure sont issus du mode d'emploi ABL90 FLEX RADIOMETER (4).

Tableau étendue de mesure :

Paramètre mesuré	Gamme de mesure
pH	6.750-7.850
pO ₂	10-550 mmHg
pCO ₂	12-110 mmHg
SaO ₂	-2-102 %
Lactate	-0.1-31 mmol/L
Glycémie	0-47 mmol/L
Potassium	1.5-10.5 mmol/L
Calcium ionisé	0.1-2.70 mmol/L
HbCO	-2-103 %
Méthémoglobine	-2-103%

G. Contamination

Un cycle de rinçage est effectué après chaque mesure. Une fois l'échantillon retiré, le système est ensuite rincé avec un mélange de solution, et d'air/gaz. Puis l'appareil est rempli de CAL1 pour se préparer pour l'échantillon suivant. Il n'y a donc pas de possibilité de contamination.

H. Interférence

De nombreux tests ont été réalisés par la société Radiometer, pour évaluer les différentes interférences possible, sur du sang total et du plasma. Nous travaillons uniquement sur du sang total au laboratoire. Les tests montrent que pour des valeurs physiologiques élevées certains paramètres peuvent légèrement varier. Le laboratoire n'étant pas confronté à ces valeurs physiologiques élevées aucun test n'a été réalisé sur place.

I. Intervalle de référence

Tableau intervalle de reference:

Paramètre	Unité	Sang artériel	Source	Sang ombilical	Source
pH		7.35-7.45	Manuel ABL(4)	7.09-7.40	Heil***
pO ₂	mmHg	83-108	Manuel ABL		
pCO ₂	mmHg	35-48	Manuel ABL	35-80	Heil(8)
HCO ₃	mmol/l	22.2-28.3	Manuel ABL	22.2-28.3	
Excès de base	mmol/l	-7.0-2.0	Manuel AB	-7.0-2.0*	Fouse(9)
SaO ₂	%	95-99	Manuel ABL		
Lactate	mmol/l	0.50-1.60	Manuel ABL		
Glycémie	mmol/l	3.90-	Manuel		

		5.80	ABL		
Potassium	mmol/l	3.4-4.5	Manuel ABL		
Calcium ionisé	mmol/l	1.15- 1.29	Manuel ABL		
Hbco	%	0.5-1.5	Manuel ABL		
Méthémoglobine	%	<1.50	Manuel ABL		

J. Comparaison (à travers l'exemple de la pCO_2)

La comparaison entre les résultats obtenus avec une méthode A (utilisée par le laboratoire) et ceux obtenus avec la méthode B (à tester) permet de valider la comparabilité des résultats rendus par les deux techniques.

La comparaison de méthodes intervient en cas de changement d'automate, de méthode, méthodes en miroir, back-up ou EBMD (Examens de Biologie Médicale Délocalisés). Il est nécessaire d'établir une comparaison afin d'assurer la cohérence biologique des dossiers patients lorsque les mêmes examens sont traités par plusieurs analyseurs.

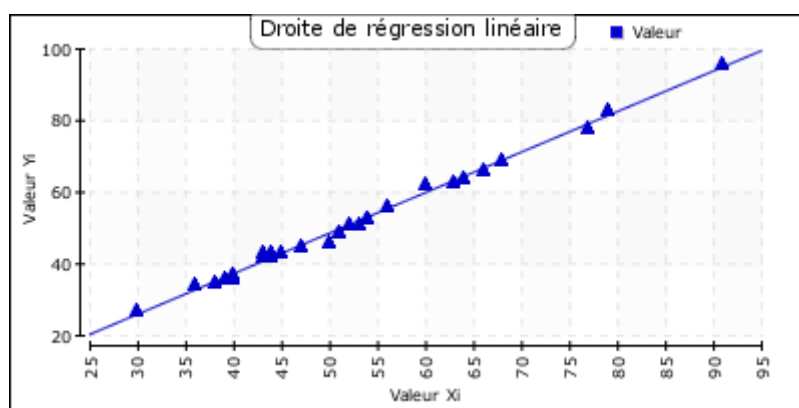
Dans le cadre d'appareils en miroir, la comparabilité des résultats doit être assurée, lors de la validation initiale, et de façon continue (utilisation des CIQ, EEQ, patients).

- Comparaison ABL 1 et Rapidlab1265 (ancien appareil)

La comparaison entre les 2 appareils est menée au moins sur 30 échantillons de patients, couvrant l'étendue du domaine physio-pathologique, dans les mêmes conditions de temps, par les deux techniques.

(cf. annexe VI Résultats obtenus lors de la comparaison ABL1 et Rapidlab)

Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et le Rapidlab 1265 pour le paramètre pCO_2 à partir de la droite de régression :



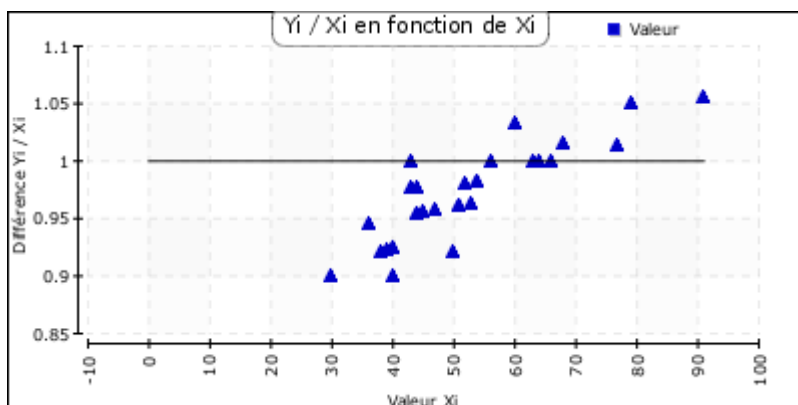
	X	Y
Moyenne	52.067	51.033
ET	13.960	15.823
b	-7.851	
a	1.131	
Y	1.131X + -7.851	
r	0.998	

X : valeur ABL 1

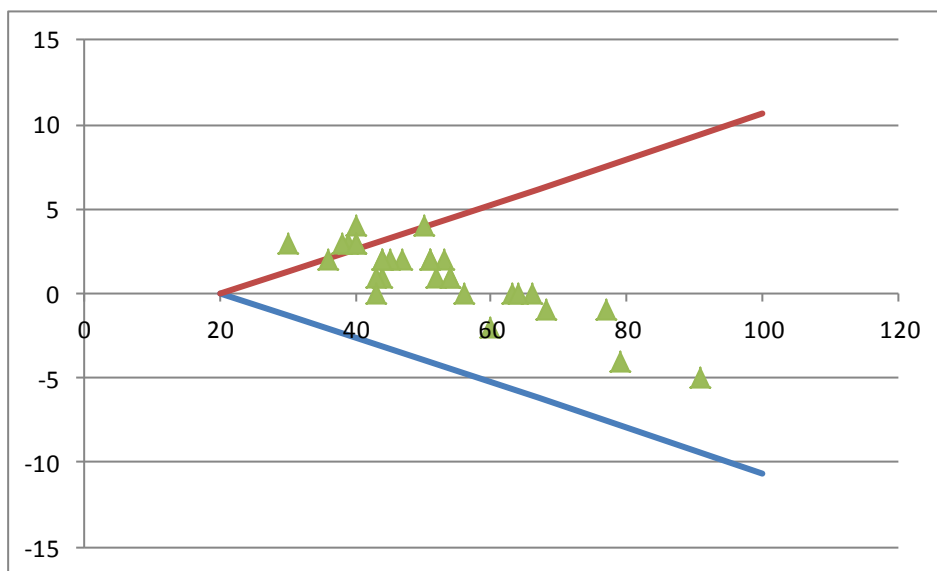
Y : valeur Rapidlab 1265

La pente de la droite de régression est de 0.998, très proche de 1. La similitude entre les résultats des 2 appareils est vérifiée et conforme pour la pCO_2 .

Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et le Rapidlab 1265 pour le paramètre pCO₂ à partir du graphique des rapports :



Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et le Rapidlab 1265 pour le paramètre pCO₂ à partir du graphique des différences:



Xi-Yi en fonction de Xi

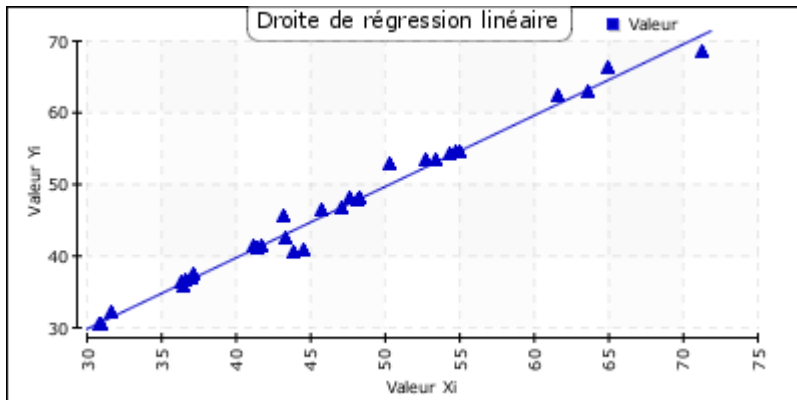
Nous pouvons conclure que la pente de la droite de régression est de 0.998, donc très proche de 1. Cependant pour le graphique des différences, nous avons obtenus 7 points sur 30 en dehors des limites. Ces 7 points sont du même côté, les valeurs du Rapidlab 1265 sont plus faibles que celle de l'ABL 1. L'ancienne technique n'étant plus fiable (d'où la nécessité de changement d'appareil avant l'accréditation des gaz du sang) les résultats sont valides.

- Comparaison ABL 1 et ABL 2 à l'installation

La comparaison entre les 2 appareils est menée au moins sur 30 échantillons de patients, couvrant l'étendue du domaine physio-pathologique, dans les mêmes conditions de temps, par les deux techniques.

(cf. annexe VII Résultats obtenus lors de la comparaison ABL1 et ABL2)

Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et l'ABL 2 pour le paramètre pCO₂ à partir de la droite de régression :

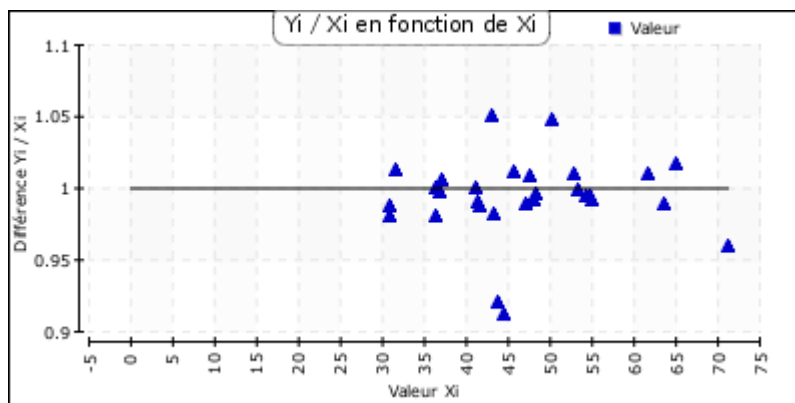


	X	Y
Moyenne	46.547	46.263
ET	10.316	10.330
b	0.031	
a	0.993	
Y	0.993X + 0.031	
r	0.992	

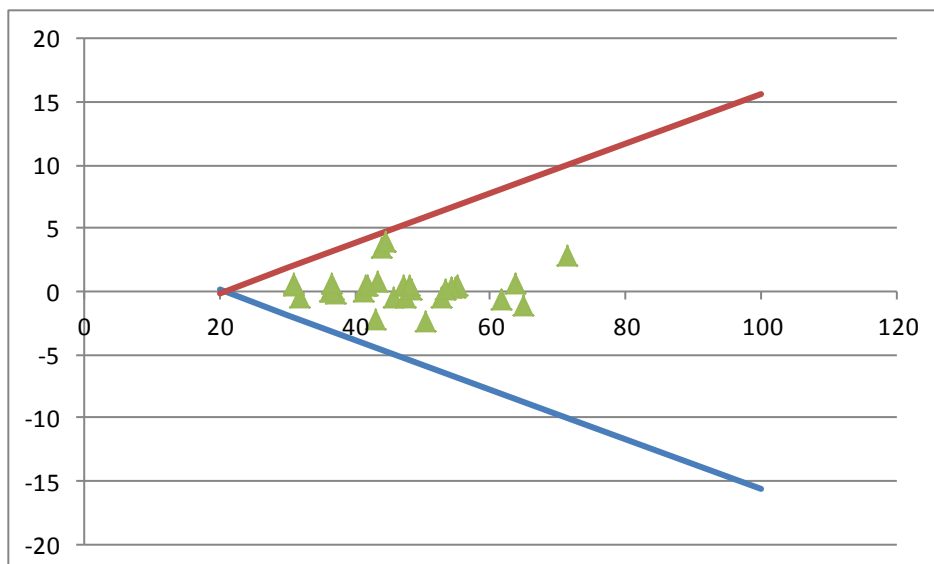
X : valeur ABL 1
Y : valeur ABL 2

La pente de la droite de régression est de 0.992, très proche de 1. La similitude entre les résultats des 2 appareils est vérifiée et conforme pour la pCO₂.

Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et l'ABL 2 pour le paramètre pCO₂ à partir du graphique des rapports :



Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et l'ABL 2 pour le paramètre pCO₂ à partir du graphique des différences:



Xi-Yi en fonction de Xi

Nous pouvons conclure qu'il n'y a pas de différences entre les 2 méthodes comparées. Aucun point est en dehors des limites, la pente de la droite de régression est de 0.992, donc très proche de 1. Les 2 techniques sont donc comparables.

- Comparaison ABL 1 et ABL 2 en routine

- mise en place:

Selon le SH GTA 01 rév 01 (10), si le laboratoire utilise au moins 2 analyseurs pour la réalisation de mêmes analyses, il doit mettre en place une comparaison entre les équipements à l'installation et à un intervalle régulier et défini.

En Août nous avons donc mis en place le passage de patients en parallèle sur les 2 automates pour s'assurer que les appareils sont comparables et ne dérivent pas. Des gaz du sang seront passés tous les mois sur les 2 appareils.

- Collecte des données : (A TRAVERS L'EXEMPLE DE LA pCO₂ sur ABL1 et 2)

Tableau résultats des patients pour la comparaison entre les deux ABL :

Date	Dossier	Ecart type	Résultats ABL 1	Résultats ABL 2	Différence entre ABL1 ET ABL2	2.77 fois écart type	Conclusion
02/08/17	23378	0.313	35.2	35.7	0.5	0.867	valide
01/09/17	29156	0.313	43.3	42.5	0.8	0.867	valide

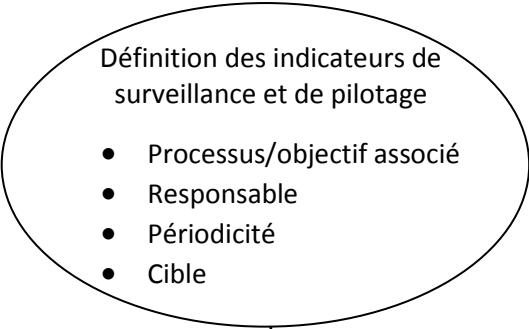
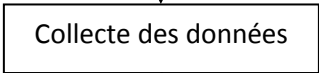
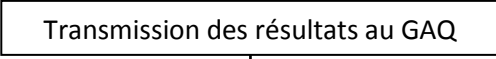
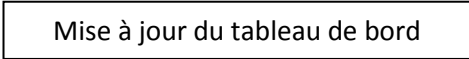
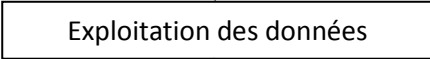
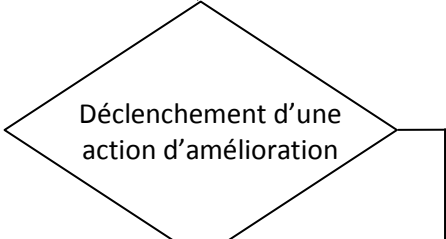
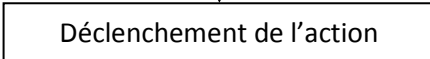

- Exploitation des résultats et actions d'amélioration :

Pour le paramètre de la pCO₂ la différence entre les résultats est bien inférieure à 2.77 fois l'écart-type de la fidélité intermédiaire. Les 2 appareils sont donc bien corrélés.

3.7 Indicateur

- Déroulement du suivi des indicateurs :

Logigramme « Déroulement du suivi des indicateurs » :

Responsabilités (personnel concerné)	Actions	Moyens/Méthodes
RAQ et cellule qualité		Carte d'identité des processus HB2-ENR001 « Tableau de bord de suivi des processus et objectifs »
Pilotes de processus GAQ et référents qualité		En fonction des périodicités définies
Pilotes de processus Référents qualité		HB2-ENR001 « Tableau de bord de suivi des processus et objectifs »
GAQ		En réunion qualité et/ou revue de direction
RAQ et cellule qualité		Fiche d'action corrective ou préventive enregistrée dans kalilab
RAQ et cellule qualité		Non
RAQ et cellule qualité		Oui
RAQ et cellule qualité		Transmission via logiciel de gestion documentaire des tableaux de bord et /ou comptes rendus de réunions
GAQ		

Indicateur : suivi des maintenances :

- mise en place de l'indicateur :

Lors de l'installation des nouveaux appareils ABL Flex 90, l'organisation du poste a été complètement revue. Les responsabilités pour le passage des gaz du sang et la réalisation des maintenances des appareils ont été modifiées. Elles étaient notées sur la fiche de poste des électrophorèses et maintenant elles sont sur le poste « des Urgences », poste occupé par tous les techniciens. Le personnel n'étant pas habitué à la réalisation régulière des maintenances de ces appareils, nous avons utilisé un indicateur mis en place au laboratoire surveillant mensuellement le taux de maintenances internes effectuées hors délais (cf. tableau des données collectées). La cible fixée par le laboratoire est un taux de maintenance hors délai < 10%.

Cet indicateur est analysé mensuellement en réunion qualité. En fonction des résultats, la cellule qualité peut décider le déclenchement d'actions d'amélioration (cf. logigramme « Déroutement du suivi des indicateurs »).

- Collecte des données :

Tableau des données collectées :

Mois	ABL 1			ABL 2		
	Effectuée à la date prévue	Déjà effectuée en retard mais dans les délais	Déjà effectuée en retard hors délais	Effectuée à la date prévue	Déjà effectuée en retard mais dans les délais	Déjà effectuée en retard hors délais
Mars	73%	13%	13%	73%	13%	13%
Avril	80%	6%	14%	80%	6%	14%
Mai	89%	5%	5%	89%	5%	5%
Juin	91%	6%	3%	91%	6%	3%
Juillet	92%	3%	6%	89%	5%	5%
Août	86%	5%	8%	89%	5%	5%

- Exploitation des résultats et actions d'amélioration :

Pour le mois de mars, l'objectif des 10% n'a pas été atteint. Premier mois après la mise en place des appareils, donc pas d'action d'amélioration mis en place.

Pour le mois d'avril, l'objectif n'est toujours pas atteint une action d'amélioration a été mise en place. Un rappel par mail a été fait aux techniciens et une note a été inscrite sur le tableau d'affichage, visible par tout le personnel du laboratoire pendant un mois.

Pour les mois de mai, juin, juillet et Août les objectifs sont atteints. Le rappel du mois d'avril a donc été efficace. Le suivi se fera jusqu'en fin d'année pour voir s'il n'y a pas de dérive.

Conclusion

L'installation de nouveaux appareils à gaz du sang au laboratoire a entraîné de nombreux changements dans l'organisation de la paillasse, avec de nouvelles responsabilités pour certains techniciens. Des formations ont donc été nécessaires pour tout le personnel concerné, avec des rappels réguliers au début notamment concernant la réalisation des maintenances. Tous les documents qualité ont été modifiés afin de faciliter la manipulation des appareils.

Pour pouvoir présenter au COFRAC les analyses réalisés sur les 2 appareils afin d'être accrédité, nous avons réalisé tous les essais nécessaires à la création des dossiers de vérification de méthode. Après avoir rempli tous les dossiers (cf. Annexe IX Extrait SH FORM 43 : pCO₂ ABL90 FLEX 1) nous pouvons conclure que nos méthodes sont répétables, reproductibles et exactes. Lorsque nous auront relu et vérifié tous les dossiers, le laboratoire fera une demande d'ajout d'accréditation en 2019.

Nous avons rencontré certaines difficultés lors de la réalisation des essais pour la fidélité intermédiaire à cause du changement lot de CQ dans des cassettes réactif de même lot. Nous avons pris la décision de garder 2 niveaux de CQ pour le paramètre de la pO₂.

Nous avons aussi rencontré certaines complications lors de la réalisation de la comparaison de méthode entre l'ancienne technique et la nouvelle technique puisque l'ancien appareil n'était plus considérée comme fiable.

La date de réalisation des maintenances n'était pas toujours respectée dans les premiers mois après l'installation, les rappels mis en place ont été efficaces et ont permis de revenir dans les objectifs fixés par le laboratoire.

Bibliographie

1. Norme NF EN ISO 15 189, version 2012.
2. SH INF50 Portées-types d'accréditation, rev 04, 04/2017.
3. SH REF08 : Expression et évaluation des portées d'accréditation, rev 05, 04/2017.
4. Manuel de référence de l'ABL800 FLEX. Radiometer Medical Aps, 2700 Bronshoj, Danemark, 2006.
5. A. Vassault and *al.* Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. Annales de Biologie Clinique. 1999 ; 57(6) : 685-95.
6. SH GTA 04 : Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale, rev 01, 04/2015.
7. SH GTA 14 : Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale, rev 00, 10/2011.
8. Heil W, Koberstein R, Zawata B. Reference ranges for adults and children; reanalytical considerations. Wuppertal: Roche Diagnostics GmbH, 2001.
9. Fouse BL. Reference range evaluation for cord blood gas parameters. www.bloodgas.org as accessed 17-07-2003
10. SH GTA 01 : Guide technique d'accréditation en biologie médicale, rev 01, 04/2015.

ANNEXES

ANNEXE I Formulaire de portée flexible

ANNEXE II Maitrise des risques

ANNEXE III Etat de l'art SFBC

ANNEXE IV Résultats obtenus lors de la Répétabilité

ANNEXE V Résultats obtenus lors de la fidélité intermédiaire

ANNEXE VI Résultats obtenus lors de la Comparaison entre ABL1 et Rapidlab

ANNEXE VII Résultats obtenus lors de la Comparaison entre ABL1 et ABL2

ANNEXE VIII Procédure : vérification/validation des méthodes

ANNEXE IX Extrait SH FORM 43: pCO₂ ABL90 FLEX 1

ANNEXE I Formulaire de portée flexible

NATURE DE L'ÉVÉNEMENT : Renouvellement des automates de gaz du sang

Secteur impacté : Biochimie

Examen(s) concerné(s) : **Gaz du sang**

Impact potentiel sur :	Impact (oui/non) Si oui, actions	ACTEUR(S)	Date de réalisation	ÉLÉMENTS DE TRACABILITÉ
Gestion financière, des achats, des stocks et du matériel				
Etude des offres et choix du fournisseur (avec vérification des conditions d'installation)	OUI Présentation et essai 48 heures au laboratoire par les 4 sociétés	C. Lefèvre A. Legros T. Devaux	Juillet et août 2016	Calendrier Rapports avec notes
Commande	NON	T. Devaux Cellule des marchés	Janvier	Bon de commande
Livraison	NON	Société Radiometer	Février 2017	Bon de livraison
Dispositions logistiques	OUI - Anticipation réorganisation paillasse pour mise en service de 4 automates en même temps - Installation de 2 nouvelles prises réseau et 2 nouvelles prises ondulées	C. Lefèvre F. Aubert T. Devaux Electriciens	Janvier 2017 Janvier 2017	
Qualification du matériel avant mise en service	OUI Répétabilité	M. Herbel	Février 2017	Compte-rendu d'intervention <i>Annexé</i>
Liste des équipements critiques	OUI Fiche signalétiques	E. Corbon J. Gibory	Février 2017	Kalilab

Impact potentiel sur :	Impact (oui/non) Si oui, actions	ACTEUR(S)	Date de réalisation	ÉLÉMENTS DE TRACABILITÉ
Middleware (paramétrage, matériel nécessaire, mise à jour logiciel...)	OUI - Paramétrage du TAD	A. Calando	Février 2017	CR dossier test 7020737117 GDS 7020737118 HbCO methB 7031444896 GDSV 7021669134 sans Caio 7031044126 RE gly lact
Logiciel Qualité (paramétrage, mise à jour...)	OUI - Affectation paramètres existant aux nouveaux automates - Création fournisseur - Création produits	E. Corbon	Février 2017	Kalilab
Préanalytique				
Fiches du catalogue des examens (création/mise à jour)	NON	-	-	-
Manuel de prélèvement	NON	-	-	-
Feuilles de demande	NON	-	-	-
Documents préanalytiques (révision/rédaction)	OUI Révision du document HA1-ENR003 « Liste des examens »	E. Corbon	Avril 2017	Kalilab
Analytique				
Vérification/ validation de méthode	OUI	M. Herbel C. Dudouit C. Lefèvre J.Gibory	Février 2017	Kalilab

Impact potentiel sur :	Impact (oui/non) Si oui, actions	ACTEUR(S)	Date de réalisation	ÉLÉMENTS DE TRACABILITÉ
Gestion des CQI, EEQ, CQN	<p>OUI</p> <ul style="list-style-type: none"> - Révision HD3b-MO004 « Mode opératoire de l'appareil à gaz du sang » -Révision HD1-INS004 « Centre Toulousain pour le Contrôle de Qualité en Biologie (CTCB) » - Révision HD1-INS007 « Probioqual » -création et rédaction du document « Mode opératoire pour le passage des EEQ sur ABL 1 et 2 » 	<p>E. Corbon C. Dudouit C. Lefèvre G. Deveaux</p>	<p>Mars 2017</p>	<p>Kalilab</p>

Impact potentiel sur :	Impact (oui/non) Si oui, actions	ACTEUR(S)	Date de réalisation	ÉLÉMENTS DE TRACABILITÉ
Données du CR d'examen (ajout/modification)	OUI - Dossier Test	C. Lefèvre A. Calendo		CR dossier test 7020737117 GDS 7020737118 HbCO MetHb 7031444896 GDSV 7021669134 sans Caio 7031044126 RE
Information des prescripteurs (et prestation conseil....)	OUI modification des comptes rendus de résultats avec indication du changement de l'appareil et des valeurs de références			CR dossier test 7020737117
Documents postanalytiques (révision/rédaction)	OUI Révision du document HD2-INS009 « Consignes de vérification technique- Secteur Biochimie Gaz du sang »	C. Lefèvre	Février 2017	kalilab

Biologie délocalisée

Intégration de l'activité au CEEBMD	NON			
Mise à jour rédaction contrat	NON			

Gestion des ressources humaines

<p>Besoins en nouvelles compétences</p> <p>-</p> <p>-</p> <p>externes</p>	<p>Personnel</p> <p>Formation</p>	<p>OUI</p> <p>Formations technicien Radiometer sur site</p> <p>Formation niveau 2</p>	<p>Cf. Annexe</p>	<p>Février 2017</p> <p>Liste émargement <i>annexée</i></p>
<p>Fiches de taches</p> <p>Fiches de postes (création/modification)</p>	<p>NON</p> <p>OUI</p> <p>- Révision du document HG1-ENR051 « Fiche de poste des urgences »</p>	<p>J. Gibory</p> <p>C. Lefèvre</p> <p>E. Corbon</p>	<p>Février 2017</p>	<p>Kalilab</p>
<p>Formation/habilitation du Personnel</p>	<p>OUI</p> <p>- Formation sur site par le technicien Radiometer</p> <p>- Révision du document HG1-FOR031 « Grille de formation et d'habilitation « Urgences »</p> <p>- Révision du document HG1-ENR057 « Corrections de l'évaluation théorique : questions de connaissance »</p> <p>- Habilitation de l'ensemble du personnel concerné</p>	<p>C. Lefèvre</p> <p>E. Corbon</p> <p>J. Gibory</p>	<p>Février 2017</p>	<p>Kalilab</p> <p>Liste émargement <i>annexée</i></p>
<p align="center">Locaux, hygiène et sécurité</p>				

Gestion des déchets (nouveaux risques, nouveaux besoins en matériels...)	NON	-	-	-
---	-----	---	---	---

Pilotage stratégique, management et organisation

Contrats (création/révision)	OUI - Création des nouvelles références dans Magh2/Kalilab	E. Corbon	Janvier 2017	Fiches dans Kalilab
Déclaration (agrément, CNIL, ANSM...)	NON	-	-	-
Information laboratoires clients – services support...	NON Service support Biomédical impliqué depuis le début du processus	-	-	-

Maitrise documentaire et amélioration de la qualité

Indicateur	NON	-	-	-
Enquête de satisfaction	NON	-	-	-
Audit interne	NON	-	-	-

Conclusion

Validation globale des étapes précédentes	-	C. Lefèvre E. Corbon J. Gibory	06/02/17	
Mise en service/date d'effet	OUI	C. Lefèvre	07/02/17	1 ^{er} dossier patient 7020736955
Mise à jour de la liste détaillée et transmission au Cofrac	NON	E. Corbon G. Salaün-Beretta		

ANNEXE II Maîtrise des risques

Processus	Classification 5M	Points critiques	Gravité	Fréquence	Eléments à maîtriser	Moyen de maîtrise	Prévention	Criticité
Préanalytique	Main d'œuvre	préleveurs	4	2	Réalisation du prélèvement	<p><u>Prélèvements effectués au laboratoire :</u> Dossier personnel pour chaque agent comprenant diplômes (capacité de prélèvement), contrats, formations, certificats médicaux, fiches de poste et grilles de formations et d'habilitation Habilitation spécifique du personnel (HG1-ENR012 « Fiche de poste Prélèvements » et HG1-FOR013 « Grille de formation et d'habilitation préleveurs ») et maintien de compétence assuré pour les préleveurs du laboratoire; réévaluation des habilitations tous les 2 ans ou en cas d'absence de plus de 6 mois. Procédure de gestion des compétences (HG1-PR002 « Gestion des compétences »). Diffusion du manuel de prélèvement du laboratoire.</p> <p><u>Prélèvements hors laboratoire :</u> Préleveurs diplômés d'état. Diffusion du manuel de prélèvement du laboratoire sur l'intranet.</p> <p>Convention entre le laboratoire et la DSSIRMT. Consignes données par le laboratoire sur les conditions de transport et de dépôt des échantillons.</p>	1	8
		coursiers	4	1	transport des échantillons	<p>Consignes données par le laboratoire sur les conditions de transport et de dépôt des échantillons. Cf Manuel de prélèvement</p>	1	4

	Méthode	enregistrement et étiquetage des examens secrétaires, techniciens et biologistes	4	1	correspondance entre l'identité du patient et l'indentification de l'échantillon	Habilitation du personnel (HG1-ENR014 « Fiche de poste Secrétariat » et HG1-ENR015 « Grille de formation et d'habilitation Secrétariat-Enregistrements ») Diffusion du manuel de prélèvement du laboratoire. Respect de la procédure HC1-PR001 « Réception et traitement des demandes d'examens ».	1	4
		Conditions de prélèvement	4	3	Absence de bulles et de caillots dans la seringue Volume suffisant présence de renseignement sur la feuille de demande (heure du prélèvement, température du patient, oxygénothérapie)	Respect du manuel de prélèvement : manuel diffusé à tous les préleveurs avec formation et sensibilisation auprès des infirmières de l'établissement (étiquetage, délai d'acheminement, importance des renseignements cliniques). L'absence de bulles dans le prélèvement et le volume minimum sont contrôlés à réception selon des critères d'acceptation ou de refus des échantillons définis. Une non-conformité est éditée lorsque le volume et/ou l'aspect du plasma/sérum ne correspondent pas à ceux requis. (HC1-PR001 « Réception et traitement des demandes d'examens »).	1	12
		Etiquetage des échantillons	4	2	identification univoque de l'échantillon et du bon de demande	L'identification des échantillons, l'adéquation de la seringue avec l'examen demandé est contrôlé à réception selon des critères d'acceptation ou de refus des échantillons définis dans HC1-PR001 « Réception et traitement des demandes d'examens ». Une non-conformité est éditée lorsque l'échantillon et/ou la demande ne correspondent pas aux pré-requis.	1	8

	Milieu	Conditions de transport des échantillons, conservation des échantillons avant analyse	4	2	température de transport de l'échantillon	<p>Mise en place de tournées par brancardiers de l'hôpital : récupération des prélèvements non urgents dans les services (HC3-ENR002 « Plan de ramassage dans les services ») ; circuit spécifique des prélèvements urgents au laboratoire (HC1-PR002 « Prise en charge d'une demande urgente »), monte-charge pour les urgences.</p> <p>Délais et conditions d'acheminement spécifiques précisés dans le manuel de prélèvement, pas de conservation préanalytique (réception du laboratoire opérationnelle 24h/24h) entre la réalisation du prélèvement et l'acheminement au laboratoire. Les délais d'acheminement pour les examens sensibles sont contrôlés à réception. Une non-conformité est éditée lorsque les délais sont dépassés (HC1-PR001 « Réception et traitement des demandes d'examens »).</p> <p>Enregistrement des températures de transport pour les prélèvements provenant de Pont-l'Evêque (HJ2-INS004 Suivi des températures de transport).</p>	1	8
	Matériel	seringue de 3ml et de 1ml avec de l'héparine de lithium	4	2	stock et conservation du matériel	<p>Suivi des stocks et des péremptions par logiciel de gestion des stocks.</p> <p>Contrôles visuels à réception des commandes et stockage selon les conditions de conservation recommandées par le fournisseur avec suivi et enregistrement des températures des zones de stockage. (HK2-INS001 « Réception et stockage des réactifs et des produits consommables »).</p>	2	16
	Matière	type d'échantillon primaire	4	2	conditons préanalytique et volume minimum à respecter	<p>Respect du manuel de prélèvement.</p> <p>L'identification des échantillons, l'adéquation de la seringue avec l'examen demandé, le volume minimum sont contrôlés à réception par le laboratoire selon des critères d'acceptation ou de refus des échantillons définis. Une non-conformité est éditée lorsque le volume et/ou l'aspect du plasma/sérum ne correspondent pas à ceux requis.</p>	1	8

						(HC1-PR001 « Réception et traitement des demandes d'examens »). Alarme de l'automate en cas de volume insuffisant (détection de volume et de caillot).		
Analytique	Main d'œuvre	Techniciens, interne et biologiste	4	1	Formation (diplôme), la formation et le maintien des compétences du personnel	Dossier personnel pour chaque agent comprenant diplômes, contrats, formations, certificats médicaux, fiches de poste et grilles de formations et d'habilitation. Procédure de gestion des compétences (HG1-PR002 « Gestion des compétences »). Habilitation spécifique (HG1-ENR051 « Fiche de poste des urgences » et HG1-FOR031 « Grille de formation et d'habilitation "Urgences" »). Formation fournisseurs initiale pour les référents automate ; réévaluation des habilitations tous les 2 ans ou en cas d'absence de plus de 6 mois.	1	4
	Méthode	Passage de l'échantillon	4	2	Agitation manuelle	Respect des modes opératoires HD3b-MO004 « Mode opératoire de l'appareil à gaz du sang »,	1	8
		Mode opératoire d'analyse Justesse et fidélité de la méthode Vérification technique	4	1	Résultats des CQI et EEQ Respect des maintenances	Respect des modes opératoires HD3b-MO004 « Mode opératoire de l'appareil à gaz du sang », Manuel technique du fournisseur et fiches techniques des réactifs disponibles dans le logiciel qualité. Vérification initiale de la méthode selon la procédure HD6-PR002 « Vérification/Validation des méthodes », données consignées dans le dossier de validation des méthodes. Vérification de l'exactitude à l'aide du programme d'évaluation externe de la qualité (HD1-PR002 « Gestion des Evaluations Externes de la Qualité (EEQ) »).	1	4

	Milieu	Température et hygrométrie	3	1	relevé des températures	Température et hygrométrie : climatisation installée dans le laboratoire, vérification et enregistrement continu des températures des pièces techniques et zones de stockage par des sondes vérifiées métrologiquement reliées à une centrale de température.	1	3
		Poussière	2	1	respect de l'entretien	Entretien : Nettoyage et entretien périodique des locaux (HL3-MO001 « Nettoyage et entretien ») tracés (HL3-ENR001 « Enregistrement des opérations de nettoyage et d'entretien »).	1	2
		Conditions de stockage des réactifs	3	1	relevé des températures	Conservation des réactifs et produits consommables selon les recommandations fournisseur dans des enceintes thermostatées et cartographiées listées dans la fiche d'enregistrement HJ2-ENR002 « Caractéristiques métrologiques du matériel du laboratoire ».	1	3
	Matériel	Automate	4	2	Respect des maintenances Panne automate	Maintenances internes selon les recommandations fournisseurs; maintenances externes selon les recommandations fournisseurs, notifiées et tracées dans le logiciel qualité et sur les automates (HD3b-MO004 « Mode opératoire de l'appareil à gaz du sang »). Procédure disponible en cas de panne d'automate (HJ1-PR002 « Procédure dégradée en cas de panne d'un automate »)	1	8
		Centrale de température/sondes, réfrigérateurs, chambre froide	3	1	respect des température	Le laboratoire assure une gestion de ses équipements critiques : Caractérisation des enceintes thermostatées destinées à la conservation des échantillons et réactifs réalisée et disponible dans le laboratoire. Températures des enceintes et des zones de stockage suivies et enregistrées à l'aide de sondes vérifiées métrologiquement reliées à une centrale de température. Les enceintes thermostatées sont caractérisées périodiquement et les sondes de température sont	1	3

						étalonnées et vérifiées annuellement par un prestataire externe accrédité COFRAC (les certificats sont disponibles dans le laboratoire) selon la procédure HJ2-PR001 « Procédure de gestion métrologique ».		
	Matière	Seringue à gaz du sang	4	2	Remplissage de la seringue absence de caillot absence de bulle	Respect du manuel de prélèvement Respect des modes opératoires HD3b-MO004 « Mode opératoire de l'appareil à gaz du sang »,	1	8
		Réactif et CQI	4	1	Péremption des réactifs et consommables Résultats des CQI	Suivi des péremptions par logiciel de gestion des stocks. Suivi des CQI sur les automates	1	4
Postanalytique	Main d'œuvre	Biologiste et interne (validation biologique), secrétaire (diffusion des résultats)	4	1	Formation (diplôme), la formation et le maintien des compétences du personnel	Formation initiale (habilitation) et continue des biologistes; réévaluation des habilitations tous les 2 ans ou en cas d'absence de plus de 6 mois (HG1-ENR003 « Grille de formation et d'habilitation de l'interne et du biologiste médical en hématologie et biochimie »). Les résultats sont libérés selon la procédure HE2-PR001 « Transmission et diffusion des résultats » Habilitation du personnel (HG1-ENR014 « Fiche de poste Secrétariat » et HG1-ENR015 « Grille de formation et d'habilitation Secrétariat-Enregistrements »)	1	4
	Méthode	Calculs, arrondis, chiffres significatifs	3	1	Traçabilité informatique	Vérification périodique des connexions informatiques à travers les EEQ (traités comme tout dossier patient).	1	3

	Matériel	Système informatique du laboratoire	3	1	Vérification des connexions Sauvagarde	Sauvegarde des données. Vérification des connexions et règles d'arrondis. Procédure dégradée en cas de panne informatique (HH3-INS003 « Mode dégradé en cas d'arrêt prolongé du SIL : Réception », HH3-INS010 « Mode dégradé en cas d'arrêt prolongé du SIL : gaz du sang »).	1	3
--	----------	-------------------------------------	---	---	---	--	---	---

ANNEXE III Etat de l'art SFBC

Etat de l'art

La définition des critères de qualité destinés à valider une méthode dans le domaine de la biologie clinique est du ressort du Biologiste (LAB GTA04 Chap. 10). Nous vous proposons néanmoins dans le tableau ci-après, les valeurs proposées par un Groupe d'Experts dont les conclusions ont été publiées sous la référence suivante :

Analyte	Unité	Domaine de mesure	Valeurs usuelles (adultes)	Niveaux		Intervalle %	Répétabilité CV%	Reproductibilité CV%	Justesse %	Inexactitude %
				Bas	moyen Haut		Bas Moyen Haut	Bas Moyen Haut	Bas Moyen Haut	Bas Moyen Haut
Ca ²⁺	mmol/L	0.20-5.00	1.05-1.30	0.60	1.00	1.50	1.2 - 1.2 - 1.2	1.6 - 1.6 - 1.6	1.7 - 1.7 - 1.7	2.3 - 2.3 - 2.3
Na ⁺	mmol/L	50 - 180	135 - 145	120	140	160	1.0 - 0.8 - 0.7	1.3 - 1.1 - 0.9	1.5 - 1.4 - 1.3	2.0 - 1.8 - 1.6
K ⁺	mmol/L	0.5 - 10	3.5 - 5.0	2.0	4.0	6.0	1.5 - 1.2 - 1.2	2.0 - 1.6 - 1.6	2.9 - 3.1 - 3.1	3.5 - 3.5 - 3.5
Cl ⁻	mmol/L	50 - 200	96 - 108	80	105	120	1.2 - 1.2 - 1.2	1.6 - 1.6 - 1.6	1.9 - 1.9 - 1.9	2.5 - 2.5 - 2.5
PH	Unité	6.5- 8.00	7.36 - 7.42	7.20	7.40	7.55				
pH	mmol/ml		43.7 - 38.0	63.1	39.8	28.2	1.5 - 1.5 - 1.5	2.0 - 2.0 - 2.0	3.5 - 3.5 - 3.5	4.0 - 4.0 - 4.0
PO2	mmHg	0 - 800	70 - 95	20	80	200	1.5 - 1.5 - 1.5	2.0 - 2.0 - 2.0	9.8 - 7.7 - 7.7	10.0 - 8.0 - 8.0
pCO2	mmHg	10 - 200	35 - 44	20	40	100	4.5 - 3.8 - 3.8	6.0 - 5.0 - 5.0	8.0 - 6.2 - 6.2	10.0 - 8.0 - 8.0
HbO2	%	0 - 100	94 - 98	40	70	100	3.8 - 3.8 - 3.8	5.0 - 5.0 - 5.0	8.7 - 8.7 - 8.7	10.0 - 10.0 - 10.0
HbCO	%	0 - 100	< 1.5	5	10	15	7.5 - 3.8 - 3.8	10.0 - 5.0 - 5.0	17.3 - 14.1 - 8.7	20.0 - 15.0 - 10.0
metHb	%	0 - 100	< 1.5	0.1	1.5	4.5	18.8 - 11.3 - 7.5	25.0 - 15.0 - 10.0	16.6 - 20 - 11.2	30.0 - 25.0 - 15.0
Glucose	mmol/L	0.5 - 50.0	4.0 - 5.8	2.0	6.0	16.0	2.4 - 1.8 - 1.2	3.2 - 2.4 - 1.6	5.1 - 4.4 - 3.7	6.0 - 5.0 - 4.0
Lactate	mmol/L	0.2 - 15.0	0.4 - 2.0	1.0	3.0	8.0	3.8 - 3.8 - 3.8	5.0 - 5.0 - 5.0	8.7 - 8.7 - 8.7	10.0 - 10.0 - 10.0

Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques

Annales de Biologie Clinique. Volume 57, Numéro 6, 685-95, Novembre 1999, Articles originaux

Auteurs : A. Vassault, D. Grafmeyer, J. de Graeve, R. Cohen, A. Beaudonnet, J. Bienvenu

ANNEXE IV Résultats obtenus lors de la Répétabilité

Valeurs pour la répétabilité	
pCO ₂ (T) (mmHg) taux haut S9040	pCO ₂ (T) (mmHg) taux bas S9050
68,4	21,1
68,3	21,1
68,5	21,1
68,4	21,1
68,4	21,1
68,6	21,1
68,6	21,1
68,6	21,1
68,5	21,1
68,6	21,1
68,6	21,1
68,7	21,1
68,5	21,1
68,6	21,1
68,6	21,1
68,4	21,1
68,4	21,1
68,7	21,1
68,3	21,1
68,2	21,1
68,7	21,1
68,5	21,1
68,6	21
68,5	21
68,6	21
68,6	21
68,5	20,9
68,6	21
68,5	20,9
68,6	20,8
68,5	20,5
68,1	

ANNEXE V Résultats obtenus lors de la Fidélité intermédiaire

Valeurs pour la reproductibilité		
pCO2(T) (mmHg) taux1 S9030	pCO2(T) (mmHg) taux1 S9040	pCO2(T) (mmHg) taux2 S9050
26,2	63,1	17,8
26,1	63,1	17,7
26,4	62,2	17,7
26,5	62,4	18,2
26,4	63,4	17,9
26,6	63,2	18,2
26,6	63,9	17,8
27,1	67,4	20,6
26,9	67,1	20,4
26,6	67,3	20,8
26,6	67,1	20,3
26,6	67,1	20,4
27,2	67,7	20,7
26,6	68,4	20,7
26,6	67,4	20,5
27,2	67,3	21
26,7	67,9	20,4
26,5	68,4	20,5
27,5	68,1	20,9
26,9	67,7	20,6
27,4	67,2	21,1
26,8	67,9	20,4
26,7	68,4	20,4
26,9	67,8	20,6
27	67,6	20,5
26,9	67,5	20,8
26,9	67,6	20,5
26,9	67,4	20,5
26,9	67,6	20,5
26,8	67,7	20,4
26,7	67,3	20,3
26,6	67,9	20,4
26,5	65,8	20,6
26,6		20,2
26,7		20,3
26,2		20,1
27,1		18,7

ANNEXE VI Résultats obtenus lors de la Comparaison entre ABL1 et Rapidlab

Valeurs pour la comparaison ABL 1 et Rapidlab	
pCO ₂ (T) (mmHg) ABL1	pCO ₂ (T) (mmHg) Rapidlab
56	56
52	51
53	51
63	63
30	27
40	36
40	37
54	53
51	49
51	49
47	45
77	78
44	43
43	42
91	96
44	42
39	36
79	83
66	66
50	46
36	34
43	43
60	62
45	43
38	35
40	37
68	69
44	42
64	64
54	53

ANNEXE VII Résultats obtenus lors de la Comparaison entre ABL1 et ABL2

Valeurs pour la comparaison ABL 1 et ABL2	
pCO2(T) (mmHg) ABL1	pCO2(T) (mmHg) ABL2
43,90	40,40
54,80	54,50
41,20	41,20
50,40	52,80
36,40	36,40
63,70	63,00
43,20	45,40
71,30	68,40
31,00	30,40
37,20	37,40
45,80	46,30
44,60	40,70
37,00	36,90
31,70	32,10
55,10	54,60
47,60	48,00
52,80	53,30
54,40	54,10
65,00	66,10
36,60	36,60
30,90	30,50
41,50	41,10
41,80	41,30
47,10	46,60
61,70	62,30
53,40	53,30
43,30	42,50
36,50	35,80
48,30	48,10
48,20	47,80

ANNEXE VIII Procédure : vérification/validation des méthodes

- Objet et domaine d'application

Cette procédure présente les étapes à suivre et tests à réaliser pour la vérification/validation des méthodes utilisées au laboratoire.

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

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

- Responsabilités

Les biologistes sont responsables de la vérification/validation des méthodes d'analyse au sein du laboratoire. Ils dirigent l'étude bibliographique, décident du contenu du dossier de vérification/validation, des objectifs de performance des techniques et concluent sur l'aptitude de la méthode.

Le biologiste référent du secteur organise avec les techniciens la mise en place des essais nécessaires au recueil des données.

- Déroulement de l'activité

Définitions¹

Méthode reconnues : les méthodes à privilégier seront celles des DM-DIV marqués CE ou celles publiées dans les livres faisant autorité, des journaux avec comité de lecture, des normes, des instructions de consensus international ou des réglementations.

Méthodes non reconnues : les méthodes développées par le laboratoire (ou méthodes internes) doivent être validées de manière appropriée pour l'utilisation prévue et parfaitement documentées.

Vérification des méthodes : confirmation que les méthodes **reconnues** sont utilisées dans leur domaine d'application, qu'elles correspondent aux besoins des « clients » (patients/prescripteurs) et qu'elles sont maîtrisées par le laboratoire.

Les méthodes reconnues entrent dans le cadre d'une portée de type A.

Note : Dans le cadre d'acquisition d'un nouvel équipement, le laboratoire réalisera une vérification/validation des méthodes avant la mise en service de l'équipement. En cas d'impossibilité d'évaluer le nouvel analyseur en parallèle avec le précédent (manque de place, contrainte budgétaire, ...), le laboratoire doit définir les opérations à réaliser à *minima* (prévoir sérothèque et modalités de rappel éventuel de résultats de patients) avant d'effectuer des examens pour les patients dans un délai le plus court possible. Pour les équipements déjà existant et pour lesquels il n'a pas été réalisé de vérification/validation initiale, le dossier de vérification/validation peut reprendre des données accumulées par le laboratoire (CIQ, EEQ, ...), seuls les éléments manquants devront être complétés par une étude expérimentale.

¹ SH GTA 04 –rév. 01 Guide de vérification/validation des méthodes en Biologie Médicale

Validation des méthodes : confirmation que les méthodes **non reconnues** sont utilisées dans leur domaine d'application, qu'elles correspondent aux besoins des « clients » (patients/prescripteurs) et qu'elles sont maîtrisées par le laboratoire.

Les méthodes reconnues utilisées hors de leur domaine d'application et les méthodes non reconnues entrent dans le cadre d'une portée de type B.

Méthodes quantitatives : Elles fournissent des résultats issus de données numériques. Remarque : le dénombrement est une propriété quantitative, d'unité égale à 1. Les résultats issus d'un ratio (%) sont également considérés comme des résultats quantitatifs.

Méthodes qualitatives : Elles fournissent des résultats issus de données non numériques. Par exemple, les examens à lecture subjectives (identification, macro et/ou microscopique, ...) ou les résultats binaires (présence/absence, positif/négatif, ...).

Des méthodes qualitatives basées sur des données numériques, c'est-à-dire basées sur une évaluation par rapport à un seuil, doivent être vérifiées/validées comme des méthodes quantitatives (par exemple : sérologie HIV).

Processus simple : l'examen de biologie médicale est constitué d'une seule méthode/étape/processus (Ex : dosage des protéines totales dans le sérum)

Processus complexe : l'examen de biologie médicale est constitué de l'enchaînement de plusieurs méthodes/étapes/sous-processus, faisant appel à des méthodes quantitatives et/ou qualitatives (Ex : ECBU, Numération Formule Sanguine)

Déroulement

SH GTA 04 –rév. 01 Guide de vérification/validation des méthodes en Biologie Médicale

« Le laboratoire établit les critères de performance de sa méthode. Il les compare aux données de référence dont il dispose (fournisseur, bibliographie, sociétés savantes, ...) et conclut quant à l'acceptabilité de sa méthode en fonction de ses besoins vis-à-vis du critère testé. Les échantillons utilisés devront être décrits. Toute discordance avec les performances annoncées par le fournisseur sera investiguée. »

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

- Etude préalable par le biologiste référent du secteur : description du processus analytique, bibliographie existante, définition des critères de performance à valider et des limites acceptables, formalisée sous forme d'un plan d'expérience
- Description de la méthode, mise en œuvre et élaboration de la maîtrise des risques
- Réalisation des essais de vérification/validation selon la présente procédure
- Exploitation des données, rédaction du rapport de vérification/validation et conclusion sur l'aptitude ou l'inaptitude de la méthode

Etude préalable

Au préalable à la vérification des critères de performance, le biologiste référent :

- Décrit le processus analytique : processus simple ou complexe, méthodes/étapes, techniques automatisées et manuelles
- Réalise l'étude bibliographique (bibliographie, documents fournisseurs, ... correctement référencés et accessibles) : les lectures bibliographiques sont accompagnées d'une synthèse ou d'une extraction des données (privilégier une bibliographie précise et étayée plutôt qu'une bibliographie très détaillée sans en extraire les éléments essentiels)
- Définit le type de portée (A ou B) pour chaque méthode/étape/sous-processus
- Détermine les critères de performance pertinents à évaluer et les limites d'acceptabilités correspondantes en rapport avec les besoins propres du laboratoire au regard de la pertinence clinique attendue et sur les recommandations des sociétés savantes (ex : RICOS, SFBC, ...) ou de l'état de l'art.
- Définit le plan d'expérience adapté et statistiquement valide et l'échantillothèque à réaliser pour les essais
- Choisi les modalités d'évaluation des incertitudes selon l'existence de contrôles internes de qualité (CIQ) externalisés ou non et des évaluations externes de la qualité (EEQ)

A l'issue de cette étude préalable, le biologiste référent du secteur crée un dossier de vérification/validation des méthodes dans kalilab et attache en fichier joint (onglet « Général » paragraphe « Description de la méthode ») le formulaire [HD6-ENR004 Etude préalable à la vérification/validation des méthodes](#) dûment complété.

Description de la méthode

Elle est renseignée dans kalilab (onglet « Général ») selon les critères suivants :

Champ à renseigner	Description
Nom (= nom du dossier)	Analyse-Automate
Portée	Portée A ou B (à sélectionner dans la liste déroulante)
Nom de l'analyse	Nom de l'analyse
Automate	Nom de l'automate (à sélectionner dans la liste déroulante)
Analyse/Mesurande	Examen dans son milieu et exprimé dans son unité
Principe de mesure	Le principe de mesure est défini par les caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none">- Méthode automatisée ou manuelle- De type qualitatif ou quantitatif- Principe général de la méthode défini dans le SH INF 50

Champ à renseigner	Description
Méthode de mesure	- Méthode reconnue ou non reconnue - Nom de la méthode de mesure
Type d'échantillon primaire	Préciser la matrice : sang, urine, LCR, ... (à sélectionner dans la liste déroulante)
Type de récipient, additifs	Préciser le type de contenant : tube/additif/présence ou non d'un séparateur, flacon/milieux de transport, écouvillon, ...
Prétraitement de l'échantillon	Modalités de prétraitement de l'échantillon : centrifugation, homogénéisation, dilution, ...
Unités	Mode d'expression du résultat (unités, ratio, ...)
Intervalles de référence	Origine et définition par critères démographiques, valeurs seuils, ...
Marquage CE	Oui ou non
Codage CQN	Consulter le site de l' ANSM Indiqué « non codé par l'ANSM », le cas échéant
Référence du réactif	Référence du fournisseur et version de notice
Matériau d'étalonnage	Nom et référence
Raccordement métrologique	Etalon qui a servi pour la fabrication du matériau d'étalonnage
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs	Type d'étalonnage (linéaire, non linéaire), préciser le nombre de niveaux et les valeurs des niveaux

Mise en œuvre

Elle est renseignée dans kalilab (onglet « Général ») selon les critères suivants :

Champ à renseigner	Description
Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode	Identité de(s) opérateur(s) du laboratoire
Autorisation de mise en service par	Biologiste responsable de la déclaration d'aptitude
Procédure de gestion de la portée flexible	Référence et version de la procédure utilisée
Procédure de validation	Référence et version de la procédure utilisée
Période d'évaluation ²	Préciser du xx/xx/xxxx au xx/xx/xxxx Préciser si reprise de résultats antérieurs
Date de mise en service ³	Préciser xx/xx/xxxx

² Certains résultats peuvent provenir de périodes antérieures dans le cas d'une méthode déjà utilisée. Dans ce cas, le laboratoire justifiera du maintien des performances de la méthode

³ La date de 1^{ère} utilisation peut être antérieure dans le cas d'une méthode déjà utilisée

Maîtrise des risques

Une analyse de risque est menée avec les techniciens et biologistes (et éventuellement d'autres acteurs intervenant dans le processus) afin de déterminer les points critiques et les moyens de maîtrise proposés.

La maîtrise des risques sera présentée sous forme d'un tableau (Cf. [HD6-ENR008 Tableau d'analyse des risques](#)) selon une analyse des 5M et la méthode AMDEC (Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité) définies dans la fiche d'instruction [HD6-INS008 Evaluation des risques](#).

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. Elle est décrite en 5 aspects différents : la main d'œuvre, la méthode, le milieu, le matériel et la matière pour chacun des processus de réalisation (préanalytique, analytique et postanalytique).

Après identification, les risques sont évalués selon leur gravité, leur fréquence et les moyens de prévention déjà en place. Chaque critère est évalué dans une plage de note allant de 1 à 4. Lorsque les 3 critères ont été évalués, le produit des 3 notes obtenues permet de calculer la criticité. Plus la note est élevée, plus sa sévérité est grande.

Les seuils de criticité et actions à engager sont définis dans la fiche d'instruction [HD6-INS008 Evaluation des risques](#).

Vérification des critères de performance et méthodes de calcul

Tableau résumé des performances à évaluer lors d'une vérification/validation de méthode quantitative ou qualitative (selon NATA note n°17 – juin 2012) :

CRITERES A EVALUER	Vérification (portée A)		Validation (portée B)	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
<i>Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Justesse/exactitude (approche)</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Incertitudes/facteurs de variabilité et évaluation</i>	<i>Essai</i>	<i>Maîtrise des facteurs de variabilité</i>	<i>Essai</i>	<i>Maîtrise des facteurs de variabilité</i>
<i>Comparaison avec méthode déjà utilisée au laboratoire ou autre méthode du laboratoire (appareil en miroir⁹, EBMD) et analyse des discordances¹⁰</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Intervalle de mesure (Limite de quantification et limites de linéarité)</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>/</i>	<i>Essai</i>	<i>/</i>
<i>Interférences (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments, ...)</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Robustesse</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Stabilité réactifs (après ouverture, embarqués)</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Intervalle de référence (valeurs usuelles)</i>	<i>Bibliographie (fournisseur ou autre, s'assurer de la cohérence avec l'état de l'art)</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>Essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Limite de détection</i>	<i>/</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>/</i>	<i>Essai</i>
<i>Spécificité/sensibilité analytique</i>	<i>/</i>	<i>Bibliographie</i>	<i>/</i>	<i>Essai</i>
<i>Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude¹¹ de la méthode ou du système analytique.</i>				

Les principes méthodologiques des vérifications sur site sont ceux du guide SH GTA 04 correspondant à la totalité des critères possibles d'évaluer. En fonction de l'étude préalable par le biologiste, des adaptations peuvent être réalisées, elles seront alors justifiées.

Un effectif de 30 déterminations est optimal pour une exploitation statistique correcte. Il est possible de limiter le nombre d'essais à prévoir qu'il faudra argumenter en fonction de critères pertinents (coût, durée, rareté de la matrice, ...).

Vérification/validation de méthode quantitative

Evaluation de la répétabilité

Principe :

Son évaluation consiste à analyser dans un délai le plus court possible le même échantillon dans des conditions strictement identiques : même opérateur, même lot de réactif, même instrument, même calibrateur.... L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (instrument/réactif) pour le paramètre concerné.

En pratique :

Réaliser 30 analyses sur des échantillons de patients, ou sur des CIQ dans des conditions identiques, dans un court intervalle de temps et pour plusieurs niveaux de concentration (minimum de 2), si possible, un niveau proche de la (des) zone(s) décisionnelle(s). **Ne passer aucun autre échantillon au cours de la série.**

Résultats :

L'exploitation des résultats consiste à calculer la moyenne (m), l'écart-type de répétabilité (s) et le coefficient de variation (CV) associé des valeurs expérimentales de chaque série :

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

Le CV calculé est comparé au CV limite admissible, préalablement choisi par le laboratoire (SFBC, état de l'art, spécifications fournisseurs, RICOS, ...).

Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)

Principe :

L'essai de reproductibilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse en faisant varier au moins une des conditions : l'opérateur, le temps, les lots de réactifs, les calibrateurs peuvent être des données variables, correspondant à une activité normale et quotidienne du laboratoire.

Il est souhaitable que les niveaux testés pour évaluer la fidélité intermédiaire soient identiques à ceux testés en répétabilité (établissement de la robustesse).

En pratique :

- Utilisation des résultats des CIQ (1 à 2 par jour) sur au moins 15 jours avec 30 déterminations à deux niveaux minimum.

Résultats :

Les modalités de calcul sont identiques à celles de la répétabilité avec le calcul de la moyenne (m), de l'écart-type (s) et du coefficient de variation (CV).

Le CV calculé est comparé au CV limite admissible, préalablement choisi par le laboratoire (SFBC, état de l'art, spécifications fournisseurs, RICOS...).

Justesse

Principe :

La justesse est l'étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence (ou valeur vraie).

Une approche de la justesse nécessite la comparaison de la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible. L'écart observé correspond au biais.

En pratique :

- On utilise les valeurs des CIQ externalisés

Résultats :

La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de fidélité intermédiaire, établie sur des échantillons de CIQ, à la valeur cible

attendue (moyenne participants et/ou groupe de pairs), assimilée à la valeur « vraie » (v) de l'échantillon testé.

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

Les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité, préalablement définies par le laboratoire (SFBC, état de l'art, spécifications fournisseurs, RICOS...).

Exactitude

Principe :

L'exactitude est définie comme l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie d'un mesurande.

Une étude d'exactitude correspond à la comparaison du résultat d'un seul dosage d'un échantillon inconnu à une valeur cible consensuelle. L'écart observé correspond à l'inexactitude (erreur d'exactitude).

En pratique :

- On utilise les valeurs des EEQ (analysés une seule fois). L'évaluation sera d'autant plus pertinente que le nombre d'échantillons est élevé.

Résultats :

Le laboratoire établit l'inexactitude de sa méthode en comparant la valeur obtenue (x) sur l'échantillon d'EEQ à la valeur cible attendue (moyenne participants et/ou groupe de pairs), assimilée à la valeur « vraie » (v) de l'échantillon testé. L'écart observé quantifie l'inexactitude.

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

X : valeur trouvée pour l'EEQ V : valeur cible

Les résultats obtenus sont comparés aux limites d'acceptabilité, préalablement définies par le laboratoire (SFBC, état de l'art, spécifications fournisseurs, RICOS...).

Incertitude de mesure

Principe :

Tout résultat étant le fruit d'une mesure est affecté d'une erreur. Son influence sur la valeur du résultat, appelée incertitude de mesure, apporte une aide pour le clinicien dans sa prise de décision diagnostique ou thérapeutique, ou apporte au biologiste médical un élément important pour l'interprétation du résultat, par exemple lorsque ce dernier est comparé à un résultat antérieur ou à un seuil de décision reconnu.

En pratique :

Le [SH GTA 14](#) préconise quatre méthodes différentes de calcul des incertitudes de mesures :

- Méthode GUM (Méthode de référence)

Ce calcul résulte de méthodes statistiques prenant en compte toutes les composantes de l'incertitude modélisées et quantifiées. Il est non utilisée car trop complexe.

- Méthode « Intra laboratoire : CIQ + Matériaux de référence »

Repose sur l'exploitation des caractéristiques évaluées lors de la vérification/validation des méthodes : fidélité intermédiaire (CIQ), justesse, courbe d'étalonnage

- Méthode « CIQ/EEQ »

Repose sur l'exploitation des données internes et externes de contrôles qualité : CIQ, EEQ, CIQ externalisés

- Méthode « CIQ + Etalon fournisseurs »

Repose sur l'exploitation des données CIQ et de l'étalon fournisseur

Le logiciel kalilab permet le calcul par les méthodes CIQ/EEQ et CIQ/CIQ externalisés grâce aux données de « fidélité intermédiaire » (CIQ) et l'approche de la justesse (CIQ) ou l'exactitude (EEQ) d'une même période d'évaluation enregistrées dans l'évaluation de performance.

Résultats :

L'incertitude de mesure est exprimée dans la même unité que le résultat, sous forme d'incertitude élargie, avec le même nombre de chiffre significatif (en général 2). Un facteur d'élargissement $k = 2$ étant conseillé pour un intervalle de confiance de 95 % environ, pour une loi normale.

$C \pm U (k=2)$ unité

C : valeurs numériques de l'estimation du mesurande

U : Incertitude élargie

L'incertitude doit faire l'objet d'une réévaluation régulière (une périodicité annuelle est recommandée) et confrontée aux exigences de performance du laboratoire qui peuvent être calculées à partir de données de sociétés savantes ou de publications faisant autorité, et tenant compte des fidélités et biais limites.

Comparaison de méthodes

Principe :

Comparaison entre les résultats obtenus avec une méthode A (utilisée par le laboratoire ou prise comme référence) et ceux obtenus avec la méthode B (à tester). Elle permet de valider la comparabilité des résultats rendus par les deux techniques.

La comparaison de méthodes intervient en cas de changement d'automate, de méthode, méthodes en miroir, back-up ou EBMD (Examens de Biologie Médicale Délocalisés). Il est nécessaire d'établir une comparaison afin d'assurer la cohérence biologique des dossiers patients lorsque les mêmes examens sont traités par plusieurs analyseurs.

Dans le cadre d'appareils en miroir, la comparabilité des résultats doit être assurée, lors de la validation initiale, et de façon continue (utilisation des CIQ, EEQ, ...).

En pratique :

- Analyser en simple, au moins 30 échantillons de patients, couvrant l'étendue du domaine physio-pathologique, dans les mêmes conditions de temps, par les deux techniques.

Résultats :

Pour chacun des couples (x, y) retenus, kalilab permet le calcul des différences x-y et les rapports y/x, l'établissement des graphiques des différences (x-y) en fonction de x et (y/x) en fonction de x et le calcul des limites de suivi.

En cas de discordance des résultats supérieure aux limites pré-établies, noter le nombre de spécimens discordants identifiés, et rechercher la cause de la discordance si elle subsiste après vérification (aspect, fibrine, hémolyse, ...).

Les données pertinentes sont apportées par l'équation de la droite de régression dont la pente et l'ordonnée à l'origine exprimeront la similitude des méthodes comparées (similitude optimale avec pente égale à 1 et ordonnée à l'origine égale à 0).

Etendue de mesure

L'étendue de mesure comprend la limite de détection, la limite de quantification et la limite supérieure de linéarité.

Limite de détection :

Il s'agit du plus petit signal exprimé en quantité ou en concentration qui peut être distingué avec une probabilité donnée d'un blanc de réaction réalisé dans les meilleures conditions.

L'étude de la limite de détection est basée sur l'analyse statistique de la différence de signaux observés pour les blancs et les échantillons.

Pour l'estimer, on effectue 30 mesures répétées du blanc dépourvu de la substance à doser (calibrateur zéro, diluant) dans une même série et on calcule la moyenne obtenue et l'écart-type (s_b) exprimés en concentration de ces 30 mesures.

La limite de détection est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Limite de détection} = 3 \times s_b$$

Limite de quantification :

La détermination de la limite de quantification permet d'évaluer la plus petite valeur mesurée exprimée en concentration, fournie avec un niveau de fiabilité acceptable et d'incertitude connue.

$$\text{Limite de quantification} = 10 \times s_b$$

La limite de quantification peut également être évaluée en réalisant des dilutions du calibrateur ou du CIQ le plus bas (différent de 0) avec le diluant selon le schéma : 100+0, 90+10, ..., 10+90, 0+100 soit 11 échantillons à mesurer chacun 10 fois dans une série unique.

Pour déterminer la limite de quantification, 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. A partir de la courbe des CV en fonction des concentrations, est

déterminée la concentration correspondant à un CV de 10% et représentant la limite de quantification.

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

Limite supérieure de linéarité :

Principe :

Après dilution d'un échantillon de concentration très élevé, les résultats obtenus permettront de vérifier la linéarité entre les dilutions effectuées et les concentrations calculées.

Résultats :

Reporter les résultats sur un graphe $y = f(x)$ où y représente les concentrations calculées pour chaque dilution et x , la dilution.

L'examen visuel de cette relation permet une appréciation de la limite de linéarité supérieure.

La limite supérieure de linéarité et la limite de quantification permettent de définir le domaine de mesure de la méthode.

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 fonction des examens et des méthodes de mesure.

Elles sont à vérifier par une étude bibliographique en portée de type A et par une étude expérimentale pertinente dans le cas d'une portée de type B.

La SFBC propose dans le document [SG2-07 Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse](#) (Annales de Biologie Clinique 2010 ; 68 (Hors-série n°1) : 247-294) un protocole d'évaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine, de la turbidité ou d'autres substances (médicaments) des échantillons.

Un spécimen de concentration connue de l'analyte à doser (niveau moyen) est surchargé par une solution concentrée de la substance susceptible d'interférer pour obtenir plusieurs niveaux de concentration. La valeur moyenne observée pour le spécimen non surchargé est alors soustraite de la valeur moyenne observée pour chaque spécimen. Les différences observées (négatives ou positives) sont reportées sur un graphe en fonction de la concentration de la substance susceptible d'interférer.

Contamination

Des phénomènes de contamination peuvent être observés lors de l'utilisation de systèmes analytiques, notamment au niveau des systèmes de pipetage des échantillons (contamination inter échantillons) et de distribution des réactifs (contamination inter-réactifs).

Contamination inter échantillons

- Après rinçage de l'appareil, analyser successivement un échantillon élevé 3 fois (H1, H2, H3, de moyenne mH) suivi d'un échantillon bas également passé 3 fois (B1, B2, B3).
- Les séquences (H1, H2, H3, B1, B2, B3) sont répétées 5 fois afin d'établir la moyenne des B1 (mB1) et la moyenne des B3 (mB3).
- Reportez dans le kalilab, les valeurs obtenues, des passages d'échantillons hauts et bas.

Le logiciel :

- Calcule les moyennes des B1, mB1 (bas passés en premier) et des B3, mB3 (bas passé en dernier).
- Compare statistiquement ces deux moyennes à l'aide d'un test de Student, si le test de normalité de la distribution est vérifié
- Calcule le pourcentage de contamination inter échantillons

Compte tenu de l'importance clinique de certains examens, le niveau de la contamination doit être proche de 0 ou entraîner des règles de repassage argumentées.

Contamination inter réactifs

- Après rinçage de l'appareil, analyser un échantillon 10 fois pour le premier réactif (R1) incriminé.
- Dans une seconde étape, analyser le même échantillon en alternance pour les deux réactifs incriminés (R1 et R2, 10 fois chacun).
- Pour chacune des étapes, enregistrer les valeurs obtenues pour le réactif R1 dans kalilab.

Le logiciel :

- Calcule les moyennes obtenues dans les deux séries (test seul, et en alternance avec un autre test)
- Compare statistiquement ces deux moyennes à l'aide d'un test de Student
- La contamination inter réactifs est mise en évidence par une différence statistiquement significative des deux moyennes.

Robustesse et stabilité des réactifs

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. Elle n'est indispensable que pour les tests développés en interne (portée de type B).

Stabilité des réactifs

Dans le cas de réactifs fabriqués par le laboratoire, celui-ci devra établir les conditions de stabilité (température, durée de conservation, ...). Pour les réactifs correspondant à des DM-DIV, le laboratoire notera les préconisations relatives à la stabilité des réactifs définies par le fournisseur (température et durée de conservation avant/après ouverture, conservation embarquée sur l'analyseur, ...).

- Passer un étalon de niveau de concentration élevé en tant que spécimen inconnu à intervalle régulier entre J1 et Jn. Le nombre d'analyses entre ces deux dates est fonction de la durée de conservation attendue pour obtenir un minimum de 10 résultats
- Reporter les valeurs obtenues dans kalilab

Des limites de stabilité théoriques (Lst en %) adaptées à chaque analyte permettent de valider ou non la stabilité annoncée par le fabricant.

Le logiciel calcule la limite de stabilité en jours correspondant à la dernière valeur de l'étalon comprise dans un intervalle [$v - \text{Lst}\%$; $v + \text{Lst}\%$].

Intervalle de référence et/ou valeurs seuils

Principe :

La détermination de l'intervalle de référence permet de réajuster les valeurs normales données par le fournisseur dans l'environnement du laboratoire.

En pratique :

Les valeurs de référence sont vérifiées le plus souvent par la bibliographie.

Si le laboratoire juge utile de le vérifier par le calcul, cette investigation est réalisée après le passage en routine afin d'obtenir les données patients exempts de pathologie (si possible).

- A partir du système informatique du laboratoire, établir une requête permettant d'obtenir un nombre de valeurs significatif (et ce pour chaque sexe et tranche d'âge si cela peut avoir une incidence) ($n > 100$).
- Vérifier que la répartition de la population est gaussienne (choisir une population très importante).
- Importer les valeurs dans kalilab, le logiciel calcule la moyenne tronquée (m_t) et l'écart type tronqué (s_t), en ayant écarté les valeurs aberrantes, c'est à dire se trouvant au-delà de +/- 2 écarts types de la moyenne.

Les valeurs de référence seront données par l'intervalle : $[m_t - 2s_t ; m_t + 2s_t]$. Elles seront comparées avec celles annoncées par le fournisseur et pourront être réajustées, le cas échéant.

Vérification d'une méthode qualitative

Dans le cadre d'une technique qualitative, la vérification expérimentale sur site est plus réduite, et s'appuie fortement sur des études de risques (méthode des 5M), sur l'habilitation des opérateurs, ou sur l'étude des performances des EEQ.

Variabilité inter-opérateurs

La variabilité inter-opérateurs constitue un indicateur de la maîtrise de la réalisation des méthodes non automatisées. Cette maîtrise est assurée par l'habilitation des opérateurs.

Le laboratoire pourra utiliser la variabilité inter-opérateurs et la comparer à la variabilité intra-opérateur d'un référent. Un rapport proche de 1 montre la concordance obtenue pour n opérateurs.

Une autre possibilité pour quantifier la variabilité inter-opérateurs sera l'analyse de variance (Anova) appliquée aux résultats obtenus par les n opérateurs.

Sensibilité et spécificité analytiques

Du fait de la difficulté à obtenir un nombre suffisant d'échantillons (positif/négatif), la vérification de la spécificité et de la sensibilité d'une méthode passera le plus souvent par une vérification bibliographique critique.

Incertitude de mesure

Le concept de l'incertitude de mesure ne peut pas être appliqué directement aux résultats de méthodes qualitatives.

Le laboratoire doit analyser le processus de réalisation de l'analyse afin d'identifier les points critiques et de proposer des actions correctives. Cette analyse se fait selon la méthode AMDEC défini dans la fiche d'instruction [HD6-INS008 Evaluation des risques](#).

Approche de la limite de détection

Le terme limite de détection est utilisé pour décrire la plus petite valeur de mesurande dont une procédure analytique peut indiquer la présence avec un niveau de confiance spécifié. Elle correspond au seuil de positivité.

Comparaison de méthodes

La comparaison de méthodes doit être réalisée en cas de changement de méthode ou d'utilisation en parallèle de techniques manuelle et automatisée (coloration, formule, ...).

Les points discordants éventuels doivent être analysés, vérifiés et leurs impacts évalués.

Interférences

Les interférences potentielles sont à vérifier par une étude bibliographique des documents fournisseurs. Des essais de surcharge pourront être réalisés selon le protocole de la SFBC (Cf. [§3.8.8](#)).

Contamination

Le laboratoire évaluera et maîtrisera les potentiels cas de contamination inter-échantillons et/ou inter-réactifs par une étude bibliographique.

Pour une étude expérimentale, il est possible de vérifier, en alternant des échantillons positifs et négatifs, que les échantillons négatifs restent négatifs, il en est de même pour les échantillons positifs.

Robustesse

Cf. [§3.8.10](#).

Intervalle de référence et/ou valeurs seuils

L'intervalle de référence et les seuils de décision médicale seront définis et documentés par le laboratoire, en fonction de l'âge, du sexe, ... et devront être adaptés à l'usage des résultats par les cliniciens en pratique courante. En outre, le laboratoire définira une conduite à tenir en cas de résultats « douteux » (ni positifs, ni négatifs).

Vérification des connexions informatiques

La qualification de la chaîne informatique est effectuée pour chaque logiciel interfacé entre l'appareil (automate, middleware) et le système informatique du laboratoire (SIL).

A chaque dossier de vérification/validation des méthodes, une vérification des transferts informatiques est effectuée par impression de dossiers tests (essais, patients, EEQ, ...) choisis en fonction du processus à vérifier en termes de contenu des dossiers (type d'examens, sexe, tranches d'âge, ...). Le nombre de dossiers tests à imprimer doit être suffisant pour tester « toutes les conditions ».

Pour chaque dossier test, imprimer (à conserver dans le dossier de vérification/validation des méthodes) :

- Les données brutes de l'automate
- Les données transmises au middleware, le cas échéant
- Les données transmises dans le SIL
- Les données éditées sur le compte-rendu
- Les données émises sur le serveur de résultats interne ou patient

Vérifier la correspondance entre toutes les données (arrondis, calculs secondaires, commentaires et textes codés automatisés, règles d'expertise, ...) et valider le bon transfert des données.

3.1. Contenu du dossier de vérification/validation

Après réalisation des essais, l'enregistrement des données de vérification des critères de performance est effectué dans kalilab à partir l'importation de fichier .csv ou de la récupération des valeurs existantes dans kalilab (CIQ, EEQ). Les données brutes issues des

automates sont conservées dans le dossier papier et/ou scannées et rattachées en pièces jointes aux niveaux des critères.

Chaque critère est ensuite interprété, conclu et validé sur sa conformité par rapport aux objectifs préalablement choisis par le biologiste référent du secteur.

Une conclusion sur l'aptitude de la méthode est établie par le biologiste référent du secteur à partir des limites d'acceptation définies au préalable.

Un dossier de vérification/validation des méthodes est réalisé pour chaque analyte par automate et par matrice.

Les dossiers de vérification/validation des méthodes sont enregistrés dans kalilab, visibles par tous les utilisateurs et comportent les éléments suivants :

- Description du processus analytique (processus simple ou complexe, méthodes/étapes, techniques automatisées et manuelles)
- Vérification bibliographique
- Description du processus de vérification/validation (plan d'expérience)
- Description de la méthode
- Information sur la mise en œuvre de la vérification/validation
- Maîtrise des risques
- Données d'évaluation des performances : compilation et traitement statistique des données obtenues avec détermination des limites acceptables des critères de performance
- Conclusion et décision du biologiste quant à la validation opérationnelle de la technique, au regard des limites acceptables initialement fixées.

Le dossier de vérification/validation (comprenant notamment les données brutes) sera conservé pendant toute la durée d'utilisation de la méthode et archivée 3 ans après la fin de validité de la méthode.

Procédure de gestion de la portée flexible

L'ensemble des opérations à réaliser pour maîtriser le processus lors d'un changement ou arrêt d'une méthode, d'un réactif, d'un analyseur, pour une compétence déterminée (ou ligne de portée telle que décrite dans le document [SH INF 50 Portées-types d'accréditation](#)) est décrit dans la procédure [HD6-PR001 Gestion de la portée flexible](#).

- Classement et archivage

Document introduit par la procédure :

- Dossiers de vérification/validation des méthodes et données brutes

Les règles de classement et d'archivage sont décrites dans la procédure [HH2-PR002](#)
[« Gestion des enregistrements et archivages »](#).

ANNEXE IX Extrait SH FORM 43: pCO₂ ABL90 FLEX 1



LBM du Centre Hospitalier R. Bisson
4, rue Roger Aini
CS 97223
14107 LISIEUX Cedex
Tél : 02.31.61.30.34
Fax :

FICHE TYPE DE VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B)
D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) :

PCO₂

Processus simple

DESCRIPTION DU PROCESSUS

1. VM-A-AQUANT-17-13 / PCO₂

Eléments à vérifier

- 1. Répétabilité
- 2. Fidélité intermédiaire
- 3. Variabilité inter-opérateurs
- 4. Justesse
- 5. Exactitude
- 6. Sensibilité et spécificité analytique
- 7. Incertitudes
- 8. Etendue de mesure
- 9. Comparaison de méthodes
- 10. Interférences
- 11.1. Contamination inter-échantillon
- 11.2. Contamination inter-réactif
- 12.1. Robustesse
- 12.2. Stabilité
- 13. Intervalles de référence
- 14. Discordances

SOUS-PROCESSUS 1 : VM-A-AQUANT-17-13

Portée A

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande	pCO ₂ pression partielle en dioxyde de carbone dans le sang
Principe de la méthode	Méthode automatisée de type quantitatif/Principe général de la technique : Electrochimie (potentiométrie)
Type d'échantillon primaire	Sang
Type de récipient, Additifs	Seringue à gaz du sang avec héparine de lithuim
Prétraitement de l'échantillon	Agitation manuelle Cf. HH3-INS010
Unités	mmHg
Critères d'interprétation	Cf. Intervalles de référence
Marquage CE	oui
Codage C.N.Q.	WRS
Equipement (instrument, analyseur, etc)	ABL 90Flex N°1
Référence du réactif	Version notice : Mode d emploi ABL 90 FLEX réf 996195 version 201604D (4)
Matériau d'étalonnage (références)	Les gaz utilisés pour la tonométrie sont traçable aux matériaux de référence étalons certifiés NIST
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs	Linéaire en 3 points
Fichiers joints	

MISE EN OEUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode	DUDOUIT Corine (Technicien(ne)), GIBORY Jessie (Technicien(ne))
Procédure de validation/mode opératoire	HD6-PR002 - Vérification/Validation des méthodes
Procédure de gestion de la portée flexible	HD6-PR001 - Gestion de la portée flexible
Période d'étude	23-01-2017 - 06-02-2017
Date de 1ère utilisation	07-02-2017
Fichiers joints	ABL90 Flex Mode d'emploi.pdf [9.40 Mo]

MAITRISE DES RISQUES				
5M	Points critiques	Echelle de criticité	Elements à maîtriser	Moyens de maîtrise
Fichiers joints	Maitrise des risques GDS.xlsx [16.90 Ko]			
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017				

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

REPETABILITE SFBC 01-01-1999 - pCO2(mmHg)							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Taux 1	31	21.042	0.126	0.60		4.500	Conforme
Taux 2	32	68.506	0.141	0.21		3.800	Conforme

Conclusion	Les essais de répétabilité pour les 2 niveaux testés sont conformes par rapport aux données de la SFBC et répondent à nos exigences.
Fichiers joints	REPET ABL1 traité.xlsx [24.47 Ko] Valeurs répétabilité ABL1 CHLISIEUX.csv [13.22 Ko]
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

FIDELITE INTERMEDIAIRE SFBC 01-01-1999 - pCO2(mmHg)							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Niveau Moyen S9030	37	26.741	0.313	1.17		5.000	Conforme
Niveau Haut S9040	33	66.603	1.950	2.93		5.000	Conforme
Niveau Bas S9050	37	19.984	1.086	5.44		6.000	Conforme

Conclusion	Les essais de fidélité intermédiaire pour les 3 niveaux testés sont conformes par rapport aux données de la SFBC et répondent à nos exigences.
Fichiers joints	REPRO ABL1 200217 traité excel.xls [76.00 Ko] REPRO ABL1 200217.csv [59.27 Ko]
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

VARIABILITE INTER-OPERATEURS (Non applicable)	
Conclusion	Non applicable, méthode quantitative de portée A.
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés) SFBC 01-01-1999 - pCO2(mmHg)								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) / groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) moyenne générale	Biais (%) limite	Conclusion

Conclusion	Non applicable, absence de CIQ externalisés. Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017
------------	--

EXACTITUDE							
Contrôles quantitatifs							
SFBC 01-01-1999 - pCO2(mmHg)							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) groupe de pairs	Biais (%) toute technique	Biais (%) limite	Conclusion
Niveau Bas							
17BK01	2.930	2.895	0	1.209	0.000	10.000	Conforme
Niveau Moyen							
17BK05	7.060	6.908	0	2.200	0.000	3.000	Conforme
17BK02	9.230	8.89	0	3.825	0.000	3.000	Conforme
Niveau Haut							
17BK03	12.600	12.508	0	0.736	0.000	3.000	Conforme

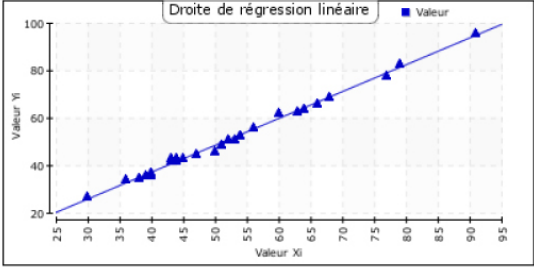
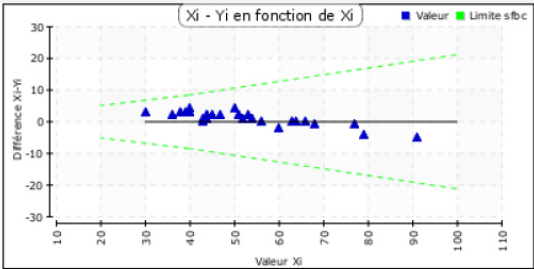
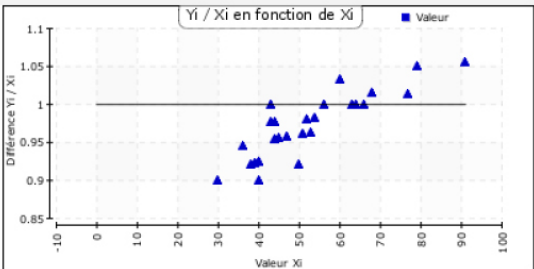
Commentaire	Les données sont extraites du site Probioqual.
Conclusion	L'exactitude pour les 3 niveaux est acceptable par rapport aux limites fixées par le laboratoire: biais issu de l'étude menée par la SFBC. Les performances sont vérifiées pour tous les EEQ réalisés par le laboratoire.
Fichiers joints	PBQ 17BK01 17BK02 18.pdf [1.02 Mo] PBQ 17BK03.pdf [483.71 Ko] PBQ 17BK05.pdf [649.41 Ko]
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

SENSIBILITE ET SPECIFICITE ANALYTIQUE (Non applicable)	
Conclusion	Non applicable, méthode quantitative de portée A.

INCERTITUDES DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation)			
Incertitudes calculées		Exigences de performance	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14)	CIQ/EEQ	Référence	SFBC
Quantification de l'incertitude (niveau 1)	20 +/- 2 mmHg (11%)	Exigence de performance (niveau 1)	< 20 %
Quantification de l'incertitude (niveau 2)	17 +/- 1 mmHg (3%)	Exigence de performance (niveau 2)	< 16%
Quantification de l'incertitude (niveau 3)	67 +/- 4 mmHg (6%)	Exigence de performance (niveau 3)	<16 %
Interprétation	Acceptable		
Commentaire	valeurs calculées au laboratoire		
Conclusion	Les données d'incertitudes de mesure sont acceptables par rapport à notre utilisation et conformes aux données SFBC.		
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017			

LIMITE DE DETECTION	
Bibliographie	Mode d'emploi ABL 90 FLEX réf 996195 version 201604D (4)
Vérification sur site	Non
Commentaire	12 mmHg
Conclusion	La limite de détection du paramètre annoncée dans la fiche technique du fournisseur répond aux besoins du laboratoire. ABL90 Flex Mode d'emploi.pdf [9.40 Mo]

COMPARAISON DE METHODES	
Sociétés savantes, publications	SFBC 01-01-1999 - pCO2(mmHg)
Données bibliographiques	Guide technique d'accréditation de vérification (portée A)/ validation (portée B) des méthodes en biologie médicale, document SH GTA 04 révision 01, avril 2015
Méthode précédente, autre méthode utilisée	
Nombre de mesures	30

Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire	de 27 à 96 mmHg
Méthode d'exploitation des résultats	Moindres rectangles
Equation de la droite de régression	$Y = 1.131X + -7.851$
	
Diagramme des différences	
Diagramme des rapports	
Fichiers joints	Corrélation GAZ ABL 1 et 2.xlsx [342.03 Ko] corrélation Siemens ABL.xlsx [260.55 Ko]
Commentaire	Ancienne méthode: ABL/RapidLab: L'équation de la droite de régression avec une pente proche de 1 et une ordonnée à l'origine proche de zéro permet d'exprimer la similitude des méthodes comparées. Automates en miroir (fichier rattaché): ABL1/ABL2:L'équation de la droite de régression avec une pente proche de 1 et une ordonnée à l'origine proche de zéro permet d'exprimer la similitude des méthodes comparées.
Conclusion	Toutes les valeurs testées sont comparables. Résultats conformes par rapport à nos exigences. Les méthodes sont comparables.
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

ETENDUE DE MESURE	
Bibliographie	Oui Mode d'emploi ABL 90 FLEX réf 996195 version 201604D (4)

Limite de détection	Non vérifiée par mesures expérimentales
Limite de quantification	Non vérifiée par mesures expérimentales
Commentaire	12-110 mmHg
Conclusion	Le domaine de mesure du paramètre annoncé dans la fiche technique du fournisseur répond aux besoins du laboratoire.
Fichiers joints	ABL90 Flex Mode d'emploi.pdf [9.40 Mo]

INTERFERENCES	
Vérification bibliographique	Mode d'emploi ABL 90 FLEX réf 996195 version 201604D (4)
Vérification	Non applicable
Hémolyse	Cf mode emploi page 243
Turbidité	Cf mode emploi page 243
Bilirubine, ictère	Cf mode emploi page 243
Médicaments	Cf mode emploi page 243
Commentaire	De nombreux tests ont été réalisés par la société Radiometer, pour évaluer les différentes interférences possible, sur du sang total et du plasma. Nous travaillons uniquement sur du sang total au laboratoire. Les tests montrent que pour des valeurs élevées certains paramètres peuvent légèrement varier. Le laboratoire n'étant pas confronté à ces valeurs physiologiques élevées aucun test n'a été réalisé sur place.
Conclusion	Méthodes adaptées au laboratoire et aux prescripteurs.
Fichiers joints	ABL90 Flex Mode d'emploi.pdf [9.40 Mo]
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

CONTAMINATION

INTER ECHANTILLON (Non applicable)	
Conclusion	Etude non réalisée car cette méthode est en portée A. Non applicable, inhérent au mode de fonctionnement qui déclenche un rinçage après chaque échantillon et contrôle. Cf mode d'emploi (p294)

INTER REACTIF (Non applicable)	
Conclusion	Non applicable. Les poches sont individualisées et les liquides ou gaz arrivent au niveau des électrodes de façon indépendantes. Cf mode d'emploi (p293)

ROBUSTESSE ET STABILITE DES REACTIFS

PARAMETRES SENSIBLES TESTES (t°, pH, position sur un support, …)	
Vérification bibliographique	
Vérification	
Commentaire	
Conclusion	Etude non réalisée car cette méthode est en portée A.

STABILITE DES REACTIFS APRES OUVERTURE, EMBARQUES, …	
Vérification bibliographique	
Commentaire	
Conclusion	Etude non réalisée car cette méthode est en portée A. Non applicable : car basé sur les données du fournisseur et utilisation du couple Automate/Réactifs (ayant le marquage CE) conformément aux instructions du fournisseur RADIOMETER.

METHODE D'EXPLOITATION DES RESULTATS		
	X	%
1		
2		
3		
4		
5		
6		

7		
8		
9		
10		

INTERVALLES DE REFERENCE	
Mode de détermination	Bibliographie
Commentaire	Sang artériel Homme: 35-48 mmHg Sang artériel Femme: 32-45 mmHg (Manuel Radiometer)
	Sang ombilical: 35-80 mmHg (D'après Heil)
Conclusion	Les intervalles de référence semblent cohérents par rapport aux besoins des prescripteurs, l'interprétation des résultats peut être réalisée par rapport à la bibliographie existante
Fichiers joints	ABL90 Flex Mode d'emploi.pdf [9.40 Mo] intervalle de référence.pdf [727.57 Ko]
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

DISCORDANCE (Non applicable)	
Conclusion	Non applicable.
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

DECLARATION D'APTITUDE	
Commentaires	Evaluation des performances réalisée lors de l'installation de l'automate.
Validité de la méthode	
Conclusion sur la validité de la méthode	Les vérifications analytiques effectuées sur l'ABL90 FLEX 1 montrent que la méthode est répétable, reproductible, exacte et que les résultats sont comparables avec ceux obtenus sur l'autre automate utilisé en routine. La méthode utilisée pour la mesure du pCO2 est apte à être utilisée en routine. La confirmation des performances de la méthode en routine est assurée par la surveillance des résultats des CIQ et des EEQ, et l'évaluation de l'incertitude de mesure.
Autorisée par	LEFEVRE Camille
Validé par LEFEVRE Camille le 11-09-2017	

RESUME

Suite à de nombreux dysfonctionnements des 2 appareils à gaz du sang en place depuis de nombreuses années au laboratoire, le renouvellement du parc des appareils était nécessaire. L'installation de nouveaux appareils à gaz du sang au laboratoire du CH de Lisieux, permet la diminution des frais de maintenances et de réparations et d'améliorer la fiabilité des résultats.

L'objectif de ce mémoire est de vérifier la méthode des gaz du sang sur les analyseurs ABL FLEX 90 afin de garantir des résultats fiables, conformément à la Norme NF EN ISO 15189 et de pouvoir accréditer ces analyses. Cette vérification de méthode permet d'assurer la qualité des prestations fournies en termes de fiabilité et de reproductibilité.

Les examens réalisés sur les ABL FLEX 90 étant dans le même domaine Biologie Médicale, sous domaine Biochimie-Génétique et famille Biochimie générale et spécialisée (BIOCHBM) que les examens présentés en 2015, ils font l'objet d'ajout de la portée d'accréditation. Parallèlement au dossier de vérification de méthode, un formulaire de portée flexible a donc été réalisé afin de prévoir toutes les modifications nécessaires à la bonne installation et à la bonne pratique des appareils

Les résultats obtenus lors de la vérification de méthode sont conformes aux exigences attendues, les appareils à gaz du sang peuvent donc être utilisés.