

**Université Pierre et Marie Curie –
Sorbonne Universités**

**MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE DE
BIOLOGIE MEDICALE »**

VERIFICATION DE METHODE DU DOSAGE DE L'HAPTOGLOBINE

**TAKKA MOHAMED
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, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné. »

AUTEUR

Dr TAKKA Mohamed

Praticien attaché

Laboratoire de biochimie- hématologie et oncogénétique

CHU Paul Brousse

Remerciement



Je tiens à remercier :

- L'ensemble des intervenants du DU Assurance Qualité, de m'avoir transmis leur connaissance et leur expérience dans le management qualité.
- Madame Le Pr Antoinette LEMOINE, chef de service du laboratoire de biochimie-hématologie et oncogénétique de l'Hôpital Paul Brousse, pour m'avoir permis de suivre ce DU, et son soutien.
- Mon collègue et ami, Patrick PHAM, RAQ du LBM, pour m'avoir encadré pendant ce travail, sa disponibilité et ses conseils éclairés.
- Ma collègue, Me Rania ALJHNI, pour sa collaboration et son aide précieuse.
- toute l'équipe de techniciens pour leur collaboration.
- ma famille, pour leur soutien et leur encouragement.

Sommaire

Glossaire

I-PREMIERE PARTIE : Généralités

- 1) Introduction
- 2) Présentation du LBM de l'Hôpital Paul Brousse
- 3) L'Haptoglobine, protéine à étudier
- 4) Présentation de l'analyseur Architect c8000 (Abbott).
- 5) Méthode d'analyse

II- DEUXIEME PARTIE

- 1) Choix de la portée
- 2) Méthodologie globale d'élaboration de la vérification de méthode
- 3) Dossier de vérification/validation de méthode quantitative selon le SHFORM 43
- 4) Evaluation de la méthode
 - a- Répétabilité
 - b- Fidélité intermédiaire
 - c- Approche de la justesse
 - d- Exactitude
 - e- Sensibilité et spécificités analytique
 - f- Incertitudes de mesures
 - g- Comparaison de méthodes
 - h- Etendue de mesure
 - i- Interférences
 - j- Contamination
 - k- Robustesse et stabilité des réactifs
 - l- Intervalle de références

III-CONCLUSION

IV-BIBLIOGRAPHIE

V-LISTE DES ANNEXES

GLOSSAIRE

LBM: Laboratoire de biologie médicale

COFRAC: Comité français d'accréditation

Hp : Haptoglobine

CE: Conformité européenne

CIQ : Contrôle interne de qualité

EEQ : Evaluation externe de qualité

CIL : Comparaison inter-laboratoire

CNQ : Contrôle national de qualité

DM-DIV : Dispositif médical de diagnostic in vitro

HAS: Haute autorité de santé

SMQ : Système de management de qualité

GTA: Guide technique d'accréditation

MO : Mode opératoire

HuPS : Hôpitaux universitaires Paris sud

GBEA: Guide de bonne exécution des analyses médicales

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

VIM : Vocabulaire international de métrologie

ISO : Fédération internationale de normalisation

PG : Procédure générale

PS : Procédure sur site

KALILAB : Logiciel de gestion documentaire

PGP : Interface informatique

GLIMS : Système informatique du LBM.

I -PREMIERE PARTIE

1) INTRODUCTION

L'accréditation des hôpitaux de l'AP-HP en groupes hospitaliers et la nouvelle législation réorganisant la biologie médicale, ont permis la mise en place, dès 2011, du laboratoire de biologie médicale (LBM) des hôpitaux universitaires Paris Sud (HuPS), qui regroupe des laboratoires des trois sites, A. Bécère, Bicêtre et Paul Brousse (PBR).

La politique d'amélioration continue de la qualité, initiée depuis de nombreuses années dans l'ensemble des trois sites, du fait de l'existence de contraintes réglementaires (GBEA), et volontaires :

- Accréditation COFRAC du laboratoire d'hématologie de l'hôpital PBR en 2000.
- Certification ISO 9001 du laboratoire de biologie de la reproduction de l'hôpital A. Bécère.
- Certification du centre de ressources biologiques (CRB) selon la norme NF S 96-900
- Accréditation OMS : Laboratoire national de référence de l'OMS pour la rougeole et la rubéole du laboratoire de virologie de l'hôpital PBR.

La démarche qualité, décrite dans le SMQ du GH est rendue nécessaire et impérative, afin de répondre aux exigences de l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010, modifiée par la loi n° 2013-442 du 30 mai 2013, et des normes européennes NF EN ISO 15189 et NF 22870.

Cette loi oblige tous les LBM publics et privés à accréditer la totalité de leur activité au plus tard le 31 octobre 2020.

Le COFRAC a été désigné comme unique instance nationale d'accréditation, par le décret 2008-1401 du 19 décembre 2008, reconnaissant ainsi l'accréditation comme activité publique et obligatoire.

Conformément aux règles internationales, l'accréditation permet une reconnaissance de la compétence des LBM, fondée sur une évaluation de ses pratiques par les pairs, avec le soutien des qualificateurs.

L'objectif de celle-ci est de garantir la fiabilité des examens de biologie médicale et la qualité de la prestation médicale offerte par les LBM.

Les examens réalisés dans un laboratoire doivent faire l'objet d'une vérification ou validation de méthode qui est une des exigences de la norme NF EN ISO 15189.

La garantie de qualité des résultats d'examens, passe par la réalisation des contrôles internes de qualité (CIQ), la participation à des programmes d'évaluation externe de la qualité (EEQ), et au contrôle national.

Les dossiers de vérification ou validation de méthode, ainsi que la preuve d'abonnement à un programme d'EEQ, et la participation aux contrôles nationaux périodiques, sous l'égide de l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), font partie des documents à fournir lors des audits COFRAC, pour justifier l'entrée effective du LBM dans la démarche d'accréditation ou d'extension d'accréditation selon un planning prévisionnel.

Ce travail participe de cet objectif, et rentre dans le cadre de la portée flexible standard (portée A), par ajout ; méthode normalisée (CE), utilisée sans aucune modification, ni adaptation.

2) Présentation du LBM de l'hôpital Paul Brousse

Situé à Villejuif, l'hôpital assure une prise en charge des pathologies hépatobiliaires (Premier centre national de transplantation hépatique).

Il assure également des soins spécialisés en oncologie médicale, hématologie clinique, psychiatrie, addictologie et des maladies liées au grand âge.

D'autres activités des professionnels de santé comme les missions de recherche et d'enseignement en lien avec l'université Paris Sud et les institutions de recherche partenaires (INSERM, CNRS, INRA etc...)

Quelques chiffres :

-701 lits

-1620 professionnels

Le laboratoire de biochimie-hématologie et d'oncogénétique de PBR est situé au 5^e étage du bâtiment Fred Siguier ; il réalise des examens pour les différents services d'hospitalisation et de consultations du site à l'exception de quelques examens spécialisés qui sont externalisés par le centre du tri.

Le service fonctionne 7 jours/7 et 24H/24.

Des référents ainsi que leurs suppléants sont nommés pour les activités suivantes :

Qualité, hygiène, métrologie, gestion documentaire, gestion KALILAB, et informatique du laboratoire.

Le laboratoire est composé de plusieurs secteurs :

- Secteur de biochimie générale d'urgence et le secteur d'hématologie (cytologie et hémostase)
- Secteur de biochimie délocalisée et exploration fonctionnelle respiratoire
- Secteur protéines spécifiques et marqueurs tumoraux

- Secteur de pharmacologie
- Secteur d'oncogénétique

3) L'HAPTOGLOBINE

C'est une glycoprotéine sérique synthétisée par le foie, de migration α_2 à l'électrophorèse.

Sa structure biochimique associe deux chaînes lourdes β (commune) à deux chaînes α (α_1 et α_2) conférant à l'Hp un polymorphisme génétique.

On distingue trois phénotypes ; La demi-vie de l'Hp est de 3 à 5 jours en fonction du phénotype

Biopathologie :

L'Hp neutralise l'hémoglobine(Hb) produite lors d'une hémolyse intravasculaire physiologique en formant un complexe Hp-Hb qui est éliminée rapidement. Ces complexes ont une demi-vie de 10 à 20 minutes, catabolisés par le système réticulo-endothélial hépatique, qui permet la récupération du fer de l'Hb et la dégradation de l'Hb en bilirubine.

Méthode de dosage : L'Hp est dosée par des méthodes immunologiques (immunonéphélométrie et immunoturbidimétrie).

Par ces méthodes, les résultats dépendent relativement peu du phénotype.

Valeurs de référence :

L'Hp ne traverse pas la barrière placentaire ; les concentrations chez le nouveau-né sont nulles par immaturité hépatique, puis augmentent régulièrement jusqu'à l'âge adulte.

Chez l'adulte : 0.30 à 2.00 g/L

Chez l'enfant jusqu'à 6 mois : 0.30 à 0.80g/L.

Indications de dosage :

- Hémolyse Physiologique et hyper hémolyse pathologique
- Inflammation : L'Hp est une protéine « positive » de l'inflammation, associée dans le profil protéique inflammatoire à l'orosomucoïde et à la CRP (protéine C réactive).
- Insuffisance hépatique : L'Hp est abaissée au même titre que l'ensemble des autres protéines de synthèse hépatique, comme l'albumine, la pré-albumine, l'orosomucoïde, les fractions du complément, le fibrinogène, etc...
- Hépatite C : Dans le cadre du fibrotest, le calcul de l'index de fibrose associe le dosage de 5 analyses, à savoir : l'Hp, l' α_2 macroglobuline, la bilirubine, l'apoprotéine A1 et la gamma-glutamyl transférase (GGT) ; l'index de nécrose associe également l'alanine amino transférase (ALAT). Au cours de l'infection de l'hépatite C, l'inflammation et la fibrose

activent une cytokine (l'Hépatocyte Growth Factor : HGF), qui diminue la synthèse de l'Hp, et a un effet inverse sur l' α 2 macroglobuline ; le calcul de ces indexes permet d'éviter un geste invasif en l'occurrence, la ponction biopsie du foie.

Variations physiopathologiques :

Diminution :

1-Hémolyse intravasculaire :

- Hémolyse immunologique (allo immunisation)
- Hémolyse infectieuse (Paludisme)
- Hémoglobinopathies
- Anomalies de la membrane de l'érythrocyte
- Hémolyse toxique ou médicamenteuse
- Hémolyse mécanique (prothèse valvulaire cardiaque)

Les hémolyses extra vasculaires ne modifient pas sensiblement les concentrations en Hp.

Dans le cadre de la surveillance ou du diagnostic d'une hémolyse intravasculaire, il est important d'associer au dosage de l'Hp celui de l'orosomucoïde.

En effet, en présence d'un processus inflammatoire contemporain d'un processus hémolytique, l'élévation induite par l'inflammation est inhibée par la consommation de l'Hp par l'hémolyse ; la concentration peut alors être normale.

2-Insuffisance de synthèse hépatique, lors :

- Hépatites aiguës : virales, médicamenteuses et toxiques
- Hépatites chroniques : éthyliques, cirrhose biliaire primitive, hépatite chronique active, hépatite auto-immune.

3-Malnutrition

4-Syndrome néphrotique, par fuite protéique

5- Déficits congénitaux : (3% des sujets de race noire)

Augmentation

La seule cause d'augmentation de l'Hp est l'inflammation aiguë, subaiguë ou chronique.

L'augmentation est corrélée à celle de l'orosomucoïde en l'absence d'hémolyse.

Les taux exprimés en % des valeurs normales dans le cadre du profil protéique,

$Hp \% = \text{orosomucoïde} \times 1.3 \pm 0.2 \text{ G/L. (cf. 1)}$

4) PRESENTATION DE L'ANALYSEUR Architect c8000 (Abbott)

L'Architect c8000 (Annexe 1) est un système entièrement automatisé permettant de réaliser des dosages par :

- Potentiométrie avec des électrodes semi conductrices
- Photométrie en point final ou cinétique
- Immunoturbidimétrie

Il se divise en 4 éléments principaux :

- 1- Le module d'analyse
- 2- Le passeur échantillon
- 3- Le centre de contrôle
- 4- L'unité centrale.

La cadence est de 800 tests photométriques et 600 tests potentiométriques par heure.

L'analyseur est connecté en bidirectionnel, avec une interface informatique (PGP), qui est elle-même connectée au système de gestion informatique du LBM : GLIMS.

5) METHODES DE DOSAGE DE L'Hp

Définitions

- La néphélémétrie est une méthode de mesure qui consiste à déterminer l'intensité de la lumière diffuse dirigée dans une autre direction que la lumière incidente. Cette technique est surtout applicable aux suspensions diluées des solutions contenant des complexes immuns pour lesquels, la réflexion et l'auto absorption sont minimales. (cf. 2,3 4)

- La turbidimétrie est une méthode physique qui s'applique à la mesure de l'intensité de la lumière transmise dans la direction du faisceau incident (Annexe 2).

Elle permet d'apprécier la diminution d'intensité de la lumière incidente après traversée de la cuve de mesure.

La baisse d'intensité mesurée est liée à trois effets : absorption, réflexion et diffusion.

Le coût du dosage en turbidimétrie est moindre, comparé à un dosage en néphélémétrie, d'où l'intérêt de sa mise en place.

Sur l'Architect c8000, le dosage de l'Hp consiste à mesurer l'augmentation de la turbidité de l'échantillon provoquée par la formation de complexes immuns insolubles lors de l'ajout de l'anticorps anti Hp à l'échantillon.

L'échantillon contenant l'Hp est incubé avec un tampon (R1), contenant du polyéthylène glycol qui a pour rôle d'accélérer la formation des complexes immuns et d'augmenter le signal.

La mesure du blanc est déterminée avant l'ajout de l'anticorps anti Hp (R2). (Annexe III)

En présence d'un excès d'anticorps approprié, la concentration est mesurée en fonction de la turbidité. L'Architect c8000 possède une fonction de dilution automatique ; la dilution manuelle est effectuée en utilisant une solution saline (0.90% de Na Cl).

Le niveau de température a peu d'influence, mais doit être maintenu constant (entre 20 et 30°C).

La calibration en cinétique est stable pendant environ 57 jours, et doit être effectuée à chaque changement de lot de réactifs.

Le multicalibrateur protéines spécifiques permet de générer une courbe de calibration multipoints (spline): 5 points de gamme : 0.42, 0.85, 1.41, 1.97, 2.82 g/L. (Annexe IV).

Les échantillons de contrôle utilisés sont des contrôles externalisés indépendants du fournisseur Abbott. Les contrôles Biorad Immunology (réf. 595-596) sont à 2 concentrations : niveau 2 à 1.61 g/L et niveau 3 à 2.35 g/L.

II DEUXIEME PARTIE

a) Choix de la portée

La première étape a consisté à déterminer le type de flexibilité de la portée d'accréditation dans laquelle, on va s'inscrire.

La validation des performances sur site du dosage de l'Hp est une vérification avec ajout d'exams en portée flexible standard A de type quantitative (fig. 1 ci-dessous), compte tenu de l'utilisation de l'automate et du réactif selon les recommandations du fournisseur, en l'occurrence la société Abbott Diagnostic.

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre : Haptoglobine sur Architect c8000-2 (c802983)
Processus simple ☒

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

L'accréditation selon la portée flexible A standard utilise une méthode/ équipement/ réactif « fournisseur » qui correspond à l'utilisation de DM-DIV marqué CE au titre de la directive 98/79/CE.

La méthode commercialisée Abbott est considérée comme méthode reconnue et validée.

L'accréditation de ce type de portée, permet au LBM, de changer d'équipement (appareil) ou de trousse de réactifs fournisseur si besoin et en fonction des avancées technologiques.

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

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

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

b) Méthodologie Globale d'Elaboration De La Vérification De La Méthode

Après le choix de la portée qui est en soi logique et documentée selon les documents COFRAC que sont le SH 50 et le SH 08, nous avons établi un recueil bibliographique :

Documents émanant de sociétés savantes (Groupes de travail SFB) (cf.5, 6, 7).

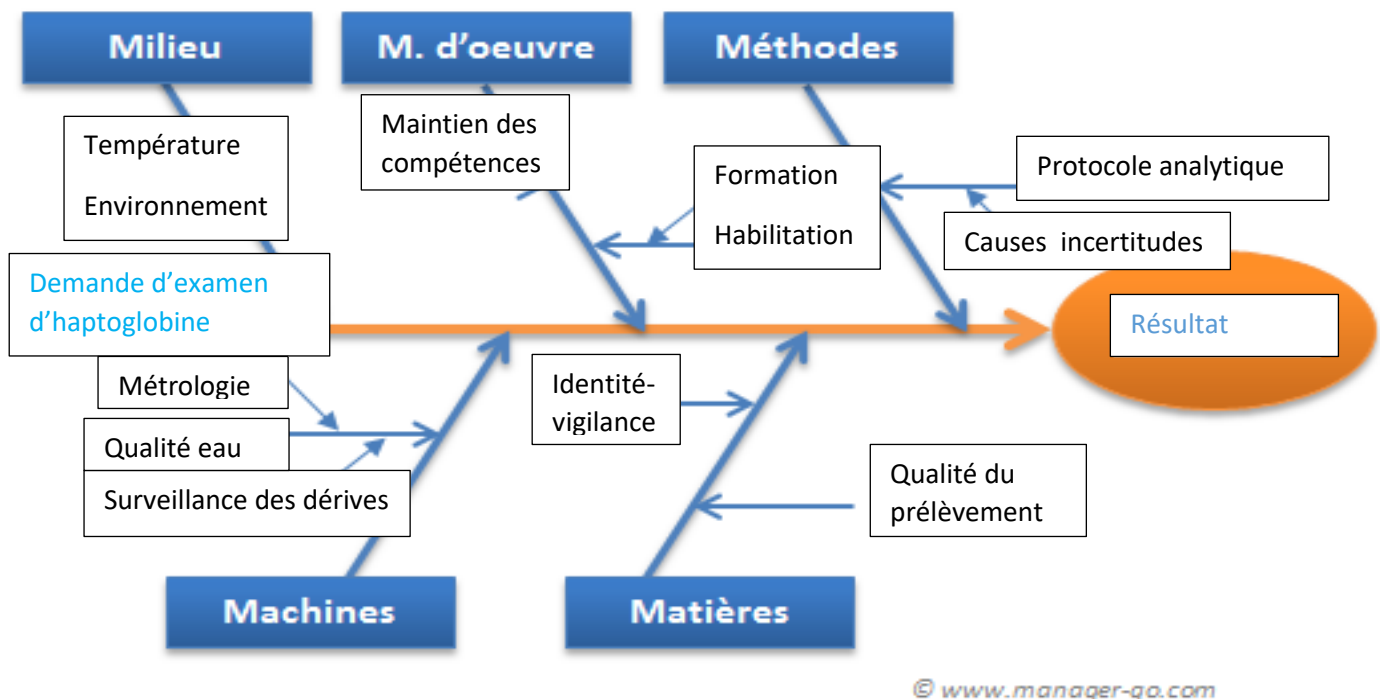
Des publications scientifiques, cf. 8, 9.

Des documents réglementaires, cf. 10, 11, 12.

Des données fournisseurs, G4-5653/R03 (ANNEXE III), et 1E78 (ANNEXE IV).

Ceci pour maîtriser le processus, et déterminer les critères d'acceptabilité.

Une analyse de risque est réalisée pour identifier les points critiques du processus avec toutes les étapes qu'il comporte : de la réception de la demande au compte rendu de résultat avec la maîtrise de la phase de transmission informatique, selon le diagramme d'Ishikawa (voir fig. 2 ci-dessous).



Les modalités de réalisation des vérifications expérimentales ont été fixées. Elles sont réalisées sur site pendant une période déterminée.

Le recueil et l'analyse des données avec leur interprétation examinée avec le groupe de travail concerné, ont fait l'objet de réunion pour l'exploitation des données et leur interprétation.

Le sujet de mémoire porte sur l'accréditation en portée flexible standard A par extension.

1. Type : Quantitatif
2. Domaine : Biologie Médicale
3. Sous Domaine : Biochimie
4. Familles : Biochimie générale et spécialisée

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE : Dosage de l'Haptoglobine (Hp)

NATURE DE L'ECHANTILLON : Sérum

METHODE UTILISEE : Immunoturbidimétrie

FLEXIBILITE CHOISIE : Portée A

c) Dossier De Vérification/Validation De Méthode selon Le SH FORM 43

Le dossier de vérification de méthode a suivi les différentes étapes décrites dans le SH FORM43, à savoir :

- . La description de la méthode.
- . Le recueil bibliographique scientifique du paramètre et la méthode de dosage choisie et à expérimenter.

L'analyse de risque selon la méthode décrite par le diagramme d'Ishikawa, en utilisant la méthode des 5 M, et la revue méthodique de tous les points critiques, en intégrant une échelle de criticité en prenant en compte au niveau du LBM une grille la fréquence et la gravité (échelle de 1 à 25).

Les éléments à maîtriser ont fait l'objet de plusieurs réunions avec le groupe de travail.

Les moyens de maîtrise de risques, à travers les procédures GH et procédures adaptées au LBM du site, des modes opératoires ou de nouvelles procédures ont été rédigées et listées pour répondre aux points critiques (se référer au document SH FORM 43 : annexe V).

Evaluations des performances de la méthode

a) Répétabilité

La répétabilité est réalisée avec deux pools de sérum à des niveaux de concentrations différents, avec 20 valeurs pour chaque niveau, dans des conditions standardisées, dans une même série.

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne en (g/l)	Ecart-type en g/l	CV (%)	CV (%) limite SFBC	Conclusion ²
Echantillon niveau 1	20	1.61	0.01	0.91	4.5	conforme
Echantillon niveau 2	20	2.85	0.02	0.82	3.8	conforme

Conclusions : Conforme aux spécifications SFBC sur les 2 niveaux

Les CV obtenus, comparés aux recommandations de la SFBC sont conformes.

b) Evaluation de la fidélité intermédiaire

Elle consiste à effectuer l'analyse de deux niveaux de contrôles internes (CQI) dans des conditions différentes (N° de lot des réactifs, calibration, utilisateurs, température, etc...) pour recueillir au minimum 30 valeurs pour chaque niveau de contrôles.

On calcule ensuite le cv, l'écart type et la moyenne, qu'on compare aux limites acceptables de la SFBC.

Fidélité intermédiaire : Contrôles Biorad Immunology (réf 595-596)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne En (g/l)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) limite SFBC	Conclusion ⁵
Contrôle niveau 2 (lot 66310)	30	1.61	0.03	2.13	5.0	conforme
Contrôle niveau 3 (lot 66310)	30	2.35	0.05	2.28	4.0	conforme

Conclusions : Conforme aux spécifications SFBC sur les 2 niveaux

Les résultats obtenus du cv pour les 2 niveaux de contrôles sont inférieurs aux limites acceptables de la SFBC.

c) Evaluation de la justesse (approche de la justesse).

On utilise les CIQ externalisés ; on calcule le biais ou erreur de justesse (en %) par rapport au groupe de pairs.

Justesse (approche de la) :

Cas des contrôles internes externalisés

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo (g/l)	Cible (groupe de pairs) g/l	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques) g/l	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) Limite SFBC	Conclusion ⁵
Biorad Immunology 2 Lot 66350	32	1.61	1.58	2.10	1.60	2.06	8.7	Conforme
Biorad Immunology 3 Lot 66350	44	2.35	2.38	-1.01	2.41	0.99	6.9	Conforme

Conclusions : Conforme aux spécifications SFBC sur les 2 niveaux (groupe de pairs)

Les pourcentages des biais obtenus pour les 2 niveaux de CIQ comparés au groupe de pairs, sont inférieurs aux limites acceptables de la SFBC.

d) Evaluation de l'exactitude

On utilise les valeurs de sept EEQ ponctuels de la société Probioqual, effectués durant l'année 2016.

On calcule les biais comparés au groupe de pairs.

Exactitude : Cas des contrôles externes ponctuels

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ)										
Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>										
Echantillons	Nombre total de laboratoires	Nb de pairs	Valeur Labo g/l	Cible (groupe de pairs) g/l	Biais (Labo/P) g/l	Cible (toutes techniques) g/l	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite Probioqual	Conclusion ⁵
16BA12	522	67	0.96	0.98	-0.019	0.96	-1.9	-0.5	13.6	Conforme
16BA17	518	73	1.16	1.20	-0.042	1.19	-3.5	-2.4	13.6	Conforme
16BA22	510	69	1.90	1.82	0.077	1.82	4.2	4.4	13.6	Conforme
16BA28	510	71	0.94	0.97	-0.031	0.96	-3.2	-2.2	13.6	Conforme
16BA37	512	69	1.79	1.79	-0.001	1.81	-0.1	-1.1	13.6	Conforme
16BA40	509	68	1.52	1.50	0.021	1.49	1.4	2.0	13.6	Conforme
16BA48	510	71	0.60	0.62	-0.019	0.64	-3.1	-6	13.6	Conforme

Conclusion : Conforme aux limites acceptables du probioqual

Les résultats obtenus, sont inférieurs aux limites acceptables recommandées par Probioqual.

e) Sensibilité et spécificité analytique :

La vérification concerne une technique quantitative (voir document fournisseur).

f) Evaluation des incertitudes de mesures

L'incertitude de mesure est liée à la fois, à :

- L'erreur aléatoire relative au processus analytique, qui peut être évaluée par le calcul de la fidélité avec les CIQ : CV en % et l'écart type.
- L'erreur relative attribuée à l'étalon, traduite par la variabilité observée lors des comparaisons inter-laboratoires.

La méthode d'évaluation des incertitudes utilisée est la méthode CIQ/EEQ.

Elle consiste à exploiter les données internes (CIQ) et des données externes que sont les EEQ.

Incertitudes de mesure :

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :					
Méthodologie : CIQ+EEQ ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>					
Exigence des performances (Ricos) : Erreur totale=27.3 %					
Incertitudes calculées			Ecarts	Incertitude composée	Incertitude élargie
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(EEQ)}$				K=2
				Incert c	Incert e
Quantification de l'incertitude (niveau 2) : 1.61 g/l	Composante de l'incertitude	Source de l'information	Ecarts	0.0528	0.105
	Incertitude due à la dispersion intra (CIQ)	Dispersion calculée à partir des CIQ	0.034		
	Incertitude due à la justesse	Ecart-type des écarts des EEQ	0.040		
		Ecart moyen des EEQ	-0.002		
Quantification de l'incertitude du contrôle niveau 2 selon la méthode CIQ/EEQ (k=2) 1.61 g/L +/- 0.10 Limite acceptable Ricos pour le niveau 2 (27.3%) : 1.608 +/- 0.44					
Quantification de l'incertitude (niveau 3) : 2.35 g/l	Composante de l'incertitude	Source de l'information	Ecarts	0.0671	0.134
	Incertitude due à la dispersion intra (CIQ)	Dispersion calculée à partir des CIQ	0.0536		
	Incertitude due à la justesse	Ecart-type des écarts des EEQ	0.040		
		Ecart moyen des EEQ	-0.002		
Quantification de l'incertitude du contrôle niveau 3 selon la méthode CIQ/EEQ (K=2) 2.35 g/L +/-0.13 Limite acceptable Ricos pour le niveau 3 (27.3 %) : 2.35 g/L +/- 0.64					

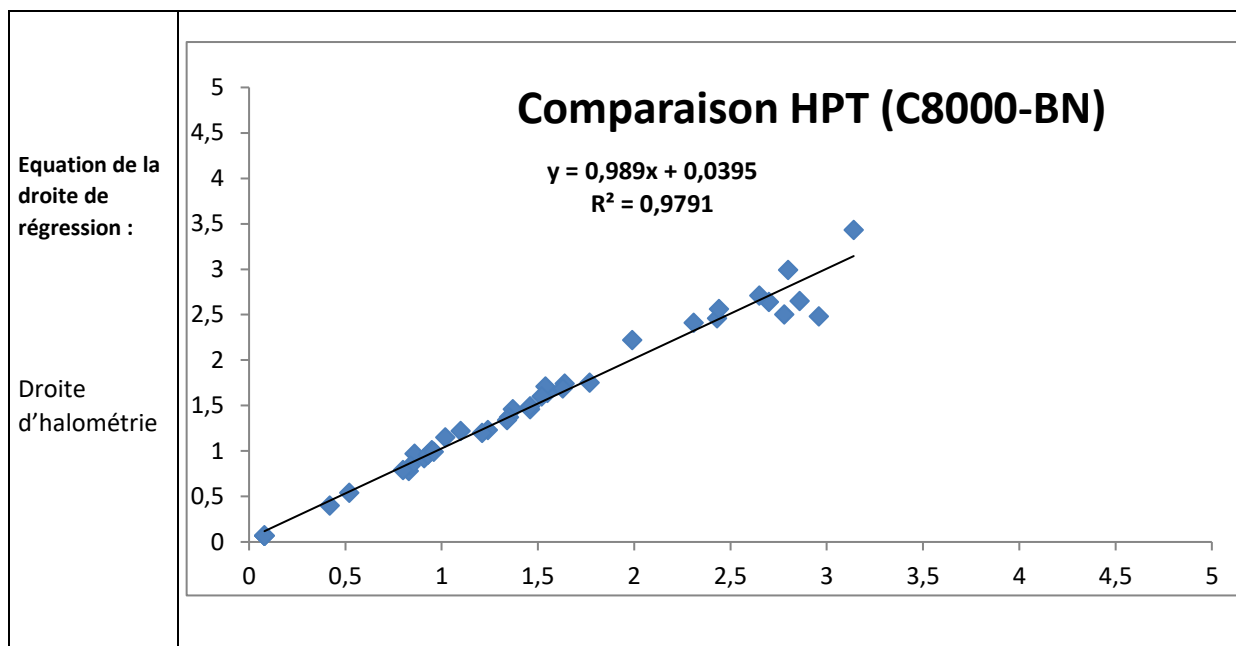
Les résultats obtenus pour les 2 niveaux de contrôle sont inférieurs aux limites acceptables de la SFBC.

g) Comparaison des deux méthodes

Celle-ci a consisté à vérifier la comparaison entre les 2 méthodes que sont la néphélométrie utilisée auparavant sur le BN II, et la turbidimétrie utilisée sur l'appareil Architect c8000.

Nous avons dosé 45 échantillons avec des concentrations variées couvrant une large gamme de valeurs, sur les 2 analyseurs. 5 valeurs ont été éliminées (forte hémolyse).

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications, ...) :	Données Abbott G4-5507/R04 Architect vs. Aeroset Ordonnée à l'origine: -0.88 g/L Coefficient de corrélation: 0.999 Pente : 0.98
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	BN2 (Siemens) Essais effectués en Juin 2015
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Intervalle de comparaison : 0.08 g/L à 3.43 g/L
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres rectangles : $Y=0.989+0.0395$ $R^2= 0.9791$; $R=0.989$



Corrélation-Droite d'halométrie

h) Le test de contamination effectué sur site selon le protocole établi et respectant les recommandations fournisseurs, montre un pourcentage de contamination de 1.4%, qui ne représente pas d'impact clinique sur les résultats patients.

. Les autres items de SH FORM 43, que sont :

- L'Etendue de mesure
- Les interférences
- La robustesse et stabilité des réactifs
- L'intervalle de référence

Sont documentés par la bibliographie et la documentation fournisseur.

III CONCLUSION

L'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2013 relative à la biologie médicale, modifiée par la loi n°2013-442 du 30 mai 2013, ayant abouti à une restructuration profonde des laboratoires tant publics que privés, et l'obligation pour ceux-ci d'accréditer à échéance Octobre 2020, 100% de leur activité selon la norme NF EN ISO 15189, constitue une tâche considérable à accomplir en un laps de temps déterminé.

L'objectif de s'approprier la notion de maîtrise du sujet de vérification de méthode, et la gestion responsable des contrôles de qualité, concernant le processus analytique est un impératif pour les biologistes.

J'espère apporter ma petite contribution au travail collectif du personnel du LBM, pendant cette période cruciale qui nous sépare de cette importante échéance.

IV BIBLIOGRAPHIE

- 1- Kamoun P, Frejaville J.P, Guide des examens de laboratoire. Haptoglobine sérique-4^e édition Flammarion, 2002 ; pp : 1375-1376
- 2- Néphélométrie-turbidimétrie, Borderie, traité EMC Biologie Médicale (90-60-0245) 2004, Elsevier
- 3- Turbidimétrie ou néphélométrie : quel choix pour les dosages de l'albumine, l'ApoA, la CRP, l'haptoglobine, l'IgM et la transthyrétine. Ann biol clin 2008, 66(1) : 63-78
- 5- Comparison of immunoturbidimetric and immunonephelometric assays for specific proteins, B.Mali, D.Armbruster, E.Serediak, and T.Oottenbreit. Clinical biochemistry 42 (2009): 1568-1571
- 6- Groupe de travail SFBC "Analyses de biologie médicale, spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de méthode de technique (Coordonnateur A.Vassault). Ann Biol clin 1999 ; 57 (6) : 685-695
- 7- Groupe de travail SFBC « Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F) Coordonnateur M Dumontet. Ann Biol Clin 2007 ; 65 (2) :185-200
- 8- Groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale » (M Vaubourdolle). Ann Bio Clin 2010, 68 (Hors-série n°1) :247-294
- 9- Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia- Lario JV, Hernandez A, Jiménez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. « Crurent data bases on biologic variations ; pros, cons and Progress » Scand J. Clin Lab. Ives 1999 ; 59 : 491-500

Documents COFRAC

- Norme NF EN ISO 15189 v2012.
- Norme SH 02.
- Norme SH 08 : Expression et évaluation des portées d'accréditation.
- Norme SH INF 50/ Port2e type d'accréditation.
- GTA 04 : Guide de validation des méthodes en biologie médicale.
- GTA 14 : Guide d'évaluation des incertitudes de mesure des analyses de biologie médicale.
- GTA 06 : Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale.

Liste des annexes

Annexe I : Représentation de l'appareil Architect c8000 (Abbott). Page 26

Annexe II : Figures représentant les principes de mesure analytique. Page 27

Annexe III : Fiche technique fournisseur des réactifs (Abbott). Page 28

Annexe IV : Fiche technique fournisseur du multicalibrateur protéines spécifiques (Abbott). Page 29

Annexe V : Fiche type de vérification (portée A) ; SH FORM 43. Page 30 à 41

Résumé

L'obligation de se conformer à la norme NF EN ISO 15189 pour tous les LBM publics ou privés est un fait consacré par la loi N° 2013-442 du 30 mai 2013.

Cela représente un défi et une tâche considérable pour l'ensemble des acteurs exerçant dans les LBM.

Ma participation à ce DU « Assurances Qualité » m'a permis de prendre conscience de la motivation nécessaire, et des connaissances pratiques et théoriques à assimiler pour contribuer à l'effort collectif de la politique qualité. Le travail collectif que nécessite une vérification/ validation de méthode est une preuve pour sensibiliser l'ensemble de l'équipe pour mener à bien le projet d'amélioration continue de la qualité.

Le LBM de l'Hôpital Paul Brousse a accrédité environ, 60% de l'activité.

Des efforts restent encore à accomplir ; Un planning sur la gestion de la portée flexible est établi au niveau de l'entité LBM PBR, mais également sur tout le GH.

A l'horizon 2019, Le LBM prévoit d'accréditer l'ensemble de notre activité.

La conviction que ce travail accompli, contribuera à une meilleure prise en charge du patient, est en soi une motivation et un encouragement.

Annexe I

DESCRIPTION GENERALE

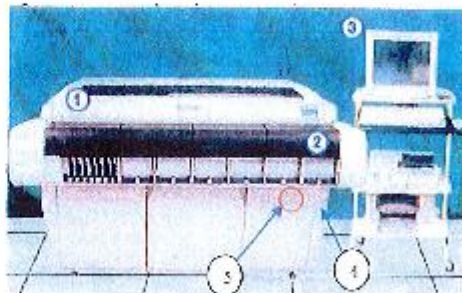
Pour plus de détails se reporter au **Manuel Technique**

L'ARCHITECT C8000 est un système entièrement automatisé permettant de réaliser des dosages :

- Potentiométriques avec des électrodes semi-conductrices.
- Photométriques en point final ou cinétique
- Immuno-turbidimétriques

Il se divise en 4 éléments principaux :

- 1 Le module d'analyse
- 2 Le passeur d'échantillon RSH
- 3 Le centre de contrôle
- 4 L'unité centrale



Éléments principaux de l'analyseur C8000

Il existe aussi un bouton arrêt d'urgence en façade (5) à n'utiliser qu'en cas de nécessité absolue, arrêt total de l'analyseur.

5.2.1 Le module d'analyse ou module chimie :

C'est la partie de l'analyseur qui effectue les tests. Cet analyseur est capable d'effectuer jusqu'à 800 tests photométriques et 600 tests potentiométriques par heure.

Il se compose de 5 éléments principaux :

1. le centre d'analyse
2. le clavier du module d'analyse
3. le centre des solutions communes
4. le centre des pompes
5. le centre des cartes électroniques



Annexe II

Principes de mesure.

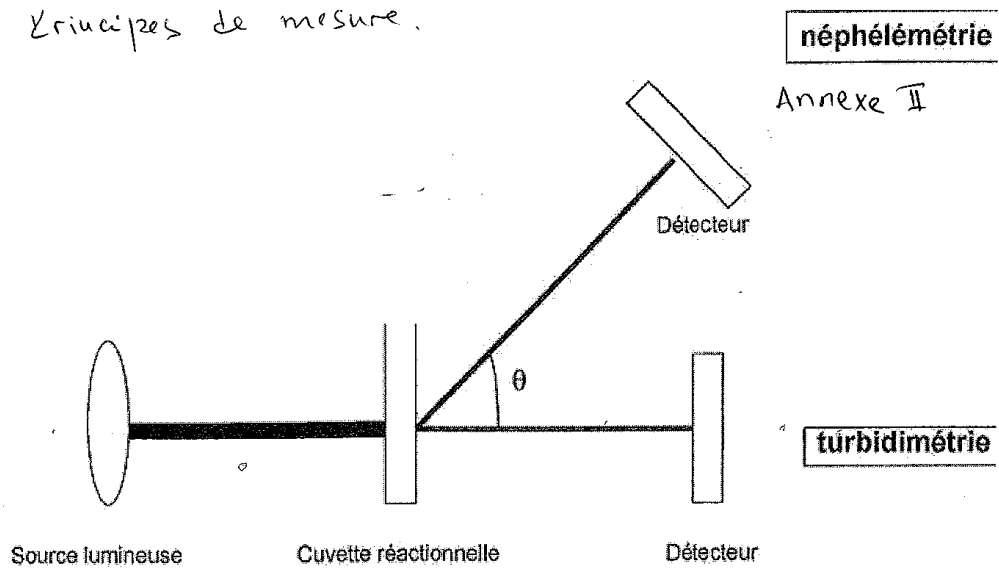


Fig. 2 :

Principe de mesure en néphélométrie et turbidimétrie.

➤ Fig. 3 :

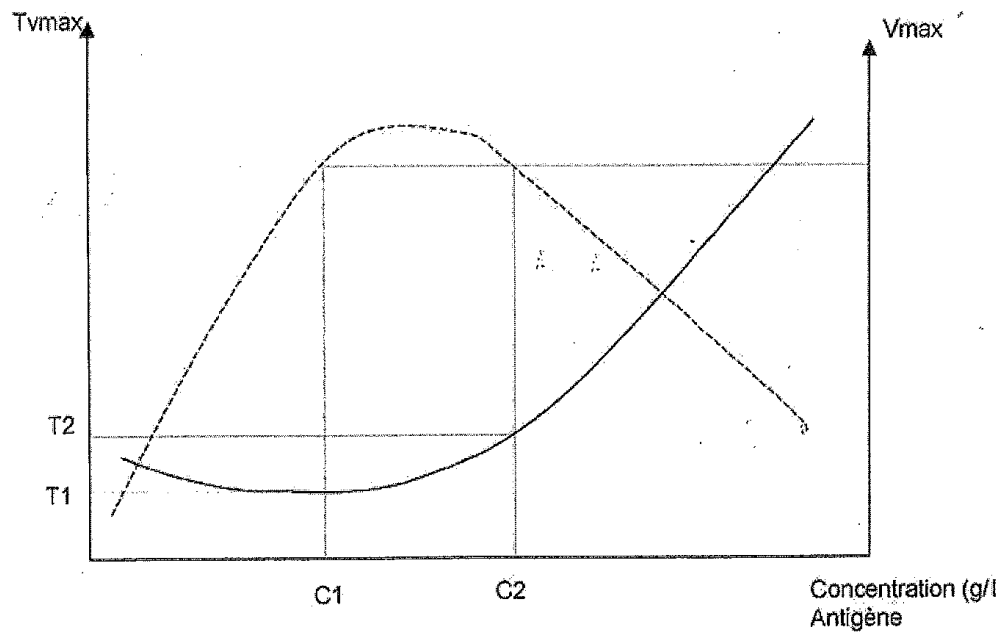


Fig. 3 :

Turbidimétrie cinétique : courbes V_{max} et T_{vmax} en fonction de la concentration en antigène à doser.

➤ Fig. 4 :

Annex III



fr

HAPTOGLOBIN
9D91
G6-5507/R04
B9D9B2

ARCHITECT

HAPTOGLOBIN

Cette notice contient des informations relatives à l'utilisation du dosage Haptoglobin sur les analyseurs ARCHITECT c Systems.

Faire attention aux modifications. Révision de novembre 2015.

Suivre scrupuleusement les instructions de cette notice. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

Service Clients : Retrouvez le contact de votre Service Clients Abbott sur www.abbottdiagnostics.com.

Légende des symboles	
CONTAINS AZIDE	Contient de l'azide de sodium. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
EC REP	Mandataire au sein de la Communauté européenne
FOR USE WITH	Identifie les produits à utiliser en association
MANUFACTURED FOR	Fabriqué pour
INFORMATION FOR USA ONLY	Informations requises uniquement pour les Etats Unis d'Amérique
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
LOT	Numéro de lot
PRODUCT OF JAPAN	Produit au Japon
R1	Réactif 1
R2	Réactif 2
REF	Référence
SN	Numéro de série
	Consulter les instructions d'utilisation
	Fabricant
	Suffisant pour
	Conserver à
	Date de péremption



ARCHITECT

**SPECIFIC PROTEINS
MULTICONSTITUENT CALIBRATOR**

REF 1E78
This package insert contains information for the use of Specific Proteins Multiconstituent Calibrator on the ARCHITECT cSystems.

Read Highlighted Changes Revises June 2013
Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

INTENDED USE
For use in the calibration of the Immunoglobulin A (IgA), Immunoglobulin G (IgG), Immunoglobulin M (IgM), Complement C3 (C3), Complement C4 (C4), Haptoglobin, and Transferrin assays.

CONTENTS / MATERIALS PROVIDED
REF 1E78-02 Specific Proteins Multiconstituent Calibrator
CALIT-3 1 x 1 mL
Specific Proteins Multiconstituent Calibrator is prepared from human IgA, IgG, IgM, C3, C4, haptoglobin, and transferrin fractions in human serum. Actual analyte concentrations for this lot of calibrator are listed in the Specific Proteins Multiconstituent Calibrator value sheet, packaged with the calibrators. Verify that the lot number listed on each calibrator bottle agrees with the lot number printed on the value sheet.
When converting the units for an assay, the following items must be edited, if applicable, using the appropriate conversion factor.

- Calibrator Concentration
- Reference Range
- Panic/Extreme Range
- Linear Range
- Qualitative/Interpretation Range
- Expected QC Values
- Repeat rules ranges
- Constituent assay ranges for calculated assays

STANDARDIZATION
Each bottle is prepared from human IgA, IgG, IgM, C3, C4, haptoglobin, and transferrin fractions in human serum. The calibrator value assignment for each calibrator level is determined using a reference method calibrated against **ERM-D4470**.

PRECAUTIONS
Precautions for Users

- **IVD**
- For *In Vitro* Diagnostic Use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix components from different kit lot numbers.

CAUTION: This product contains human sourced and/or potentially infectious components. Refer to the **CONTENTS / MATERIALS PROVIDED** section of this package insert. No known test method can offer complete assurance that products derived from human sources or inactivated microorganisms will not transmit infection. Therefore, all human sourced materials should be considered potentially infectious. It is recommended that this calibrator and human specimens be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens,¹ Biosafety Level 2² or other appropriate biosafety practices^{3,4} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

The human albumin used in **CAL** has been tested and found to be nonreactive for HBsAg, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV.

The following warning and precaution apply to **CAL**:
 Contains human
 components that may be infectious.
 Refer to the following website for more information:
<http://www.cdc.gov/od/ohrt/ehp/ehp.htm>

This material and its container must be disposed of in a safe way.
NOTE: Refer to *Section 8* of the ARCHITECT System Operations Manual for proper handling and disposal of products containing sodium azide.

- Safety Data Sheets are available at www.abbottdiagnostics.com or contact your local representative.

STORAGE AND STABILITY
Store unopened Specific Proteins Multiconstituent Calibrator at 2 to 8°C. Unopened calibrator is stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.
Opened calibrator is stable for 30 days when stored at 2 to 8°C tightly capped.

PREPARATION OF CALIBRATOR
Specific Proteins Multiconstituent Calibrator requires no preparation prior to use.

INSTRUCTIONS FOR USE
Calibration is performed by running a water blank and the Specific Proteins Multiconstituent Calibrator set. Water for the blank is provided by the instrument.

1. Verify that the correct calibrator values have been entered into the calibration file.
2. Mix bottle several times by gentle inversion.
3. Open bottle, place an appropriate amount of each calibrator in a separate sample cup, and place in the assigned positions.
4. Cap bottle tightly and return to refrigerated storage immediately after use.
5. Perform calibration as indicated in the ARCHITECT System Operations Manual.

INDICATIONS OF INSTABILITY OR DETERIORATION
Instability or deterioration should be suspected if there are visible signs of leakage, extreme turbidity, microbial growth, or if calibration does not meet the appropriate reagent package insert and/or ARCHITECT System Operations Manual criteria.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE
Accurate and reproducible results are dependent upon properly functioning instruments and reagents, storage of product as directed, and good laboratory technique.

BIBLIOGRAPHY

1. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
2. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 3rd ed. Washington, DC: US Government Printing Office, **95-1622000**.
3. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
4. Sewell DL, Bove KE, Callihan DF, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

TRADEMARKS
The ARCHITECT cSystem family of Instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.
ARCHITECT, c4000, c8000, c16000, and cSystem are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.
All trademarks are property of their respective owner(s).

Annexe V

	<h1>Fiche type de vérification (portée A)</h1>
---	--

Note : le laboratoire se référera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera **une fiche par examen de biologie médicale**

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre : Haptoglobine sur Architect c8000-2 (c802983)
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/>

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

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

Argumentaire (le cas échéant) :

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

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

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



Fiche type de vérification (portée A)

SOUS-PROCESSUS 1 : Haptoglobine

Portée A

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Haptoglobine
Principe de la Méthode :	Immunoturbidimétrie
Type d'échantillon primaire :	Sérum
Type de récipient, additifs :	Tube sec avec gel séparateur
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation 10mn-2100g
Unités :	g/L
Critères d'interprétation ² :	0,30-2,0 g/L
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	HJ
Equipement (instrument, analyseur, etc.) :	Architect c8000 (Abbott) N° série c802983 (C2)
Référence du réactif :	ABBOTT réf 9D91
Matériau d'étalonnage (références) :	Spécific proteins multiconstituent calibrator réf 1E78
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Cinétique en 5 points : 0.81, 1.63, 2.71, 3.79, 5.42.

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Mohamed TAKKA Patrick PHAM
Procédure de validation/mode opératoire :	PS—HUPS-ANA-PLUS-PG-001
Procédure de gestion de la portée flexible :	PS-HUPS-ANA-QUAL-PG-003 PS-HUPS-ANA-QUAL-DE-001
Période d'étude :	Juin 2015
Date de 1 ^{ère} utilisation :	Février 2016
Date de finalisation du dossier de vérification de méthode SHFORM43	Aout 2017

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



Fiche type de vérification (portée A)

MAITRISE DES RISQUES (Le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ³	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité	20	Formation et information du personnel	<ul style="list-style-type: none"> • « Réception des examens » (PS-P-BIO-THEM-PRE-MO-002-04) • Qualification à la réception (PS-BIO-PER-CADRE-DE-024-02)
	Préparation du patient	12	Information des patients et préleveurs	<ul style="list-style-type: none"> • Manuel de prélèvement (PS-HUPS-SMQ-QUAL-DE-004-03) • Répertoire des examens (PS-HUPS-PRE-PRE-DE-006-10)
	Type de contenants	15	Formation des préleveurs Tube sec- gel séparateur	<ul style="list-style-type: none"> • Manuel de prélèvement (PS-HUPS-SMQ-QUAL-DE-004-03)
	Nature et volume de l'échantillon	12	Sang Contrôle à réception	<ul style="list-style-type: none"> • « Réception des examens » (PS-P-BIO-THEM-PRE-MO-002-04) •
	Délai et température avant traitement analytique	16	Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	<ul style="list-style-type: none"> • Répertoire des examens (PS-HUPS-PRE-PRE-DE-006-10)
	Prétraitement : centrifugation, ...	9	Conditions de centrifugation : 10 min à 2100g à T° ambiante	<ul style="list-style-type: none"> • Maintenance annuelle des centrifugeuses (vérification du matériel sur le plan sécurité) • Conditions de centrifugation (PS-P-BIO-PRE-MO-001-03)
	Interférences	15	Formation des préleveurs Contrôle à réception	<ul style="list-style-type: none"> • Manuel de prélèvement (PS-HUPS-SMQ-QUAL-DE-004-03)

³ A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



Fiche type de vérification (portée A)

MAITRISE DES RISQUES (Le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ³	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	9	Métrologie/ suivi des enceintes	Instructions de conservation : Fiches techniques des fournisseurs
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)	6	Sondes des enceintes reliées au logiciel SIRIUS Sondes de T° de l'analyseur c8000	Enregistrements métrologiques : -T° des enceintes réfrigérées sous la surveillance du logiciel SIRIUS (PS-A-BIO-MET-METRO-MO-008-02) - Relevé quotidien de la T° ambiante (PS-A-BIO-MET-METRO-DE-001-01)
	Exigences environnementales pour le matériel ou l'opérateur	9	Conditions environnementales (statiques et/ou dynamiques dans le temps) Lecture à la lumière du jour	Exigences / manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrements des conditions environnementales
Matériel (équipements)	Qualité de l'eau	12	Mesure de la résistivité de l'eau : Station d'eau (ELGA)	Traçabilité des vérifications : -Tableau des maintenances du C8000 (PS-P-BIO-MAT-BGEN-DE-001-02) -Tableau de maintenance de la station ELGA (PS-P-BIO-MAT-BGEN-DE-003-02)
	Surveillance des dérives	8	Maintenances de l'analyseur c8000 CIQ/EEQ	-Tableau des maintenances du C8000 (PS-P-BIO-MAT-BGEN-DE-001-02) -Fiche technique CIQ fournisseur, -Gestion des CIQ Biorad : (PS-P-BIO-CQ-PLUS-PG-001-05) -CIQ conduite à tenir : (PS-P-BIO-CQ-PLUS-MO-001-05) -Gestion des EEQ Probioqual : (PS-P-BIO-CQ-PLUS-PG-002-05)
	Contamination	6	Respect des conditions opératoires du fournisseur	Manuel d'utilisation du c8000 (Abbott) en ligne sur l'analyseur
	Informatique embarquée	12	Paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données, ...	-Archivage des résultats, sauvegarde interne, archivage des contrôles et des calibrations' sauvegarde externe : Tableau des maintenances du C8000 (PS-P-BIO-MAT-BGEN-DE-001-02) -Vérification des transmissions des données informatiques : (PS-HUPS-INF-MO-002-02)



Fiche type de vérification (portée A)

MAITRISE DES RISQUES (Le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ³	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation	6	Métrie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	-Fiches fournisseur -Traçabilité métrologique (PS-HUPS-MET-METRO-DE-022-01)
	Gestion des stocks	8	Acceptation à réception des réactifs Gestion des stocks	-Vérification des réactifs à chaque livraison -Gestion des stocks et des lots -Mise en place d'un stock minimum
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	8	Métrie des pipettes Respect du mode opératoire de reconstitution et gestion des stocks (y compris acceptation)	-Traçabilité métrologique des pipettes (PS-HUPS-MET-METRO-MO-010-01) -Instructions de reconstitution des fournisseurs (volumes, température de conservation) -Traçabilité de la reconstitution des contrôles et calibrants : (PS-P-BIO-ANA-PLUS-DE-001-02)
Méthode	Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, ...)	4	Bibliographie	Documents fournisseurs
	Causes d'incertitude de mesure	3	Calcul des incertitudes de mesure	-Procédure de vérification/validation d'une méthode de dosage quantitative : (PS-HUPS-ANA-QUAL-PG-001-03) ; et (PS-P-BIO-ANA-PLUS-PG-005-02) -Données SFBC, RICOS (erreur totale)
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	6	Formation et évaluation des compétences du personnel, plan de formation	Habilitation du personnel -Procédures d'habilitation : (PS-HUPS-PER-PLUS-PG-002-05) -(PS-P-BIO-PER-PM-PG-001-01) -(PS-P-BIO-PER-CADRE-PG-001-xx) -Questionnaire qualification c8000 (PS-P-BIO-PER-CADRE-DE-020-02) -Parcours de formation du secteur Biochimie Générale (PS-P-BIO-PER-CADRE-DE-006-05) -QCM qualification à la réception : (PS-P-BIO-PER-CADRE-DE-024-02)



Fiche type de vérification (portée A)

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) :

Répétabilité : Pool de sérum

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne en (g/l)	Ecart-type en g/l	CV (%)	CV (%) limite SFBC	Conclusion ⁴
Echantillon niveau 1	20	1.61	C= 0.01	0.91	4.5	conforme
Echantillon niveau 2	20	2.85	C=0.02	0.82	3.8	conforme

Conclusions : Conforme aux spécifications SFBC sur les 2 niveaux

Fidélité intermédiaire : Contrôles Biorad Immunology (réf 595-596)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne En (g/l)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) limite SFBC	Conclusion ⁵
Contrôle niveau 2 (lot 66310)	30	1.61	0.03	2.13	5.0	conforme
Contrôle niveau 3 (lot 66310)	30	2.35	0.05	2.28	4.0	conforme

Conclusions : Conforme aux spécifications SFBC sur les 2 niveaux

VARIABILITE INTER-OPERATEURS

Applicable ; non applicable

Opérateur évalué 1	Technique automatisée
Opérateur évalué 2	
...	

Argumentaire de la conclusion : Technique automatisée ; pas de variabilité inter-opérateurs

⁴ Conforme/non conforme



Fiche type de vérification (portée A)

Justesse (approche de la) :

Cas des contrôles internes externalisés

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo (g/l)	Cible (groupe de pairs) g/l	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques) g/l	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) Limite SFBC	Conclusion ⁵
Biorad Immunology 2 Lot 66350	32	1.61	1.57	2.10	1.61	2.06	8.7	Conforme
Biorad Immunology 3 Lot 66350	44	2.35	2.38	-1.01	2.41	0.99	6.9	Conforme

Conclusions : Conforme aux spécifications SFBC sur les 2 niveaux (groupe de pairs)

Exactitude : Cas des contrôles externes ponctuels

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ) Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>										
Echantillons	Nombre total de laboratoires	Nb de pairs	Valeur Labo g/l	Cible (groupe de pairs) g/l	Biais (Labo/ P) g/l	Cible (toutes techniques) g/l	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite Probioqual	Conclusion ⁵
16BA12	522	67	0.96	0.98	-0.019	0.97	-1.9	-0.5	13.6	Conforme
16BA17	518	73	1.16	1.20	-0.042	1.19	-3.5	-2.4	13.6	Conforme
16BA22	510	69	1.90	1.82	0.077	1.82	4.2	4.4	13.6	Conforme
16BA28	510	71	0.94	0.97	-0.031	0.96	-3.2	-2.2	13.6	Conforme
16BA37	512	69	1.79	1.79	-0.001	1.81	-0.1	-1.1	13.6	Conforme
16BA40	509	68	1.52	1.50	0.021	1.49	1.4	2.0	13.6	Conforme
16BA48	510	71	0.60	0.62	-0.019	0.64	-3.1	-6	13.6	Conforme

Conclusion : Conforme aux limites acceptable du probioqual



Fiche type de vérification (portée A)

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE
 (étude expérimentale indispensable en portée B)
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A)
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Vrais positifs	Spécificité, sensibilité, VPN, VPP
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : Technique quantitative

Incertitudes de mesure :

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie : CIQ+EEQ ; calcul <input checked="" type="checkbox"/> Exigence des performances (Ricos) : Erreur totale= 27.3%					
Incertitudes calculées			Ecart	Incertitude composée	Incertitude élargie
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(EEQ)}$				K=2
				Insert c	Insert e
Quantification de l'incertitude (niveau 2) : 1.608 g/l	Composante de l'incertitude	Source de l'information	Ecart	0.0528	0.105
	Incertitude due à la dispersion intra (CIQ)	Dispersion calculée à partir des CIQ	0.034		
	Incertitude due à la justesse	Ecart-type des écarts des EEQ	0.040		
		Ecart moyen des EEQ	-0.002		
Quantification de l'incertitude du contrôle niveau 2 selon la méthode CIQ/EEQ (k=2) 1.61 g/L +/- 0.10 Limite acceptable Ricos pour le niveau 2 (27.3 %) : 1.608 +/- 0.44					
Quantification de l'incertitude (niveau 3) : 2.35 g/l	Composante de l'incertitude	Source de l'information	Ecart	0.0671	0.134
	Incertitude due à la dispersion intra (CIQ)	Dispersion calculée à partir des CIQ	0.0536		
	Incertitude due à la justesse	Ecart-type des écarts des EEQ	0.040		
		Ecart moyen des EEQ	-0.002		
Quantification de l'incertitude du contrôle niveau 3 selon la méthode CIQ/EEQ (K=2) 2.35 g/L +/- 0.13 Limite acceptable Ricos pour le niveau 3 (27.3 %) : 2.35 g/L +/- 0.64					

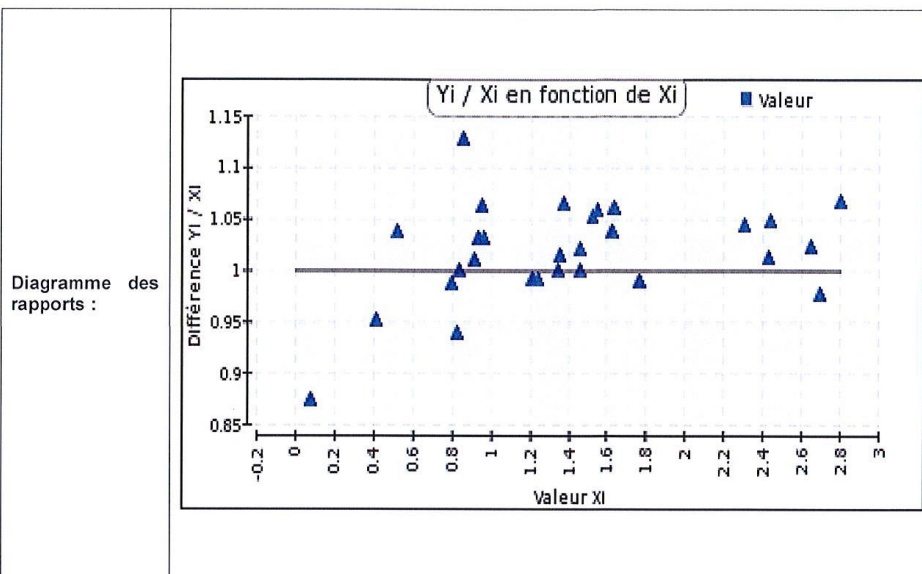
Conclusions : Conforme par rapport aux recommandations SFBC



Fiche type de vérification (portée A)

COMPARAISON DE METHODES : Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Données Abbott G4-5507/R04 Architect vs. Aeroset Ordonnée à l'origine: -0.88 g/L Coefficient de corrélation: 0.999 Pente : 0.98
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	BN2 (Siemens) Essais effectués en Juin 2015
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Intervalle de comparaison : 0.08 g/L à 3.43 g/L
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres rectangles
Equation de la droite de régression : Droite d'allométrie	<p style="text-align: center;">Correlation HPT (C8000-BN)</p> <p style="text-align: center;">$y = 0,989x + 0,0395$ $R^2 = 0,9791$</p>

Fiche type de vérification (portée A)



Conclusion : L'étude de comparaison entre le BN2 et le c8000 est acceptée selon les recommandations de la SFBC sur le domaine de mesure.

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Limite de détection :	Etude bibliographique : Fiche technique Abbott G4-5507/R04 Limite de détection : 0.04 g/L
Limite de quantification :	Etude bibliographique : Fiche technique Abbott G4-5507/R004 Limite de quantification : 0.026 g/L
Limite supérieure de linéarité :	Etude bibliographique : Fiche technique Abbott G4-5507/R04 Limite supérieure de linéarité : 2.50 g/L

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
bilirubine	Concentration de la substance interférente : 1026 µmol/L
Hémoglobine	Concentration de la substance interférente : 20g/L
Triglycérides humains	Concentration de la substance interférente : 11.3 µmol/L

Conclusion : Aucune interférence n'a été observée aux concentrations ci-dessus.
Fiche technique Abbott G4-5653/R03



Fiche type de vérification (portée A)

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, β HCG, ...):	Maitrise de la contamination inter échantillons par un protocole de lavage de l'aiguille échantillon (détergent A) Test de contamination réalisé au laboratoire : 1.4%
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):	Maitrise de la contamination inter réactif avec le protocole SMARTWASH (détergent A)

Conclusion : Le dosage des protéines sur l'analyseur c8000 ne présente pas de risque de contamination.

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	Fiche technique fournisseur : Le réactif non ouvert reste stable jusqu'à la date de péremption mentionnée s'il est conservé à une température comprise entre 2 et 8°C
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	Fiche technique fournisseur : La stabilité des réactifs à bord de l'appareil est de 57 jours, à condition que les contrôles de qualité répondent aux critères de validation.

Conclusions : Les conditions requises par le fournisseur correspondent aux besoins du laboratoire

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Valeurs de référence	Fiche technique Abbott G4-5507/R04 Sasse EA, Aziz KJ, Harris EK, et al. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline (C28-A). Villanova, PA/ the National Committee for clinical Laboratory Standards, 1999.

Argumentaire de la conclusion :

DECLARATION d'APTITUDE
Conclusion : Méthode conforme, répondant aux critères retenus par le laboratoire. Autorisation par le biologiste référent Technique en biochimie en cours. Autorisée par : Signature

Fiche type de vérification (portée A)

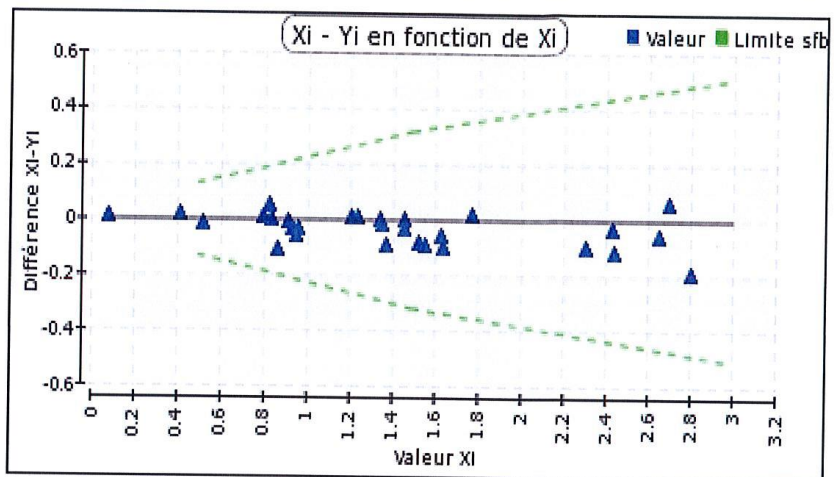


Diagramme des différences