

Université Pierre et Marie Curie -
Sorbonne Universités

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

Vérification de méthode – Portée A :
Dosage de la vitamine D sur Liaison XL
DiaSorin[®]

Abdellah AÏT BACHIR
Année 2017-2018

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 D.U. concerné.

Abdellah AÏT BACHIR
Biologiste pharmacien. Praticien attaché
Laboratoire des explorations fonctionnelles et physiologiques
Hôpital Necker – Enfants malades. 149, rue de Sèvres. 75743 Paris cedex 15
abdellah.ait-bachir@aphp.fr
01.44.394.394



Remerciements :

Je tiens à remercier les organisateurs du DU pour la qualité des enseignements théoriques et pratiques, et pour avoir été à l'écoute et apporté les réponses à mes interrogations, et ainsi pour m'avoir donné une vision globale et claire de la qualité en biologie médicale.

Je remercie les membres du Jury qui me font l'honneur de juger ce travail.

Je remercie également mes collègues au laboratoire des explorations fonctionnelles de l'hôpital Necker-enfants malades pour m'avoir permis de réaliser ce projet, et pour m'avoir aidé et soutenu.

SOMMAIRE

I - Introduction	7
1. Intérêt et objectifs	8
2. Calendrier de l'étude	9
3. Choix de la méthode	10
4. Description de la méthode	10
5. Limites de l'étude	12
II : Méthodologie utilisée	13
1- Evaluation de la répétabilité	15
2- Fidélité intermédiaire	16
3- Evaluation de la justesse	18
4- Evaluation de l'exactitude	19
5- Calcul de l'incertitude de mesure	20
6- Comparaison de méthode	21
7- Intervalle de mesure	22
8- Etude des interférences	23
9- Evaluation de la contamination	24
10- Robustesse et stabilité des réactifs	25
11- Détermination de l'intervalle de référence :	25
IV : Analyse et interprétation	27
V : Conclusion	27
VI : Bibliographie	28

GLOSSAIRE

1,25OH ₂ D	1,25 dihydroxyvitamine D (calcitriol)
25OHD	25 hydroxyvitamine D (calcidiol)
CIQ	Contrôle interne de qualité
COFRAC	Comité français d'accréditation
CV	Coefficient de variation
CE	Certification selon la norme européenne
DBP	Vitamin D binding protein (protéine liant la vitamine D)
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique (adjuvant anticoagulant)
EEQ	Evaluation externe de la qualité
ET	Ecart type
FGF23	Fibroblast growth factor 23 (facteur de croissance des fibroblastes)
ISO	Organisation internationale de normalisation
LBM	Laboratoire de biologie médicale
LC/MS-MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.
PTH	Parathormone
RLU	Relative light units
SFBC	Société Française de Biologie Clinique

I - Introduction

- **L'hôpital:**

L'hôpital Necker-Enfants malades accueille à la fois des enfants et des adultes : à côté des 400 lits dédiés à la pédiatrie, offrant toute la palette des activités de médecine et de chirurgie de l'enfant, il dispose de services adultes spécialisés de plus de 200 lits. L'hôpital est également doté de plusieurs unités de recherche, centres de référence pour de nombreuses maladies rares et pour des pathologies particulièrement lourdes ou complexes.

- **Le Laboratoire:**

Le laboratoire des explorations fonctionnelles physiologiques et neurophysiologiques fait partie du pôle biologie et produits de santé.

Ce dernier, désigné sous le nom de LBM a reçu son accréditation initiale en 2014. A ce jour 90% des examens sont accrédités par le COFRAC, avec un renouvellement de l'accréditation prévue en septembre 2018.

Le laboratoire réalise des bilans d'explorations pour les services de l'hôpital Necker, mais reçoit également des demandes venant d'autres hôpitaux et laboratoires. Les examens réalisés sont les bilans phosphocalcique, thyroïdien, du métabolisme glucidique et de la croissance, et le dosage des hormones surrénaliennes, avec une expertise en pédiatrie.

Dans le cadre de la politique qualité du LBM, et pour satisfaire l'objectif d'accréditer 100% des examens en 2020, nous avons procédé à différentes validations/vérifications de méthode dont celle présentée dans ce mémoire.

- **La vitamine D :**

La vitamine D est une hormone essentielle pour l'évaluation et l'interprétation du bilan phosphocalcique.

Il existe deux vitamines D ; la vitamine D3 ou cholécalciférol qui est la vitamine D animale et humaine (celle que l'on synthétise en s'exposant au soleil), et la vitamine D2, ou ergocalciférol qui est la vitamine D des plantes. Les sources alimentaires de vitamine D3 sont peu nombreuses, les seules significatives étant retrouvées dans les poissons gras marins, et les sources de vitamine D2 sont quasiment inexistantes dans l'alimentation européenne⁽¹⁾. Les suppléments médicamenteux peuvent toutefois être soit de la vitamine D2 (Sterogyl[®], Uvésterol[®]), soit de la vitamine D3 (Uvédose[®], Zyma D[®], Vitamine D3 BON[®]).

Qu'elle soit D2, ou D3, la vitamine D est transportée dans le plasma par la vitamin D binding protein (DBP) et est hydroxylée dans la cellule hépatique en 25 hydroxy Vitamine D (25OHD) ou calcidiol. Cette dernière peut ensuite être de nouveau hydroxylée, cette fois sur le carbone 1, dans les cellules du tubule proximal rénal pour former la 1,25 dihydroxy vitamine D (1,25OH₂D) ou calcitriol, le métabolite actif de la vitamine D. Cette hydroxylation rénale est très étroitement régulée, stimulée principalement par la PTH et inhibée par le FGF23 et le calcitriol lui-même.

Le rôle principal du calcitriol est de stimuler l'absorption intestinale du calcium et du phosphate. Il favorise également la résorption osseuse et la réabsorption du calcium au niveau des cellules du tube distal. Il s'agit, avec la PTH et le FGF23, d'une des hormones « calciotropes ».

Le calcitriol peut être également produit par de très nombreux autres tissus de l'organisme pour agir de manière locale et exercer des effets dits « non-classiques » sur la prolifération cellulaire, l'apoptose, l'inflammation.... Cette production périphérique de calcitriol n'est a priori pas relarguée dans la circulation et ne participe donc pas à la concentration sanguine de calcitriol ni aux effets phosphocalciques de la vitamine D. ⁽¹⁾

1. Intérêt et objectifs

Un statut vitaminique D satisfaisant est aujourd'hui considéré comme un préalable à l'instauration d'un traitement de fond de l'ostéoporose^{(2) (3)}. Un traitement par vitamine D (800 UI/J au moins) associé si besoin à du calcium permet de réduire significativement le risque relatif de fractures ostéoporotiques non vertébrales chez les patients de plus de 65 ans⁽⁴⁾.

Par consensus, le statut vitaminique D est évalué par le dosage de la 25OHD. Le dosage de la 1,25OH₂D est quant à lui réservé en deuxième intention à certaines situations pathologiques comme par exemple les hypercalcémies avec PTH basse⁽²⁾, afin de compléter et expliquer le bilan phosphocalcique dans ces situations particulières, où le dosage de la 25OHD seule est mis à défaut.

En France, le dosage de la vitamine D est remboursé uniquement dans certaines situations cliniques: diagnostic du rachitisme; de l'ostéomalacie; au cours d'un suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de trois mois après transplantation; avant et après une chirurgie bariatrique; lors de l'évaluation et de la prise en charge des personnes âgées

sujettes aux chutes répétées ; ainsi que dans le cadre du respect des RCP de médicaments préconisant la réalisation du dosage de vitamine D.⁽⁶⁾

Ainsi du fait de son expertise, notamment en pédiatrie, l'exploration du métabolisme phosphocalcique est l'une des activités principales de notre laboratoire. Le dosage de la vitamine D étant un paramètre important de ce bilan, nous nous devons d'assurer un rendu optimal des résultats de ces dosages.

Dans cette optique, je me suis vu attribuer à mon arrivée au laboratoire (et dans le cadre du stage pratique pour mon DU) la tâche d'effectuer la vérification de méthode du dosage de la 25OHD et de la 1,25OH₂D, ainsi que la maîtrise des risques relatifs, en vue de les présenter à l'accréditation début 2019.

Vu que les deux analytes décrits se confondent dans l'interprétation clinique du statut vitaminique D, et qu'ils sont prescrits ensemble dans plusieurs situation cliniques⁽²⁾, et parce que j'ai personnellement participé aux deux évaluations au cours de mon stage, j'ai fait le choix de réunir les deux dosages dans ce rapport, en faisant attention à distinguer les différences propres à chaque dosage.

2. Calendrier de l'étude

Le dosage de la vitamine D est réalisé sur Liaison XL depuis 2016. Des évaluations préalables ont été réalisées par le fournisseur lors de l'installation de l'appareil, ainsi que par le biologiste en charge du dosage. Ma contribution personnelle à ce projet à consisté à partir de Mai 2018 à :

- Analyser les données de la littérature
- Effectuer l'analyse des risques selon la méthode des 5M. Réunions avec les techniciens du laboratoire afin d'évaluer les éléments à maîtriser.
- Rassembler et analyser les données effectuées sur l'appareil lors de son installation (répétabilité).
- Recueillir et analyser les données de CIQ et EEQ sur une durée d'approximativement 1 an.
- Sélectionner et analyser les échantillons en vue de la comparaison de méthode.
- Etablir les SH FORM 43 et soumettre à l'accréditation.

3. Choix de la méthode

Anciennement, le dosage de la 25OHD et de la 1,25OH₂D était réalisé sur l'automate IDS Isys[®]. Par la suite une comparaison des performances faite en 2015 par un biologiste du laboratoire a démontré que le Liaison XL[®] présentait une meilleure exactitude, notamment révélée au cours des enquêtes d'EEQ.

Cela a conduit notre laboratoire à adopter cet automate au dosage de nos deux analytes.

Cette évolution entre dans le cadre d'une démarche d'amélioration continue de la qualité, et dont les différentes étapes peuvent être représentées par la roue de Deming.

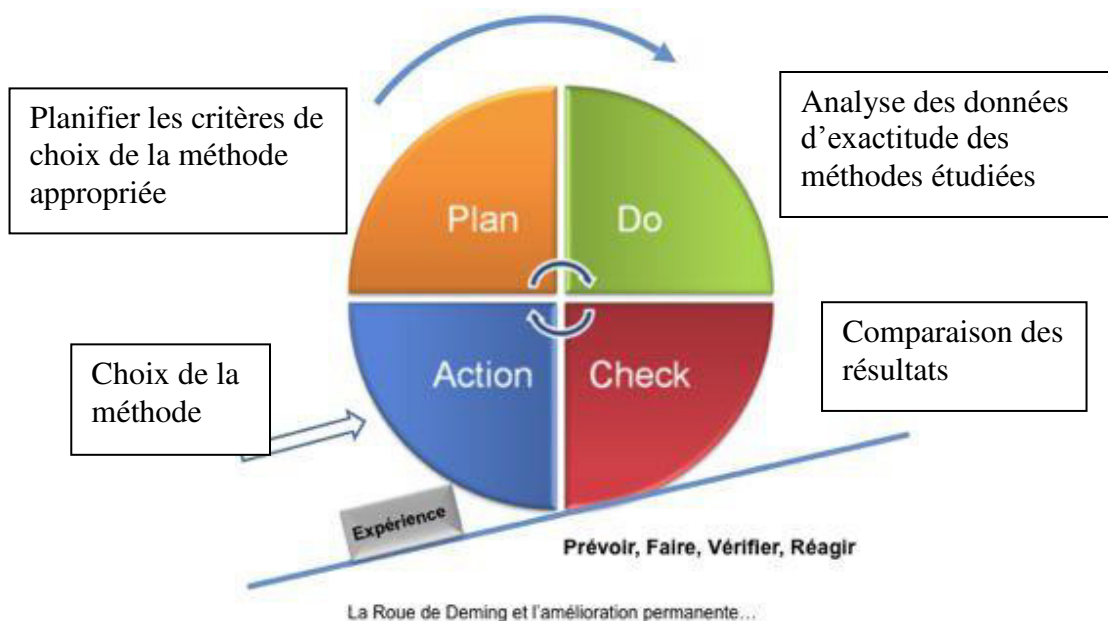


Figure 1 : Amélioration continue de la qualité (Roue de Deming)

Dans notre cas, le critère de choix est l'exactitude des résultats, notamment en comparaison avec la méthode définie comme référence (LC-MS/MS) lors des EEQ.

4. Description de la méthode

Au niveau du laboratoire des explorations fonctionnelles de l'hôpital Necker – Enfants malades, nous réalisons le dosage des deux formes: 25OHD et 1,25OH₂D sur l'automate Liaison XL DiaSorin[®].

Ce dosage (que ça soit celui de la 25OHD ou de la 1,25OH₂D) donne la concentration en vitamine D totale (c'est-à-dire à la fois des formes D2 et D3), ce qui est le seul chiffre

intéressant le clinicien, et qui fait abstraction des interférences analytiques rencontrées entre les différentes formes.

- Le dosage Liaison 25OH Vitamin D est un dosage immunologique direct par compétition par chimioluminescence (CLIA). Il se déroule comme suit :

- 1ère incubation: la 25OHD est dissociée de sa protéine de liaison et se lie à l'anticorps spécifique en phase solide.

- Au bout de 10 minutes, ajout du marqueur (25OHD liée à un dérivé de l'isoluminol).

- 2ème incubation de 10 minutes, la matière non liée est éliminée par un cycle de lavage.

- Ajout des inducteurs, provoquant une réaction instantanée de chimioluminescence. Le signal lumineux est mesuré en unités de lumière relative (RLU) par un tube photomultiplicateur et il est inversement proportionnel à la concentration de 25OHD dans les étalons, les contrôles ou les échantillons.

- Le dosage de la 1,25OH₂D se fait grâce à une technique type sandwich modifiée en 3 étapes qui utilise une protéine de fusion recombinante pour la capture de la molécule de 1,25OH₂D et un anticorps monoclonal murin qui reconnaît spécifiquement le complexe formé entre ces deux molécules.

Suite à des étapes de lavage similaires, La troisième étape consiste à ajouter le conjugué et à réaliser une incubation. Le matériel non lié est éliminé par une seconde étape de lavage. Les réactifs Starter sont ensuite ajoutés et une réaction instantanée de chimioluminescence est amorcée

A la différence du dosage de la 25OHD, le signal lumineux, mesuré en unités relatives de luminescence (RLU) par un tube photomultiplicateur, est proportionnel à la concentration de 1,25OH₂D.

Les dosages en routine se font sur tube sec, (plasma toléré pour la 1,25OH₂D) à jeun de préférence mais non obligatoire. Le sérum (tube sec) est préféré car il permet de doser la quasi-totalité des paramètres de métabolisme phosphocalcique et osseux.

Attention : Le dosage de la 25OHD doit se faire obligatoirement sur sérum. Le dosage sur plasma présente un biais moyen de 22% par rapport au sérum (voir annexe 1)

Les caractéristiques des dosages de la 25OHD et de la 1,25OH₂D sont décrites dans le tableau suivant :

Talbeau1 : Caractéristiques des dosages de la 25OHD et de la 1,25OH₂D :

Analyte	25OHD	1,25OH ₂ D
Méthode d'analyse	Compétition	Sandwich
Nature de l'échantillon patient	Sérum, plasma sur tube héparine ou EDTA, de préférence à jeun	
Volume échantillon nécessaire	175 µl	225 µl
Durée de conservation des échantillons	3j à T° ambiante ; 7 jours à 2-8°C ; 3 mois à ≤ -20°C	
Réactif utilisé (conjugué)	25OHD conjuguée à un dérivé de l'isoluminol	Anticorps monoclonal murin conjugué à un dérivé de l'isoluminol
Diluant	25OH vit D total diluent	Liaison XL 1,25 hydroxy Vit D diluent
Etalons	Sérum humain contenant de la 25OHD à des concentrations connues	Sérum humain lyophilisé contenant de la 1,25OH ₂ D à des concentrations connues
Temps de l'analyse	30 minutes	65 minutes
CQI	- Contrôle du fournisseur : 2 niveaux- CQI Probioqual : 3 niveaux	
EEQ	- Probioqual: 12 enquêtes/an- DEQAS: tous les 3 mois	
Facteur de conversion	1 ng/ml = 2,5 nmol/l	1 pg/ml = 2,4 pmol/l
Valeurs de référence	30 – 60 ng/ml.	Nourrissons : 30 – 150 pg/ml Enfants : 30 – 80 pg/ml Adolescent : 30 – 120 pg/ml Adultes : 15 – 60 pg/ml

5. Limites de l'étude

La méthode de référence adoptée depuis quelques années uniquement ⁽²⁾ pour le dosage de vitamine D est la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Nous sommes confrontés au cours de cette vérification de méthode à l'absence de standard de référence, et de spécifications de la part des sociétés savantes (Ricos, SFBC). Nous nous sommes donc, selon le cas référés aux données établies par le fournisseur ou encore publiées par des équipes utilisant la même technique.

II : Méthodologie utilisée

Pour les deux dosages cités, nous utilisons des kits du fournisseur DiaSorin® marqués CE. Pour être en accord avec les standards de qualité, nous avons procédé à une vérification des deux méthodes sur site (portée A) en accord avec le document du COFRAC: LAB GTA 04. ⁽⁷⁾

Le but de cette vérification est de comparer les données dont nous disposons (fournisseur, bibliographie, sociétés savantes,...) aux résultats obtenus en interne, selon des critères définis à l'avance, afin de conclure quant à l'acceptabilité de la méthode.

S'agissant de deux méthodes quantitatives, simples, et dans une démarche de vérification des performances, nous avons donc exploité sur une durée d'approximativement 2 ans, les données relatives aux essais de répétabilité, reproductibilité (fidélité intermédiaire), évaluation de la justesse et de l'exactitude, étude de la corrélation, incertitude de mesure, et nous avons adopté d'autres données établies par le fournisseur (contamination, interférences, conservation...).

Les niveaux de concentration testés au cours de ces évaluations sont proches des niveaux de décision clinique. C'est-à-dire aux alentours des valeurs limites de référence, ainsi qu'une concentration prise dans l'intervalle de référence.

Les calculs statistiques sont réalisés sur le logiciel Kalilab® qui est le logiciel certifié, utilisé à l'APHP et qui satisfait aux exigences du LAB GTA 04.

Préalablement à ces aspects analytiques, une évaluation de la maîtrise des risques est également réalisée, selon la méthode des 5M et le diagramme d'Ishikawa, dont les items sont représentés sur le schéma suivant :

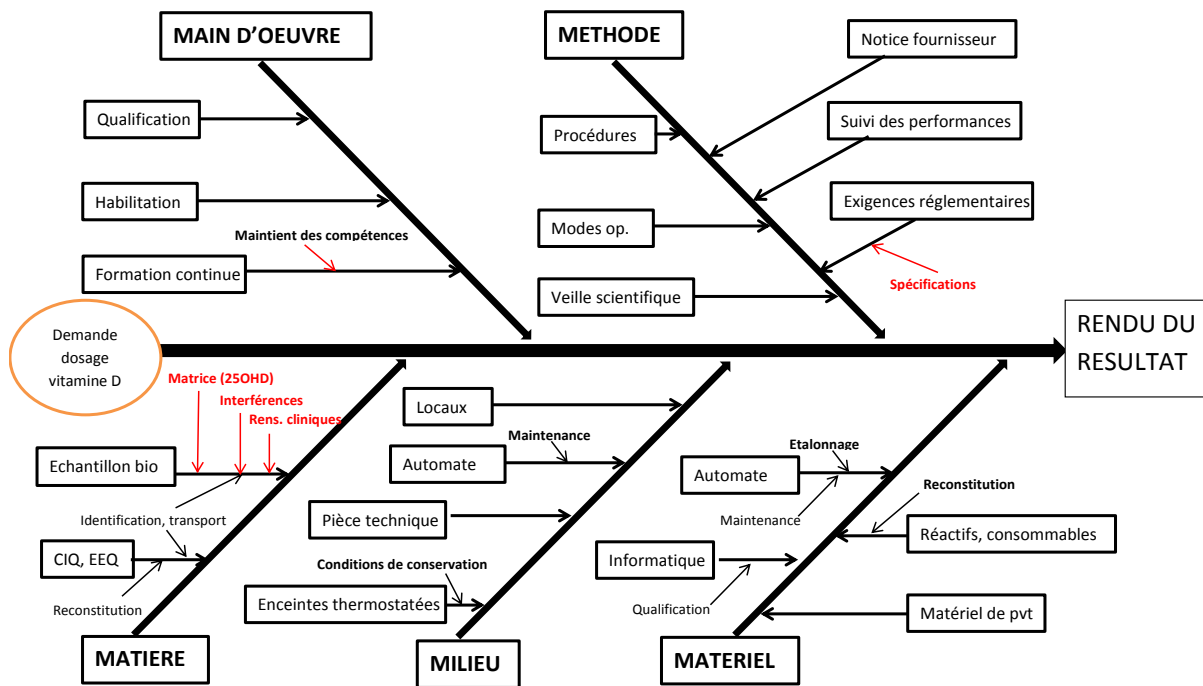


Figure 2 : Diagramme d'Ishikawa adapté à la biologie médicale.

Les éléments à maîtriser spécifiquement pour le dosage de la vitamine D concernent essentiellement le pré-analytique et l'analytique, notamment :

- Eléments importants concernant l'échantillon et pouvant influencer l'interprétation du résultat: Hémolyse, lactescence, opalescence.
- Eléments concernant le patient : Renseignements cliniques: âge, pathologie (rachitisme, ...) prise de supplémentation en vitamine D, dose, présence chez le patient d'anticorps hétérophiles interférant avec les dosages (prise de médicaments, contact avec les animaux,...).
- La nature de l'échantillon pour la 25OHD.

Les moyens mis en œuvre pour maîtriser ces points sont l'introduction d'un encadré sur la feuille de demande des examens pour le renseignement par le prescripteur des éléments cliniques et des traitements entre autre (voir annexe 9).

Nous avons également défini le bon renseignement des feuilles de demande comme indicateur qualité que nous suivons régulièrement, et ceci pour tous les bilans hormonaux réalisés au laboratoire.

Le biologiste de validation veille également à récupérer auprès du prescripteur tous les détails pertinents lui permettant la libération de résultats biologiques fiables, accompagnés de la conclusion adéquate.

Des audits internes sont également régulièrement réalisés afin de nous assurer de la bonne maîtrise de l'ensemble des processus.

L'ensemble des éléments à maîtriser sont détaillés dans en annexe 3, représentant l'analyse des risques selon le SH Form 43 du COFRAC.

Tous les éléments étant maîtrisés, nous avons pu commencer l'évaluation analytique des performances de notre méthode.

1- Evaluation de la répétabilité

Définition : « L'essai de répétabilité consiste à analyser un même échantillon dans les conditions suivantes : même opérateur, même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage dans un délai le plus court possible. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (instrument/réactif) pour l'analyte concerné »⁽⁷⁾.

Mode opératoire : Un essai de répétabilité a été réalisé en 2016, avec pour chaque analyte, 2 pools de sérums à 2 niveaux différents de concentration (échantillons: pool bas et pool haut).

Nous avons refait un essai de répétabilité pour la 25OHD en utilisant cette fois des échantillons de patients (sérums frais non hémolysés) présentant des valeurs de 25OHD basse, haute, et à l'intérieur des valeurs de référence.

Pour chaque niveau de concentration, nous avons procédé à 30 dosages effectués le même jour par le même opérateur.

Résultats :(Voir annexe 4 pour les données détaillées)

Pour la 25OHD :

REPETABILITE							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Patient 3 niveau haut	30	63.873	1.315	2.06	3.1	10.000	Conforme
Patient 2 niveau moyen	30	43.407	0.760	1.75	2	10.000	Conforme
Patient 1 niveau bas	30	17.527	0.523	2.98	3.2	3.500	Conforme
pool bas	30	7.264	0.217	2.98	3.8	3.500	Conforme
pool haut	30	30.633	0.946	3.09	1.8	7.600	Conforme

A noter l'absence de spécifications des sociétés savantes (SFBC, Rios).

Les CV limites établis par le fournisseur correspondent aux CV intra-analyse (within run precision) calculés sur 6 échantillons de sérum analysés en double, tous les jours sur une durée de 20 jours selon la directive CLSI EP5-A2 ⁽¹³⁾ (voir annexe 1).

Les CV hors fournisseur correspondent à ceux obtenus lors d'une étude ayant comparé notamment les performances du dosage de la 25OHD sur plusieurs analyseurs, dont le Liaison DiaSorin^{®(8)}.

Pour la 1,25OH₂D :

REPETABILITE							
-							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Pool bas	31	35.184	1.074	3.05		4.100	Conforme
Pool haut	30	61.893	1.737	2.81		4.200	Conforme

Il n'existe pas de données du fournisseur concernant les CV de répétabilité (voir annexe 2). Nous avons comparé nos données à celles obtenues par une équipe ayant étudié les performances du dosage de la 1,25OH₂D sur le Liaison XL DiaSorin^{®(11)}

Conclusion : La méthode est répétable pour les deux analytes.

2- Fidélité intermédiaire

Définition : « L'essai de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) consiste à analyser un même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs : l'opérateur, le temps, les lots de réactifs, les étalonnages,... Il permet de paramétrer les critères d'acceptation des antécédents en combinaison avec les variations biologiques notamment dans le cas de systèmes d'aides à la décision. » ⁽⁷⁾

Mode opératoire : Pour les deux analytes, nous avons utilisé les données des CIQ.

Nous procédons pour les deux analytes à des CIQ journaliers fournis par le DiaSorin (Sérum humain avec conservateur prêt à l'emploi: 2 niveaux de concentration : échantillons C1 et C2), et pour plus de pertinence nous analysons également des échantillons fournis par Probioqual comme CIQ (sérum d'origine humaine sans conservateur, fournis sous forme lyophilisée, sur différents lots ; 3 niveaux de concentration : échantillons MV10, MV11 et MV12).

Nous procédons à un CIQ en début et fin de chaque série d'analyse, et cela pour les 5 échantillons. L'étude a porté sur une durée allant du 01/04/2018 au 31/05/2018 (2 mois), représentant une cinquantaine de points de mesure pour chaque échantillon de contrôle.

Résultats : (Voir annexe 5 pour les données détaillées)

Pour la 25OHD :

FIDELITE INTERMEDIAIRE - réévaluation du 06-09-2018							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Niveau Moyen C2	44	53.345	2.707	5.07	6.4	10.500	Conforme
Niveau Bas MV10	56	19.102	1.054	5.52	7.3	15.000	Conforme
Niveau Bas C1	44	16.682	0.972	5.83	8.9	15.000	Conforme
Niveau Haut MV12	57	68.532	3.740	5.46	6.4	10.500	Conforme
Niveau Moyen MV11	56	50.196	2.286	4.55	6	10.500	Conforme

Comme pour les essais de répétabilité, nous avons défini comme limites acceptables les données obtenues par le fournisseur. Ces derniers correspondent aux CV de reproductibilité obtenus sur 6 échantillons analysés en double 2 fois par jour pendant 20 jours (voir annexes 1).

Nous nous sommes également référés à des études ayant comparé les dosages de la 25OHD sur plusieurs analyseurs, dont le Liaison DIASORIN^{®(8)}.

Pour la 1,25OH₂D :

FIDELITE INTERMEDIAIRE - réévaluation du 06-09-2018							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Niveau Moyen MV10	55	45.213	1.643	3.63	5.7	4.200	Conforme
Niveau Bas MV11	55	12.189	0.731	5.99	6.6	3.800	Conforme
Niveau Haut MV12	55	75.342	3.440	4.57	4.1	7.200	Conforme
Niveau Bas C1	33	26.464	1.265	4.78	6.6	3.800	Conforme
Niveau Haut C2	34	97.468	2.921	3.00	3.6	3.800	Conforme

Comme pour la 25OHD, à côté des CV établis par le fournisseur (voir annexes 2), nous nous sommes également référés à des études ayant étudié le dosage de la 1,25OH₂D sur Liaison XL DiaSorin^{®(11)}.

Conclusion : La méthode est reproductible pour les deux analytes.

3- Evaluation de la justesse

Définition : « La justesse est l'écart entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence (ou valeur vraie). L'écart observé correspond au biais. » ⁽⁷⁾

Mode opératoire : Du fait de la grande diversité des méthodes immunoenzymatiques (anticorps, réactifs ou conditions analytiques différentes selon les fournisseurs), il nous est difficile de trouver dans la littérature une valeur vraie d'un standard de référence concernant les analytes étudiés.

Pour les mêmes raisons, du fait de la grande dispersion des résultats obtenus avec d'autres techniques et la comparaison aux moyennes toutes techniques n'est donc pas judicieuse.

Notre comparaison se fait donc par rapport à un groupe de pairs utilisant la même technique d'analyse. Nous avons comparé la moyenne obtenue sur nos CIQ journaliers fournis par Probioqual et par le fournisseur (décrits plus haut), sur une période assez longue (8 mois) à la moyenne du groupe de pairs sur la même période. Calcul du biais :

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

Où : m: moyenne du laboratoire ; v : moyenne du groupe de pairs assimilée à la valeur vraie.

Pour chaque niveau de concentration, le biais obtenu est comparé à un biais limite établi par Probioqual (Voir annexe 6 pour les données détaillées)

Résultats : Les biais limite adoptés, en l'absence de spécifications des sociétés savantes, sont ceux définis par Probioqual pour son programme EEQ.

Pour la 25OHD :

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
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
Niveau Moyen MV11	196	51.713	51.52	0.375	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Bas MV10	196	19.342	18.85	2.612	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Haut MV12	196	59.497	59.06	0.633	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Bas C1	173	16.793	18.8	-10.675	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Moyen C2	173	54.050	51.4	-11.971	0	0.000	35.000	Conforme

Pour la 1,25OH₂D :

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
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
Niveau Moyen MV10	195	43.755	43.17	1.355	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Bas MV11	201	11.431	9.95	14.888	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Haut MV12	202	71.514	63.8	12.091	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Bas C1	107	27.739	26	6.687	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Haut C2	108	103.626	101	2.600	0	0.000	30.000	Conforme

Les échantillons C1 et C2 en 25OHD, et les échantillons Probioqual en 1,25OH₂D présentent une erreur systématique notable respectivement négative et positive. Ceci pourrait être dû aux changements des lots de réactifs au cours du temps ou aux conditions de reconstitution des échantillons.

Les cibles sont néanmoins à chaque fois incluses dans l'intervalle de référence (moy+/- 2ET) de nos CIQ et les biais relevés sont inférieurs aux limites choisies (moyenne du groupe de pairs).

Une analyse des facteurs influençant le rendu des résultats doit être poursuivie dans une logique d'amélioration continue afin de permettre une meilleure justesse des résultats.

Conclusion : Résultats conformes aux limites fixées par le laboratoire.

4- Evaluation de l'exactitude

Définition : « L'exactitude est définie comme l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie d'un mesurande. » ⁽⁷⁾

Mode opératoire : L'exactitude a été déterminée à partir des résultats des EEQ (analysés une seule fois) en comparant la valeur trouvée à la valeur cible attendue : dans notre cas la moyenne des participants et/ou du groupe de pairs, assimilée à la valeur vraie (v) de l'échantillon testé.

L'écart observé quantifie l'inexactitude, exprimée en pourcentage de la valeur cible :

$$\text{Biais (\%)} = (x-v) \cdot 100/v$$

Où : x : valeur obtenue au laboratoire ; v : moyenne du groupe de pairs assimilée à la valeur vraie.

Pour chaque niveau de concentration, le biais obtenu est comparé à un biais limite établi par le fournisseur des EEQ.

Pour ce faire, nous participons à deux programmes EEQ: Probioqual (12 enquêtes/an) et DEQAS (4 enquêtes/an avec 5 échantillons/enquête).

Ce dernier est un contrôle international basé sur l'utilisation de « vrais » sérums contenant de la 25OHD endogène. C'est le seul permettant de comparer les résultats des différents kits entre eux. En effet, il est aujourd'hui admis que, en raison de la nature hydrophobe de la molécule de 25OHD induisant d'importants effets « matrices » ⁽¹⁶⁾, la comparaison de techniques de dosages de 25OHD ne doit pas se faire à partir d'échantillons contenant de la 25OHD exogène (« spiked samples »).

Les résultats sont détaillés en annexe 7 et concernent la période allant du 01/05/2017 au 31/08/2018.

Conclusion : Résultats aux limites fixées par le laboratoire.

5- Calcul de l'incertitude de mesure

Définition : La norme NF EN ISO 15189 ⁽⁹⁾ précise que « le laboratoire doit déterminer l'incertitude de mesure de chaque procédure de mesure dans la phase analytique utilisée pour consigner les grandeurs mesurées sur les échantillons des patients [...] et régulièrement examiner les estimations d'incertitude de mesure » (cf. §5.5.1.4). De plus, les composantes d'incertitude de la phase analytique pour chaque mesurande doivent être établis (cf. tableau de maîtrise des risques du document SH FORM 43). Un calcul d'incertitude doit en outre être déterminé pour les paramètres quantitatifs (cf. SH REF 02) ⁽¹⁰⁾.

Mode opératoire : Nous avons utilisé le logiciel Kalilab[®] pour le calcul de l'incertitude de mesure.

La méthode d'évaluation de l'incertitude de mesure repose sur l'exploitation des données des CIQ et EEQ.

L'incertitude composée U(c) est définie comme étant la somme des incertitudes type :

$$U(c) = \sqrt{[u^2 (CIQ) + u^2 (EEQ)]} \quad \text{ou} \quad u = \sqrt{\left(\frac{CV \times M}{100}\right)^2 + \left(\frac{\bar{E}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \sigma_E^2}$$

Avec : $u^2 (CIQ)$: représente la variance (carrée de l'écart type) des résultats du CIQ pendant une longue période ; $u^2 (EEQ)$: variance liée à la justesse (biais)

CV : coef. De variation des CIQ, M : Moyenne des CIQ. E : Moyenne des biais (en valeur absolue), σ : écart-type des biais.

L'incertitude élargie est définie par la formule : $U=U(c) \times 2$ (avec $k=2$)

L'expression de l'incertitude de mesure sur les différents niveaux est définie comme suit :

Pour la 25OHD :

Niveau bas : 25OHD = 19.34 +/- 3.25 ng/ml (soit 16.81%)

Niveau moyen : 25OHD = 51.71 +/- 8.83 ng/ml (soit 17.07%)

Niveau haut : 25OHD = 69.49 +/- 10.96 ng/ml (soit 15,77%)

Pour la 1,25OH₂D :

Niveau bas : 1,25OH₂D = 11.43 +/- 4.53 pg/ml (soit 39.59%)

Niveau moyen : 1,25OH₂D = 43,75 +/- 9,50 pg/ml (soit 21,71%)

Niveau haut : 1,25OH₂D = 71.51 +/- 18.71 pg/ml (soit 26.17%)

6- Comparaison de méthode

Définition : « Le laboratoire pourra comparer les résultats d'une méthode en cours de vérification, soit à la méthode précédemment utilisée, soit à la méthode automatisée. Il évaluera alors l'impact des discordances éventuelles. » ⁽⁷⁾

Mode opératoire : La méthode de référence pour le dosage de la vitamine D est depuis quelques années la LC/MS-MS. Plusieurs études ont évalué la corrélation de ces dosages sur le Liaison XL en comparaison à la LC/MS-MS ^{(5) (11) (12)} avec des résultats acceptables.

Pour notre part, et pour plus de rigueur, nous avons procédé à une comparaison entre les résultats obtenus avec l'automate Liaison XL DiaSorin[®] d'un côté, et ceux obtenus sur l'automate anciennement utilisé au laboratoire: IDS Isys[®] (réalisant également un dosage en chimiluminescence, mais utilisant un anticorps lié à un dérivé acridinium et un substrat magnétique). Ceci a été réalisé en Septembre 2018, donc avec de nouveaux kits Isys, potentiellement différents de ceux utilisés anciennement.

Pour ce faire, nous avons analysé 59 échantillons de patients, prélevés sur tube sec, en dosant pour chacun des échantillons, simultanément la 25OHD et la 1,25OH₂D, et ceci sur les deux automates.

Nous avons choisi des échantillons déjà dosés sur Liaison XL, que nous avons sélectionnés et repassé (en une seule série) sur l'automate anciennement utilisé, après avoir établie une calibration et des contrôles de début et fin de série.

Les échantillons ont été choisis de telle sorte à représenter l'ensemble de l'étendue de mesure des deux analytes. Les patients présentant des concentrations élevés en 25OHD et/ou 1,25OH₂D étant moins représentés, nous avons récupéré des sérums sur les 3 derniers mois (une dizaine pour chaque analyte) présentant cette plage de mesure.

De ce fait le délai entre les deux évaluations varie de quelques jours à 3 mois (pour les échantillons élevés) correspondant à la durée de stabilité documentée à -20°C. Tous les échantillons traités ont été décongelés une seule fois depuis leur passage sur Liaison XL, à l'occasion de leur dosage sur Isys.

Résultats : La corrélation entre les deux méthodes (et pour les deux analytes) a été évaluée par la méthode des moindres carrés, par le logiciel Kalilab®.

Les données des droites de régression obtenues sont:

- Pour la 25OHD: $y = 0.809 x + 3.73$ avec $r=0.91$
- Pour la 1,25OH₂D: $y = 0.908 x + 7.633$ avec $r=0.967$

Les résultats détaillés sont décrits en annexe 8.

Deux échantillons présentent des concentrations très élevées en 1,25OH₂D sur Isys par rapport à celles trouvées sur le Liaison XL. Après investigation il s'est avéré que les patients en question étaient traités par la biotine; élément qui intervient dans le processus analytique sur Isys (anticorps couplés au complexe streptavidine/biotine) et qui est connu pour interférer avec les dosages de la 1,25OH₂D. Ces points aberrants ont été exclus de l'analyse.

Conclusion : Bonne corrélation entre les deux méthodes

7- Intervalle de mesure

Définition : « L'étendue de mesure comprend la limite de détection, la limite de quantification et la limite supérieure de linéarité. » ⁽⁷⁾

Limite de détection (LD): 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 mêmes conditions.

Pour l'estimer on peut effectuer 30 mesures successives du blanc de réaction (dépourvu de l'analyte à doser). La limite de détection correspond à trois fois l'écart type des mesures du blanc.

Limite de quantification (LQ): La limite de quantification correspond à la plus petite valeur mesurée exprimée en concentration, fournie avec un niveau de fiabilité acceptable et d'incertitude connue. La limite de quantification est la plus petite valeur qui peut être fournie pour un échantillon de patient. Elle peut être calculée de la même façon que la LD, elle peut donc correspondre à dix fois l'écart type des mesures du blanc.

Limite de linéarité (LN): Après la dilution d'un échantillon de concentration très élevée, les résultats obtenus permettront de vérifier l'existence d'une relation linéaire entre les dilutions effectuées et les concentrations observées. La limite supérieure de linéarité est la valeur de mesure la plus haute étant encore incluse dans le domaine de linéarité de la méthode. Elle indique la limite de quantification permettant de définir, avec la LQ le domaine de mesure de la méthode.

Mode opératoire : S'agissant de kits certifiés CE, nous avons adopté les données obtenues par le fournisseur (voir annexes 1 et 2) :

Les domaines de mesure sont respectivement de 4 à 150 ng/ml pour la 25OHD, et de 5 à 200 pg/ml pour la 1,25OH₂D.

Toute valeur inférieure à la LQ est rendue : <4 ng/ml ou <5 pg/ml selon le cas.

Pour toute valeur supérieure à la LN : L'échantillon sera repassé (au 1/4 ou au 1/3 respectivement) après une dilution avec le diluant correspondant.

8- Etude des interférences

Définition : « Une méthode 'sélective' ou 'spécifique' permet le dosage d'un analyte sans interférence dans une matrice complexe. Des substances dites 'interférentes' altèrent le signal de mesure pouvant entraîner des résultats erronés » ⁽⁷⁾

Mode opératoire : S'agissant de kits certifiés CE, nous avons adopté les données obtenues par le fournisseur :

De manière générale, les dosages immunologiques peuvent être faussés par la présence d'anticorps hétérophiles dans l'échantillon analysé. Une attention particulière est à avoir pour les patients exposés à des animaux ou à des produits à base de sérums animaux.

Les principales situations cliniques pouvant donner lieu à une interférence analytique sont exposés dans le tableau suivant : Le seuil d'interférence est défini comme étant la quantité minimale du composé donnant lieu à un résultat de l'analyse différent de plus de 10% de celui obtenu pour un échantillon exempt de ce composé : (voir annexe 1 et 2).

Tableau 2 : Principales causes d'interférences analytiques :

	25OHD	1,25OH₂D
Hémolyse	200 mg/dl d'hémoglobine	300 mg/dl d'hémoglobine
Lipémie	589 mg/dl de triglycérides	3000 mg/dl de triglycérides
Ictère	40 mg/dl de bilirubine totale 40 mg/dl de bilirubine conjuguée	40 mg/dl de bilirubine totale 40 mg/dl de bilirubine conjuguée
Cholestérol	301 mg/dl	400 mg/dl
Acide urique	20 mg/dl	20 mg/dl

Les échantillons hémolysés (>= 2 croix d'hémolyse) ne sont pas acceptés pour le dosage de la vitamine D.

Aussi, Les anticorps utilisés ne faisant pas la différence entre les vitamines D2 et D3, il existe une réaction croisée de 100% entre ces deux formes, ce qui d'un point de vue clinique ne présente pas souci majeur.

Il existe néanmoins une réaction croisée de la 1,25OH₂D2 et de la 1,25OH₂D3 sur le dosage de la 25OHD (6,7% et 9,3% respectivement). Ce phénomène est négligeable dans le sens opposé (<0,1%). Cette donnée doit être prise en considération dans l'interprétation clinique du bilan phosphocalcique, mais reste néanmoins peu significative dans les valeurs basses.

9- Evaluation de la contamination

Définition : « 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). » ⁽⁷⁾

Mode opératoire : Un test de récupération a été réalisé par le fournisseur. Il a consisté à mélanger des échantillons fortement concentrés avec des échantillons faiblement concentrés selon des rapports 1:2, 1:1 et 2:1. Les valeurs observées ont ensuite été comparées aux valeurs escomptées afin de déterminer la récupération en %.

La récupération moyenne a été de 93% pour la 25OHD et de 94% pour la 1,25OH₂D.

Nous en déduisons l'absence de phénomène de contamination inter-échantillons sur nos plages de mesures (voir annexes 1 et 2).

Concernant la contamination inter-réactif ; étant donné que nous utilisons les mêmes réactifs pour le même dosage, on peut considérer cette influence nulle.

10- Robustesse et stabilité des réactifs

Définition : « La robustesse d'une procédure d'analyse est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles, mais délibérées, des paramètres de la méthode. La robustesse fournit une indication sur la fiabilité de la méthode dans les conditions normales d'utilisation ». ⁽⁷⁾

Mode opératoire : S'agissant d'une méthode développée par le fournisseur, et non en interne, nous ne sommes pas tenus d'étudier les facteurs pouvant affecter l'analyse en question.

Les réactifs pour les dosages de la 25OHD et de la 1,25OH₂D sont stables à 2-8°C jusqu'à la date de péremption, et pendant 4 semaines une fois ouverts (voir annexes 1 et 2).

11- Détermination de l'intervalle de référence :

Définition : « L'intervalle de référence et les seuils de décision médicale seront définies et documentés par le laboratoire, en fonction de l'âge, du sexe, ... et devront être adaptées à l'usage des résultats par les cliniciens en pratique courante ». ⁽⁷⁾

Mode opératoire : Les intervalles de références sont choisis par notre laboratoire, en rapport avec l'état de l'art et en prenant en compte la spécificité pédiatrique de notre hôpital, et ceci en concertation avec les endocrinologues.

L'établissement des valeurs de référence de 25OHD a fait couler beaucoup d'encre ces 10 dernières années. En effet, il est maintenant consensuel de ne pas utiliser la méthode habituelle dite « population-based reference values » pour la 25OHD ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁶⁾. Il faut en fait estimer la concentration de 25OHD au-dessous de laquelle il peut exister des effets délétères d'un manque de vitamine D, ou au-dessus de laquelle on peut bénéficier d'effets (classiques et non-classiques) de la vitamine D. Cette méthode est appelée « health-based reference values ».

La majorité des experts ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁵⁾ considèrent aujourd'hui qu'elles sont de 30 à 60 ng/ml soit 75 à 150 nmol /L.

La détermination des valeurs de référence pour la 1,25OH₂D a été réalisée en analysant les résultats de sujets considérés comme sains, prélevés sur une période incluant l'été et l'hiver, avec des valeurs de PTH, calcémie, phosphorémie et TSH normales.

Une centaine de sérums (par tranche d'âge) ont été analysés. L'intervalle de référence est l'intervalle comprenant 95% des sérums testés. Il est représenté par la moyenne +/- 2 écarts types.

Sur une population pédiatrique canadienne ⁽¹²⁾ étudiée, les valeurs de références en 1,25OH₂D sont comparables aux nôtres, mais légèrement plus élevées (les taux de vitamine D compatibles avec une bonne santé tiennent compte de la latitude et de l'ensoleillement entre autres)

Les valeurs de référence de notre laboratoire sont :

- Pour la 25OHD : 30 à 60 ng/ml

(Entre 20 et 30 ng/ml : insuffisance ; entre 10 et 20 ng/ml : déficit ; <10 ng/ml : carence)

- Pour la 1,25OH₂D : - Nourrissons : 30 – 150 pg/ml

- Enfants : 30 – 80 pg/ml

- Adolescent : 30 – 120 pg/ml

- Adultes : 15 – 60 pg/ml

IV : Analyse et interprétation

Le dosage de la vitamine D est un élément important du bilan phosphocalcique, tant l'interprétation clinique et la prise en charge thérapeutique reposent sur ce dosage, en association avec d'autres paramètres comme la PTH.

La méthode CLIA (chimioluminescence) sur Liaison XL a été choisie dans une démarche d'amélioration continue, ayant montré dans la littérature ^(5,8,11,12) une bonne fidélité, justesse et exactitude et une bonne corrélation par rapport à la méthode de référence.

Cette méthode automatisée, avec des kits marqués CE, peu sensibles à la biotine, et avec des programmes de contrôles réunissant un groupe de pairs assez important, nous a permis de mener à bien cette évaluation, malgré l'absence de spécifications des sociétés savantes.

Sur un plan personnel, ce travail m'a permis d'affiner mes compétences en termes d'évaluation des méthodes analytiques. J'ai également mieux cerné l'importance de la maîtrise du dosage hormonal, notamment en pédiatrie, et des risques pouvant influencer ce dosage, pour permettre une prise en charge plus adaptée, surtout dans certaines pathologies pédiatriques rares où les marqueurs biologiques sont très importants pour le diagnostic et le suivi.

Ce travail m'a également permis, de m'insérer dans une équipe de professionnels, et de gérer un projet qualité en association avec les différents acteurs du laboratoire, mais également avec les fournisseurs et les instances réglementaires.

V : Conclusion

Le dosage de la vitamine D sur Liaison XL est réalisé dans notre laboratoire depuis deux ans. Il a démontré de bonnes performances analytiques, détaillées dans ce rapport.

La méthode sera soumise à accréditation pour la prochaine visite du COFRAC.

VI : Bibliographie

1- Vitamin D deficiency. Holick M.. N Engl J Med 2007; 357: 266-281.

2- La vitamine D chez l'adulte : recommandations du GRIO

Claude-Laurent Benhamou, Jean-Claude Souberbielle, Bernard Cortet, Patrice Fardellone, Jean-Bernard Gauvain, Thierry Thomas, pour le Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses (GRIO)

3- Vitamin D status and response to treatment in post-menopausal osteoporosis. Adami S, Giannini S, Bianchi G, Sinigaglia L, Di Munno O, Fiore CE, Minisola S, Rossini M. Osteoporos Int 2009 ;20 :239-44

4- Prevention of non vertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency. Bischoff-Ferrari H, Willett W, Wong J, et al.. Arch Int Med 2009 ; 169 : 551-561

5- Evaluation of automated immunoassays for 25(OH)-vitamin D determination in different critical populations before and after standardization of the assays.

Etienne Cavalier, Pierre Lukas, Yannick Crine, Stephanie Peeters, Agnès Carlisi, Caroline Le Goff, Romy Gadsisseur, Pierre Dalanaye, Jean-Claude Souberbielle. Clinica Chimica acta 2014.

6- HAS: Dosage de la vitamine D: Conditions de prise en charge par l'Assurance Maladie. Septembre 2014

7- COFRAC: LAB GTA 04: Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale.

8- Étude comparative des dosages de parathormone et de vitamine D sur 3 automates : Advia Centaur XP® (Siemens), Isys® (IDS) et Liaison® (DiaSorin)

Pauline Gardien, Marie-Pierre Moineau, Hélène Kerspern, Anne Bordron, Jean-Luc Carre 1

9- Norme NF EN ISO 15189. Laboratoires de biologie médicale - Exigences concernant la qualité et la compétence - Laboratoires d'analyses de biologie médicale

10- SH REF 02 version 05: Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189

11- A novel, fully-automated, chemiluminescent assay for the detection of 1,25 dihydroxyvitamin D in biological samples.

Andre Valcour, Claudia Zierold, Angela L. Podgorski, Gregory T. Olson, John V. Wall, Hector F. DeLuca, Fabrizio Bonelli. Journal of steroid biochemistry & molecular biology 164 (2016)

12- Pediatric reference intervals for 1,25-dihydroxy-vitamin D using the DiaSorin LIAISON XL assay in the healthy CALIPER cohort.

Victoria Higgins, Dorothy Truong, Nicole M.A. White-Al-Habeeb, Angela W.S. Fung, Barry Hoffmann and Khosrowadeli. Clin Chem Lab Med 2018.

13- Evaluating Assay Precision. Douglas Chester. Department of clinical biochemistry, Pacific Laboratory Medicine Services, Royal North Shore Hospital, St Leonards NSW 2065, Australia.

14- Dawson-Hugues B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PT, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *OsteoporosInt* 2005;16:713-716.

15- Souberbielle JC , Prié D, Courbebaisse M, Friedlander G, Houillier P, Maruani G, Cavalier E, Cormier C. Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status. *Ann Endocrinol* 2008 ; 69 :501-510.

16- Carter G, Jpones JC, berry JL. The anomalous behaviour of exogenous 25-hydroxyvitamin D in competitive binding assays. *J SteroidBiochem Mol Biol* 2007; 103: 480-482. *JSBMB* 2007

Résumé

En accord avec la norme NF EN ISO 15189, et pour atteindre notre objectif d'accréditation à 100% en 2020, Le LBM de l'hôpital Necker - Enfants malades a initié un certain nombre de dossiers de vérification/validation de méthode à présenter au COFRAC.

Le dossier de vérification de méthode (portée A) pour le dosage de la vitamine D comprend une vérification de ces performances sur site et préalablement à la partie expérimentale, certaines étapes doivent être réalisées par le laboratoire, en particulier une étude bibliographique. Celle-ci constitue la première partie de ce travail.

La seconde partie décrit les essais effectués avec une méthode de dosage quantitative de type portée A. Après la réalisation des différentes étapes expérimentales incluant l'étude de la répétabilité, de la reproductibilité, l'inexactitude et de l'intervalle de référence, nous pouvons conclure que les performances de la méthode sont satisfaites aux exigences annoncées et souhaitées par notre laboratoire pour le dosage de la vitamine D sérique.

Cette expérience m'a permis d'affiner mes compétences en validation de méthodes analytiques, notamment dans le domaine de l'hormonologie pédiatrique.

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche technique LIAISON 25 OH Vitamin D total assay	32
Annexe 2 : Fiche technique LIAISON XL 1.25 dihydroxyVitamin D total assay	43
Annexe 3 : Maitrise des risques	54
Annexe 4 : Analyse des données de répétabilité	55
Annexe 5 : Analyse des données de reproductibilité	61
Annexe 6 : Analyse des données de justesse	62
Annexe 7: Analyse des données d'exactitude	66
Annexe 8 : Comparaison de méthode.....	68
Annexe 9 : Feuille de demande d'examens des explorations fonctionnelles	72

Annexe 1 : Fiche technique LIAISON 25 OH Vitamin D total assay



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Ave – Stillwater, MN 55082 – USA
Tel 1.651.439.9710 – Fax 1.651.351.5689



Changements : § 1, 2, 4, 5, 11, 15, 16
Éliminations : § 4

LIAISON[®] 25 OH Vitamin D TOTAL Assay (REF 310600)

1. INDICATION

Le dosage LIAISON[®] 25 OH Vitamin D TOTAL utilise la technologie de dosage immunologique par chimioluminescence (CLIA) qui permet la détermination quantitative de la 25-hydroxyvitamine D et des autres métabolites hydroxylés de la vitamine D dans le sérum, le plasma EDTA ou le plasma lithium héparine humain afin d'évaluer une éventuelle carence en vitamine D, à l'aide des automates d'immunoanalyse de la gamme LIAISON[®] Analyzer[®]. Les résultats du dosage doivent être utilisés avec d'autres données cliniques et d'analyse pour aider le clinicien à prendre des décisions individuelles de prise en charge de patients adultes.

2. RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La vitamine D a d'abord été reconnue en tant que traitement capable de guérir le rachitisme. Aujourd'hui, la vitamine D est reconnue comme une prohormone assurant des rôles multiples dans le maintien d'une santé optimale. [1]

La vitamine D₃ (cholécalférol) et la vitamine D₂ (ergocalciférol) sont les formes de vitamine D les plus abondantes dans la nature. La vitamine D₃ est synthétisée dans la peau à partir du 7-déhydrocholestérol en réponse aux rayons UV-B lors de l'exposition au soleil. Les meilleures sources alimentaires de vitamine D₃ sont les poissons gras, surtout le saumon et le maquereau. Certains légumes, la levure et les champignons sont des sources alimentaires de vitamine D₂.

La vitamine D (D₃ et D₂) est hydroxylée en 25-hydroxyvitamine-D par une enzyme présente dans le foie. La mesure de la concentration en 25-OH-vitamine D totale dans le sérum ou le plasma est le meilleur indicateur du statut nutritionnel en vitamine D. [2]

Le taux optimal de 25-OH-vitamine D fait l'objet de débats, mais une concentration > 32 ng/mL (> 80 nmol/L) est généralement acceptée comme étant suffisante pour la santé osseuse.[3-13]. L'insuffisance et la carence en vitamine D sont un problème de santé public récent de plus en plus préoccupant. Différentes recherches ont permis d'identifier une carence en vitamine D répandue dans des populations apparemment en bonne santé partout dans le monde. [3-13]

La carence en vitamine D est habituellement traitée par un apport médicamenteux en vitamine D₂ ou D₃ à des doses de 50 000 IU/mois à 50 000 IU/semaine. [14] Les aliments enrichis ou les suppléments peuvent contenir l'une ou l'autre de ces deux formes. Pour garantir une évaluation précise du statut de la vitamine D chez les patients, la 25-OH-vitamine D totale doit être mesurée, ce qui inclut la 25-OH-vitamine D₂ et D₃.

De récentes études ont identifié un 3-épimère inactif de la 25-OH-vitamine D, qui a été détecté chez les nourrissons [15] et les adultes [16]. Il est important qu'un dosage ne mesure pas le composé 3-épimère inactif et mesure uniquement la 25-OH-vitamine D₂ et D₃ de manière similaire. Plus récemment, plusieurs études ont laissé entendre que la carence en vitamine D était associée à un risque majoré de développer de nombreuses maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies infectieuses et les maladies autoimmunes.

3. PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le dosage LIAISON[®] 25 OH Vitamin D est un dosage immunologique direct par compétition par chimioluminescence (CLIA) qui permet la détermination quantitative de la 25 OH vitamine D dans le sérum. Pendant la première incubation, la 25 OH vitamine D est dissociée de sa protéine de liaison et se lie à l'anticorps spécifique en phase solide. Au bout de 10 minutes, le marqueur (vitamine D liée à un dérivé de l'isoluminol) est ajouté. Après une deuxième incubation de 10 minutes, la matière non liée est éliminée par un cycle de lavage. Les inducteurs sont ensuite ajoutés et une réaction instantanée de chimioluminescence est amorcée. Le signal lumineux est mesuré en unités de lumière relative (RLU) par un tube photomultiplicateur et il est inversement proportionnel à la concentration de 25 OH vitamine D dans les étalons, les contrôles ou les échantillons.

*(LIAISON[®] et LIAISON[®] XL)

LIAISON[®] 25 OH Vitamin D TOTAL Assay (REF 310600)
FR – 46839 - 2016-08

1 / 11

4. MATÉRIEL FOURNI

Coffret de réactifs Integral :

Particules magnétiques (2,4 mL)	[SORB]	Particules magnétiques enrobées d'un anticorps de chèvre dirigé contre la 25 OH vitamine D, protéine, tampon phosphate, < 0,1% d'azoture de sodium.
Tampon de dosage (28 mL)	[BUFAS]	Tampon avec 10% d'éthanol, surfactants et 0,2% de ProClin® 300.
Conjugué (4,5 mL)	[CONJ]	25 OH vitamine D conjuguée à un dérivé de l'isoluminol, dans un tampon phosphate avec 10% d'éthanol, EDTA, surfactant et 0,1% d'acide benzoïque en tant que conservateur.
Étalon 1 (1 mL)	[CAL1]	Sérum humain, BSA, < 0,1% d'azoture de sodium et 25 OH vitamine D. Les concentrations de l'étalon (ng/mL) sont déterminées par rapport à des préparations standard contenant une 25 OH vitamine D hautement purifiée.
Étalon 2 (1 mL)	[CAL2]	Sérum humain, BSA, < 0,1% d'azoture de sodium et 25 OH vitamine D. Les concentrations de l'étalon (ng/mL) sont déterminées par rapport à des préparations standard contenant une 25 OH vitamine D hautement purifiée.
Nombre de tests		100

ProClin est une marque de commerce de The Dow Chemical Company (Dow) ou d'une société affiliée de Dow.

Tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Matériel requis mais non fourni (se rapportant au système)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100)
LIAISON® XL Waste Bags ([REF] X0025)	LIAISON® Waste Bags ([REF] 450003)
LIAISON® XL Cuvettes ([REF] X0016)	LIAISON® Module ([REF] 319130)
LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200)	LIAISON® Starter Kit ([REF] 319102)
LIAISON® XL Disposable Tips ([REF] X0015)	LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200)
	LIAISON® Cleaning Kit ([REF] 310990)
	LIAISON® Light Check 12 ([REF] 319150)

Matériel requis supplémentaire :

LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Control Set (**[REF]** 310601)

LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Specimen Diluent (**[REF]** 310602)

5. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

RÉSERVÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO* – Non indiqué pour une utilisation interne ou externe chez les humains ou les animaux.

Sécurité générale :


- L'ensemble des échantillons, des réactifs biologiques et du matériel utilisés pour ce dosage doit être considéré comme une source potentielle de transmission d'agents infectieux. Éviter le contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses. Respecter les bonnes pratiques d'hygiène industrielle pendant le dosage.
- Ne pas manger, boire, fumer ni appliquer de cosmétiques dans le laboratoire d'analyse.
- Ne pas pipeter les solutions avec la bouche.
- Éviter tout contact direct avec l'ensemble du matériel potentiellement infectieux en utilisant des vêtements de protection comme une blouse de laboratoire, des lunettes/un masque de protection, et des gants jetables.
- Se laver les mains soigneusement à l'issue de chaque test.
- Éviter les projections ou la formation d'aérosols lors de la manipulation, de la dilution ou du transfert des échantillons ou des réactifs. Tout déversement de réactif doit être décontaminé avec une solution javellisée à 10% (contenant de l'hypochlorite de sodium à 0,5%) et mis au rebut comme du matériel potentiellement infectieux.
- Les déchets doivent par conséquent être éliminés conformément aux règlements en vigueur, aux directives des autorités responsables de la juridiction des laboratoires et à la réglementation de chaque pays.
- Ne pas utiliser de trousse ou de composants dont la date de péremption indiquée sur l'étiquette est dépassée.

Risque chimique et informations de sécurité : Les réactifs contenus dans cette trousse sont classés conformément à la norme de communication des risques de l'OSHA américaine ; aux lois nationales américaines sur le droit à l'information des individus ; au règlement sur les produits contrôlés du centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail ; et aux directives de l'Union Européenne applicables (consulter la fiche de données de sécurité pour de plus amples informations).

Réactifs contenant des produits d'origine humaine :

Avertissement – Traiter comme potentiellement infectieux. Chaque don de sérum/plasma utilisé dans la préparation de ce produit a été testé par une méthode agréée par la FDA et s'est avéré non réactif pour la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine 1 et 2 (VIH 1/2), de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Même si ces méthodes sont extrêmement précises, elles ne garantissent pas la détection de tous les dons infectés. Ce produit peut également contenir d'autres sources de maladies d'origine humaine pour lesquels il n'existe aucun test agréé. Parce qu'aucune méthode d'essai connue ne peut offrir une assurance complète que le VIH, le virus de l'hépatite B (VHB) et le VHC ou autres agents infectieux sont absents, tous les produits contenant du matériel d'origine humaine doivent être manipulés dans le respect des précautions universelles et, le cas échéant, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire décrites dans la dernière édition du manuel des Centers for Disease Control et du National Institutes of Health, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, BMBL (Biosécurité dans les laboratoires biomédicaux et de microbiologie) ; ou la dernière édition du manuel de sécurité biologique en laboratoire de l'Organisation mondiale de la Santé.

GHS/CLP :

	ProClin®	Azoture de Sodium	Éthanol
CAS No. :	55965-84-9	26628-22-8	64-17-5
Réactifs :	BUFAS	SORB CAL1 CAL2	CONJ BUFAS
Classification :	Sensibilisation cutanée, catégorie 1	Aucun requis	Aucun requis
Mention D'avertissement :	Attention	Aucun requis	Aucun requis
Pictogrammes :	 GHS07 – Point d'exclamation	Aucun requis	Aucun requis
Mention De Danger :	H317 – Peut provoquer une allergie cutanée.	Aucun requis	Aucun requis
Conseil De Prudence :	P261 – Éviter de respirer brouillards/ aérosols. P272 – Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 – Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux.	Aucun requis	P210 – Tenir à l'écart de la chaleur/ des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. – Ne pas fumer. P233 – Maintenir le récipient fermé de manière étanche. P242 – Ne pas utiliser d'outils produisant des étincelles. P243 – Prendre des mesures de précaution contre les décharges électrostatiques. P403+P235 – Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais.

Réactifs contenant de l'azide de sodium : L'azoture de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb ou en cuivre et former des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer à grande eau pour empêcher l'accumulation d'azotures. Pour plus d'informations, consulter la rubrique « Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts (Décontamination des canalisations d'éviers de laboratoire pour l'élimination des azotures) » dans le manuel Guide-Safety Management N° CDC-22 publié par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

6. PRÉPARATION DU COFFRET DE RÉACTIFS INTEGRAL

Veuillez respecter les précautions suivantes lorsque vous manipulez les réactifs :

6.1 Remise en suspension des particules magnétiques

Les particules magnétiques doivent être complètement remises en suspension avant de placer l'Integral sur l'instrument. Procédez comme suit pour garantir une suspension complète :

- Avant de retirer la pellicule, tournez la petite molette du compartiment des particules magnétiques jusqu'à ce que la couleur de la suspension ait viré au brun. Une légère agitation, d'un côté à l'autre, peut contribuer à suspendre les particules magnétiques (en évitant la formation de mousse). Contrôlez visuellement le fond du flacon de particules magnétiques pour vous assurer que toutes les particules magnétiques qui s'étaient déposées sont remises en suspension.
- Répétez l'opération si nécessaire, jusqu'à ce que les particules magnétiques soient complètement remises en suspension.
- Après le retrait de la pellicule, essuyez soigneusement la surface de chaque paroi pour éliminer tout résidu éventuel de liquide.

Il est également possible d'utiliser l'accélérateur LIAISON® Xcelerator (REF A0090) pour faciliter la remise en suspension.

6.2 Formation de mousse dans les réactifs

Il convient d'éviter de faire mousser les réactifs pour garantir une performance optimale de l'Integral. Respectez la recommandation ci-dessous pour éviter ce problème :

- Avant toute utilisation du réactif Integral, contrôlez visuellement les réactifs, notamment les étalons (positions 2 et 3 après le flacon des particules magnétiques) pour exclure la présence de mousse. En cas de présence de mousse après la remise en suspension des particules magnétiques, placez l'Integral sur l'instrument et laissez la mousse se dissiper. L'Integral est prêt à être utilisé une fois que la mousse est dissipée et que l'Integral est resté sur le système et a été mélangé pendant au moins 30 minutes.

6.3 Chargement de l'Integral dans la zone des réactifs

Analyseur LIAISON®

- Placez l'Integral dans la zone des réactifs de l'analyseur, l'étiquette à code à barres dirigée vers la gauche, et attendez 30 minutes avant utilisation. L'analyseur effectue automatiquement un brassage et remet complètement en suspension les particules magnétiques.
- Suivez les instructions du manuel d'utilisation de l'analyseur pour charger les échantillons et lancer l'analyse.

Analyseur LIAISON® XL

- L'analyseur LIAISON® XL est équipé d'un dispositif magnétique à état solide qui facilite la dispersion de microparticules avant la mise en place d'un coffret de réactifs dans le compartiment à réactifs de l'analyseur. Consulter le manuel d'utilisation pour de plus amples informations.
 - a. Insérer le coffret de réactifs Integral dans la fente prévue à cet effet.
 - b. Laisser le coffret de réactifs Integral en place dans le dispositif magnétique à état solide pendant au moins 30 secondes (jusqu'à plusieurs minutes). Répéter l'opération si nécessaire.
- Placer le coffret de réactifs Integral dans le compartiment à réactifs de l'analyseur en orientant l'étiquette à code-barres vers la gauche et laisser reposer pendant 15 minutes avant utilisation. L'analyseur mélange automatiquement et remet complètement en suspension les particules magnétiques.
- Suivre les instructions du manuel d'utilisation de l'analyseur pour charger les échantillons et commencer le dosage.

7. CONSERVATION ET STABILITÉ DU COFFRET DE RÉACTIFS INTEGRAL

Dès réception, le coffret de réactifs Integral doit être conservé à l'abri de la lumière, en position verticale, afin de faciliter la remise en suspension des particules magnétiques. Lorsque le coffret de réactifs Integral est stocké à l'abri de la lumière, en position verticale et hermétiquement fermé, les réactifs sont stables entre 2 et 8°C jusqu'à la date de péremption. Ne pas les congeler. Les réactifs Integral ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption indiquée sur le coffret et sur leurs propres étiquettes. Après utilisation, le coffret de réactifs Integral doit être hermétiquement fermé à l'aide du ruban adhésif fourni avec la trousse, puis stocké à nouveau à une température de 2 à 8°C et à l'abri de la lumière. Une fois ouvert, il peut être utilisé pendant 4 semaines s'il est stocké comme il convient. Il faut absolument éviter une exposition excessive à la lumière.

8. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Des tubes de type sérum humain, plasma EDTA, plasma lithium héparine ou SST peuvent être utilisés. Il est conseillé mais non obligatoire d'utiliser des échantillons prélevés sur le patient à jeun. Prélevez le sang par ponction veineuse aseptique, laissez-le coaguler et séparez le sérum du caillot dès que possible. Les échantillons peuvent être conservés dans des flacons en verre ou en plastique. Aucun additif ni conservateur n'est requis pour maintenir l'intégrité de l'échantillon. Les matières de type particules peuvent interférer avec le dosage. Les échantillons hémolysés ou fortement lipémiques, ainsi que ceux contenant des particules ou présentant une contamination microbienne évidente, ne doivent pas être testés. Si le dosage est effectué dans les 120 heures suivant le prélèvement des échantillons, ceux-ci doivent être conservés entre 2 et 8°C ; sinon, ils doivent être conservés congelés (à une température inférieure ou égale à -20°C). Si les échantillons sont conservés congelés, mélangez-les bien une fois décongelés avant de procéder au test. Évitez de répéter les cycles de congélation et décongélation. Évacuez les bulles d'air éventuellement présentes avant de procéder au dosage. Le volume minimum requis est de 175 µL d'échantillon pour le premier dosage, auxquels s'ajoutent 25 µL pour chaque dosage LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL supplémentaire.

Le plasma humain prélevé dans des tubes EDTA ou héparinate de lithium a fait apparaître un biais moyen de 22% par rapport au sérum.

9. ÉTALONNAGE

Le test des étalons spécifiques du dosage permet d'ajuster la courbe maîtresse attribuée en utilisant les valeurs de RLU (unités relatives de luminescence) détectées. Chaque solution d'étalonnage permet d'effectuer 6 étalonnages. Le ré-étalonnage en triple est obligatoire lorsque se vérifie au moins 1 des conditions suivantes :

- lorsqu'un nouveau lot de réactifs (coffret de réactifs Integral ou inducteurs) est utilisé ;
- tous les 7 jours ;
- après chaque entretien de l'analyseur ;
- si les contrôles de qualité montrent un dépassement de vos limites d'acceptabilité.

Plage de mesure : Le dosage LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL de DiaSorin permet d'effectuer des mesures entre 4 et 150 ng/mL. La valeur la plus faible pouvant être rapportée est de 4 ng/mL, et elle est basée sur une précision interdosage qui avoisine 20% CV (sensibilité fonctionnelle). Les valeurs inférieures à 4 ng/mL devraient être rapportées sous la forme < 4 ng/mL. La valeur sans dilution la plus élevée pouvant être rapportée est de 150 ng/mL.

10. PROCÉDURE DE DOSAGE

Afin de s'assurer des bonnes performances du dosage, respectez scrupuleusement les instructions d'utilisation de l'analyseur LIAISON®.

LIAISON® Analyzer: Tous les paramètres du dosage sont identifiés par un code-barres figurant sur le réactif Integral. Si le code-barres ne peut être lu par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Integral. Ne pas jeter le réactif Integral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions.

LIAISON® XL Analyzer. Tous les paramètres du dosage sont identifiés par les informations codées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (étiquette RFID) du réactif intégral. Si l'étiquette RFID ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif intégral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions.

Les phases de fonctionnement de l'analyseur sont les suivantes :

Analyseur LIAISON® :

1. Distribuez l'échantillon, l'étalon ou le contrôle dans le module de réaction.
2. Distribuez les particules magnétiques et le tampon de dosage dans le module de réaction.
3. Incubez.
4. Distribuez le marqueur dans le module de réaction.
5. Incubez.
6. Lavez à l'aide du liquide de lavage/système.
7. Ajoutez les inducteurs et mesurez la lumière émise.

LIAISON® XL :

1. Distribuez les particules magnétiques et le tampon de dosage dans le module de réaction.
2. Distribuez l'échantillon, l'étalon ou le contrôle dans le module de réaction.
3. Incubez.
4. Distribuez le marqueur dans le module de réaction.
5. Incubez.
6. Lavez à l'aide du liquide de lavage/système.
7. Ajoutez les inducteurs et mesurez la lumière émise.

Les variations de température peuvent affecter les résultats du dosage immunologique. Les utilisateurs doivent être conscients des variations de température dans l'environnement du laboratoire ; un usage plus fréquent des contrôles et un ré-étalonnage peuvent s'avérer nécessaires.

11. CONTRÔLE QUALITÉ

Il est recommandé de procéder à un contrôle qualité une fois par jour d'utilisation, ou conformément aux réglementations ou exigences d'accréditation locales, nationales et/ou fédérales, ainsi qu'aux procédures de contrôle qualité en vigueur dans votre laboratoire. Pour plus d'informations sur les pratiques de contrôle qualité appropriées, il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI C24-A3 et 42 CFR 493.1256 (c). Le coffret de contrôles LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Control Set (REF 310601) convient parfaitement pour la détermination des mesures de contrôle de qualité requises pour ce dosage.

Les contrôles LIAISON® doivent être analysés sans réplicat afin de contrôler la bonne performance du dosage. Si les valeurs des contrôles sortent des plages escomptées, les tests sont non valides et les résultats des patients ne peuvent pas être rapportés. Si un contrôle est hors limites, il est nécessaire d'en déterminer la raison et d'effectuer un nouvel étalonnage. Les résultats des échantillons patient associés ne sont pas valides et les échantillons doivent être à nouveau testés.

Vérifiez que les performances d'autres contrôles sont compatibles avec ce test avant de les utiliser. Des plages de valeur appropriées doivent être établies pour tout le matériel utilisé dans le cadre d'un contrôle qualité.

La plage de concentration de chaque contrôle est rapportée sur le certificat d'analyse et indique les limites établies par DiaSorin pour les valeurs des contrôles pouvant être obtenues lors d'analyses de dosage fiables. Les laboratoires doivent fixer leurs propres plages cibles en fonction de leurs critères d'acceptation concernant la performance du dosage.

12. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'analyseur LIAISON® calcule automatiquement la concentration de 25 OH vitamine D dans l'échantillon. Celle-ci est exprimée en ng/mL. Pour convertir les résultats en unités SI : $\text{ng/mL} \times 2,5 = \text{nmol/L}$.

Plage du dosage : de 4 à 150 ng/mL

Les étalons et les contrôles sont susceptibles de produire des résultats de RLU ou de dose différents sur les analyseurs LIAISON® et LIAISON® XL, mais les résultats du patient sont équivalents.

13. LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Pour obtenir des résultats fiables, une technique irréprochable et le respect scrupuleux des instructions sont indispensables.
- Une contamination bactérienne ou des cycles répétés de congélation et décongélation peuvent affecter les résultats du test.
- Des anticorps hétérophiles contenus dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines ou d'autres matières des réactifs et ainsi interférer avec les dosages immunologiques in vitro.
- Les patients exposés régulièrement à des animaux, à des produits à base de sérum animal ou à d'autres produits immunogènes pouvant favoriser la production d'anticorps hétérophiles dirigés contre les réactifs du dosage, sont éventuellement sujets à cette interférence ; dans ce cas, des valeurs anormales risquent d'être observées.
- Les résultats du dosage doivent être utilisés avec d'autres données cliniques et d'analyse pour aider le clinicien à prendre des décisions individuelles de prise en charge de patients adultes.
- Il n'est pas possible de changer de type d'analyseur (LIAISON® ou LIAISON® XL) pour un même Integral.
- Dès lors qu'un Integral a été introduit dans un type d'analyseur en particulier, il doit être toujours utilisé sur l'analyseur en question jusqu'à épuisement.
- En raison des questions de traçabilité découlant de la mention ci-dessus, les patients ne peuvent être suivis à partir de types d'analyseur différents. Le suivi doit être accompli sur un type d'analyseur en particulier (soit LIAISON® soit LIAISON® XL).

14. VALEURS ESCOMPTÉES

Intervalle de référence

Il est important que chaque laboratoire établisse son propre intervalle de référence, représentatif de sa population typique. Des facteurs tels qu'une exposition à la lumière UV [16, 17], la saison [18, 19], la race [20] et le régime alimentaire [21] sont tous connus pour influencer sur les concentrations de 25 OH vitamine D chez l'homme. On a observé une forte prévalence de carence sub-clinique en 25 OH vitamine D dans de nombreux pays [3-8], particulièrement pendant les mois d'hiver.

L'étude de la documentation disponible suggère les intervalles suivants pour la classification du statut en 25 OH vitamine D :

Statut en vitamine D	25 OH Vitamine D	
Carence	< 10 ng/mL	< 25 nmol/L
Niveau insuffisant	10-30 ng/mL	25-75 nmol/L
Niveau suffisant	30-100 ng/mL	75-250 nmol/L
Toxicité	> 100 ng/mL	> 250 nmol/L

DiaSorin a évalué 398 échantillons de sérum prélevés sur des sujets adultes. Les prélèvements ont été effectués en différentes saisons et dans différentes régions géographiques des États-Unis. Les échantillons présentant des valeurs anormales de PTH, de calcium et de TSH ont été exclus de cette étude. Sur la base de l'intervalle de confiance à 95%, les valeurs suivantes ont été établies d'après la directive CLSI C28-A2. Les valeurs suivantes ont été obtenues :

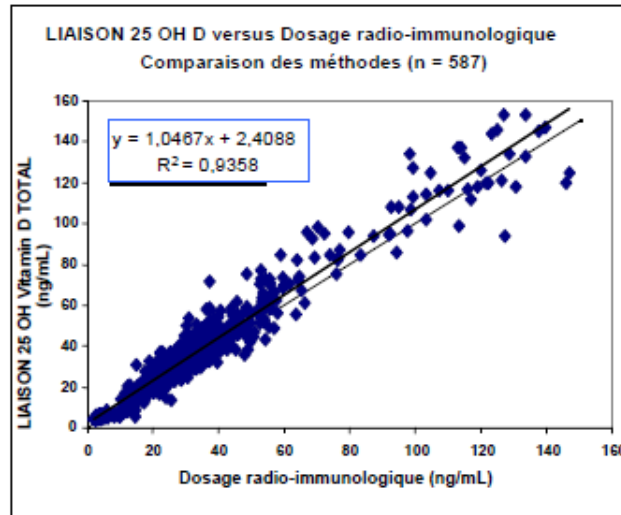
Intervalles de référence observés		
Population (398)	25 OH vitamine D médiane	Intervalle observé du 2,5 ^{ème} au 97,5 ^{ème} percentile
États-Unis	24,9 ng/mL	9,3 ng/mL – 47,9 ng/mL

15. CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE PERFORMANCE

15.1 Sensibilité fonctionnelle : La sensibilité fonctionnelle, définie comme étant la concentration de dose à laquelle la %CV dépasse 20%, a été évaluée selon la directive CLSI EP17A. Les échantillons ont été préparés à des concentrations nominales de 2 à 14 ng/mL et testés dans de multiples analyses afin de déterminer la concentration moyenne et la %CV. La concentration des échantillons a été tracée par rapport à la précision en %CV et une régression a été préparée pour déterminer la sensibilité fonctionnelle. La sensibilité fonctionnelle dérivée de l'équation de régression est ≤ 4 ng/mL.

15.2 Comparaison des méthodes : Un total de 587 échantillons, à une concentration de 3,6 – 153,2 ng/mL, ont été testés au moyen du dosage LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL et du dosage DiaSorin 25-HYDROXYVITAMIN D ¹²⁵I RIA, conformément à la directive CLSI EP9-A2. Les données obtenues à partir des régressions linéaires résultantes sont récapitulées dans le tableau et le graphique qui suivent.

Dosage	n	Pente (IC à 95%)	Interruption (IC à 95%)	R ²	Est. err. std	Biais moyen	DS des différences
Dosage radio-immunologique	587	1,047 (1,02–1,07)	2,41 (1,43–3,40)	0,936	7,116	4,083	7,212



15.3 Précision avec l'analyseur LIAISON® :

La précision du dosage a été évaluée conformément à la directive CLSI EP5-A2. 6 échantillons de sérum contenant différentes concentrations d'analyte et des contrôles de la trousse ont été analysés en double à raison de 2 dosages par jour, pendant 20 jours ouvrables et sur 2 lots. Les échantillons ont été testés en interne à DiaSorin Inc. et dans 2 sites externes. Les résultats suivants ont été obtenus :

ID échantillon	Moyenne (ng/mL)	Intra-analyse pour l'ensemble des lots et sites		Total pour l'ensemble des lots et sites	
		DS	%CV	DS	%CV
Échantillon n°1	7,9	0,6	7,7%	1,0	12,6%
Échantillon n°2	12,0	0,7	5,8%	1,3	11,1%
Échantillon n°3	18,0	0,9	5,0%	1,7	9,7%
Échantillon n°4	20,4	1,0	5,0%	2,1	10,4%
Échantillon n°5	24,3	1,2	5,0%	2,6	10,6%
Échantillon n°6	56,8	2,9	5,0%	5,8	10,3%
Échantillon n°7	61,8	3,0	4,9%	5,8	9,5%
Échantillon n°8	112,1	5,4	4,8%	12,2	10,8%

Les résultats suivants ont été obtenus à partir des 8 mêmes échantillons, sur 1 site et avec 1 lot de trousses analysé en double, à raison de 2 dosages par jour pendant 20 jours ouvrables.

ID échantillon	Moyenne (ng/mL)	Intra-analyse sur un lot et un site		Total sur un lot et un site	
		DS	%CV	DS	%CV
Échantillon n°1	7,9	0,6	7,7%	0,9	10,9%
Échantillon n°2	12,2	0,6	5,2%	1,1	9,3%
Échantillon n°3	17,6	0,8	4,8%	1,0	5,8%
Échantillon n°4	20,7	1,1	5,1%	1,9	9,1%
Échantillon n°5	24,0	1,0	4,1%	1,8	7,7%
Échantillon n°6	56,8	2,3	4,0%	3,6	6,3%
Échantillon n°7	60,8	2,2	3,7%	3,7	6,0%
Échantillon n°8	109,6	4,6	4,2%	7,8	7,2%

15.4 Précision avec l'analyseur LIAISON® XL :

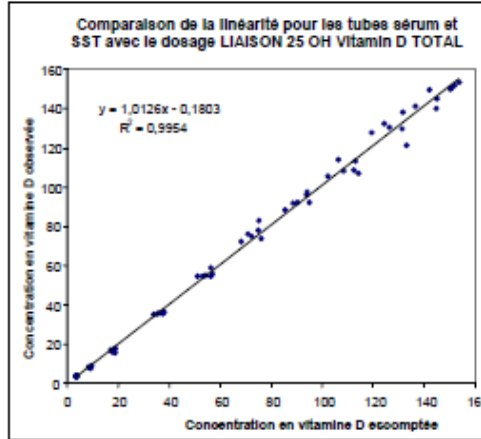
La précision du dosage sur l'automate LIAISON® XL Analyzer a été évaluée conformément à la directive CLSI EP5-A2. 6 échantillons de sérum contenant différentes concentrations d'analyte et des contrôles de la trousse ont été analysés en double à raison de 2 dosages par jour, pendant 20 jours ouvrables et avec 1 lot de réactifs. Les échantillons ont été testés sur 2 automates d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzers. Les résultats suivants ont été obtenus :

ID échantillon	Moyenne (ng/mL)	Intra-analyse		Total	
		DS	%CV	DS	%CV
Échantillon n°1	7,85	0,3	3,8%	0,8	9,8%
Échantillon n°2	17,2	0,6	3,2%	1,5	8,9%
Échantillon n°3	19,6	0,4	2,3%	1,4	7,3%
Échantillon n°4	22,8	0,4	1,8%	2,0	8,9%
Échantillon n°5	51,9	1,0	2,0%	3,1	6,0%
Échantillon n°6	55,2	1,7	3,1%	3,6	6,4%
Échantillon n°7	109,3	2,1	1,9%	6,9	6,3%
Échantillon n°8	120,5	0,2	0,1%	11,0	9,1%

15.5 Exactitude

L'exactitude du dosage a été vérifiée par le test de dilution et le test de récupération.

Test de dilution. La linéarité a été évaluée conformément à la directive CLSI EP6-A. 2 pools d'échantillons ont été dilués avec le diluant d'échantillon LIAISON® 25 OH Vitamine D TOTAL Specimen Diluent ([REF] 310602) et ont été analysés. Les résultats ont été représentés sous la forme d'un diagramme de régression linéaire de la valeur attendue par rapport à la valeur observée. L'équation de régression correspondante est : Valeurs observées = Valeurs escomptées $1,01x - 0,180$; $R^2 = 0,995$. En termes de dose, les échantillons allaient de 3,8 à 151 ng/mL.



Test de récupération. Des échantillons fortement concentrés ont été mélangés avec des échantillons faiblement concentrés selon des rapports 1:2, 1:1 et 2:1. Les valeurs observées ont ensuite été comparées aux valeurs escomptées afin de déterminer la récupération en %. La récupération moyenne a été de 93%.

	Concentration escomptée (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération en %
Échantillon n°1			
Pur, haute conc.	-	121	-
2 h : 1 l	86,4	77,8	90%
1 h : 1 l	68,8	58,4	85%
1 h : 2 l	51,1	46,4	91%
Pur Basse conc	-	16,9	-
Échantillon n°2			
Pur, haute conc.	-	112	-
2 h : 1 l	81,0	77,4	96%
1 h : 1 l	64,9	60,3	93%
1 h : 2 l	48,9	48,7	100%
Pur Basse conc	-	17,7	-
Échantillon n°3			
Pur, haute conc.	-	121	-
2 h : 1 l	84,7	80,3	95%
1 h : 1 l	65,9	59,9	91%
1 h : 2 l	47,1	42,5	90%
Pur Basse conc	-	10,6	-
Échantillon n°4			
Pur, haute conc.	-	59,6	-
2 h : 1 l	44,7	42,8	96%
1 h : 1 l	37,0	35,5	96%
1 h : 2 l	29,3	27,4	94%
Pur Basse conc	-	14,3	-
Échantillon n°5			
Pur, haute conc.	-	65,2	-
2 h : 1 l	47,6	45,3	95%
1 h : 1 l	38,5	36,6	95%
1 h : 2 l	29,5	28,2	96%
Pur Basse conc	-	11,9	-
		Récupération moyenne	93% (85%-100%)

15.6 Spécificité

La réactivité croisée a été testée comme décrit dans la directive CLSI EP7-A2. Les données concernant la réactivité croisée de l'antisérum utilisé dans ce dosage ont été obtenues par un dopage à 100 ng/mL du réactif croisé potentiel, suivi d'un dosage. La réactivité croisée de chaque composé, normalisé par rapport à la 25 OH vitamine D₃, est indiquée ci-dessous. L'anticorps utilisé dans ce dosage affichera une réactivité croisée avec de nombreux métabolites déshydroxylés de la vitamine D.

Stéroïde	Réactivité croisée en %
25 OH vitamine D ₂	100%
25 OH vitamine D ₃	100%
Vitamine D ₂	1,9%
Vitamine D ₃	1,9%
1,25-(OH) ₂ vitamine D ₂	6,7%
1,25-(OH) ₂ vitamine D ₃	9,3%
3-épi-25 OH vitamine D ₃	1,3%

15.7 Substances parasites

Les substances parasites ont été testées comme décrit dans la directive CLSI EP7-A2, en utilisant le dosage LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL. Les résultats sont présentés ci-dessous.

Les échantillons qui sont	montrent une variation des résultats \leq 10% jusqu'à
hémolysés	200 mg/dL d'hémoglobine
lipémiques	589 mg/dL de triglycérides
ictériques	40 mg/dL de bilirubine conjuguée
ictériques	40 mg/dL de bilirubine non conjuguée
Les échantillons qui contiennent	montrent une variation des résultats \leq 10% jusqu'à
du cholestérol	301 mg/dL
de l'acide urique	20 mg/dL
des protéines totales	12 g/dL

16. Bibliographie

1. Vitamin D, 2nd ed., Pike, J.W. & Glorieux, F.H., eds., 2005. *Elsevier Academic Press*, Amsterdam.
2. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes 1997 Dietary Reference Intakes: calcium, phosphorus, vitamin D, and Fluoride. *National Academy Press*.
3. Benucci, A., Tommasi, M., Fantappiè, B., Scardigli, S., Ottanelli, S., Pratesi, E., Romano, S., Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels in Normal Subjects: Seasonal Variations and Relationships with Parathyroid Hormone and Osteocalcin. 1993. *J Nucl Biol Med* 37:77-82.
4. Gannage-Yared M.-H., Chemali, R., Yaacoub, N., Halaby, G., Hypovitaminosis D in a Sunny Country: Relation to Lifestyle and Bone Markers. 2000. *J Bone Miner Res* 15:1856-62.
5. Du, X., Greenfield, H., Fraser, D.R., Ge, K., Trube, A., Wang, Y., Vitamin D Deficiency and Associated Factors in Adolescent Girls in Beijing. 2001 *Am J Clin Nutr* 74:494-500.
6. Bassir, M., Laborie, S., Lapillonne, A., Claris, O., Cappuis, M.-C., Salle, B.L., Vitamin D Deficiency in Iranian Mothers and Their Neonates: a Pilot Study. 2001. *Acta Paediatr.* 90:577-9.
7. Lamberg-Allardt, C.J.E., Outila, T.A., Kärkkäinen, M.U.M., Rita, H.J., Valsta, L.M., Vitamin D Deficiency and Bone Health in Healthy Adults in Finland: Could This Be a Concern in Other Parts of Europe? 2001. *J Bone Miner Res* 16:2088-73.
8. Rucker, D., Allan, J.A., Fick, G.H., Hanley, D.A., Vitamin D Insufficiency in a Population of Healthy Western Canadians. 2002. *CMAJ* 166:1517-24.
9. Dawson-Hughes, B., Heaney, R.P., Holick, M.F., Lips, P., Meunier, P.J., Vieth, R., Estimates of Optimal Vitamin D Status. 2005. *Osteoporosis Int.* 16:713-6.
10. Holick, M.F., Vitamin D: the Underappreciated D-lightful Hormone That is Important for Skeletal and Cellular Health. 2002. *Curr Opin in Endocrinol and Diabetes* 9:87-98.

11. Grant, W.B., Holick, M.F., Benefits and Requirements of Vitamin D for Optimal Health: A Review. 2005. *Alt Med Rev* 10:94-111.
12. Liu, P.T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B.H., Krutzik, S.R., Ochoa, M.T., Schauber, J., Wu, K., Meinken, C., Kamen, D.L., Wagner, M., Bals, R., Steinmeyer, A., Zugel, U., Gallo, R.L., Eisenberg, D., Hewison, M., Hollis, B.W., Adams, J.S., Bloom, B.R., Modlin, R.L., Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D-mediated Human Antimicrobial Response. 2006. *Science* 311:1770-3.
13. Snijder, M.B., van Schoor, N.M., Pluijm, S.M.F., van Dam, R.M., Visser, M., Lips, P., Vitamin D Status in Relation to One-Year Risk of Recurrent Falling in Older Men and Women. 2006. *J Clin Endocrinol Metab* 91:2980-5.
14. National Kidney Foundation. Clinical Practice Guidelines. <http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines> (accessed 8/24/08).
15. Singh, R.J., Taylor, R.L., Reddy, G.S., Grebe, S.K., C-3 Epimers Can Account for a Significant Proportion of Total Circulating 25-Hydroxyvitamin D in Infants, Complicating Accurate Measurement and Interpretation of Vitamin D Status. 2006. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3055-61.
16. Haddad, J.G. and K.J. Chyu. 1971. Competitive protein-binding radioassay for 25-hydroxy-cholecalciferol. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 33:992.
17. Adams, J.S., T.L. Clemens, J.A. Parrish, M.F. Hollick. 1982. Vitamin D synthesis and metabolism after ultraviolet irradiation of normal and vitamin D-deficient subjects. *New England Journal of Medicine* 306:722.
18. Beadle, P.C., J.L. Burton, J. Leach. 1980. Correlation of seasonal variation of 25-hydroxycalciferol with UV radiation dose. *British Journal of Dermatology* 102:289.
19. Sherman, S.S., B.W. Hollis, J.D. Tobin. 1990. Vitamin D status and related parameters in a healthy population: The effects of age, sex, and season. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 71:405.
20. Hollis, B.W. and W.B. Pittard III. 1984. Evaluation of the total fetomaternal Vitamin D relationships at term: Evidence for racial differences. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 59:652.
21. Parfitt, A.M., M.B.Bohir, J.C. Gallagher, R.P. Heaney, C.C. Johnston, R. Neer and G.D. Whedon. 1982. Vitamin D and bone health in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition* 36:1014.
22. Zittermann, A. 2003. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *British Journal of Nutrition* 89:552-572.



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC)
Italy

Annexe 2 : Fiche technique LIAISON[®] XL 1,25 dihydroxyvitamin D



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Ave – Stillwater, MN 55082 – USA
Tel. 1.651.439.9710 – Fax 1.651.351.5669



Changements : § 9

Éliminations : § 14

LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D (REF 310980)

1. UTILISATION

Le test DiaSorin LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D est un dosage immunologique par chimiluminescence (CLIA) *in vitro* conçu pour la détermination quantitative de la 1,25 dihydroxyvitamine D (1,25(OH)₂D) dans le sérum et le plasma (EDTA et héparine de lithium). Les résultats du dosage doivent être utilisés en association avec d'autres données cliniques et de laboratoire afin d'orienter le médecin dans ses décisions de prise en charge des patients au cas par cas chez les populations d'adultes.

Le test doit être effectué à l'aide de l'automate d'immunoanalyse LIAISON[®] XL Analyzer.

2. INTÉRÊT CLINIQUE

La vitamine D est dérivée de 2 sources : une source exogène (alimentaire) et une source endogène (biosynthèse, régulée par l'exposition à la lumière ultraviolette). La source exogène ou nutritionnelle comprend des aliments qui contiennent des taux naturellement faibles de vitamine D₂ (par exemple, lait, beurre, céréales enrichies en vitamine D₂), des compléments alimentaires sous forme de vitamines délivrées sans ordonnance et facilement disponibles, ainsi que des formulations thérapeutiques des vitamines D₂¹. La vitamine D ne possède aucune activité inhérente lorsqu'elle pénètre dans la circulation par la voie alimentaire ou photochimique. Son activité biologique est exercée suite à un ensemble complexe d'étapes métaboliques².

On sait aujourd'hui que l'activation métabolique de la vitamine D est un processus étroitement contrôlé qui est soumis à des altérations considérables par des variables telles que le calcium et le phosphore alimentaires, le degré de carence en vitamine D, des déficits génétiques, les concentrations en hormone parathyroïdienne, l'exposition à la lumière ultraviolette, et le degré de la fonction rénale³. La biosynthèse des formes dihydroxylées de la vitamine D₃ commence par l'action de la lumière ultraviolette du soleil sur le 7-déhydrocholestérol pour former la vitamine D₃ dans la peau. Une fois que la vitamine D₃ pénètre dans la circulation, elle est rapidement absorbée par le foie où elle est métabolisée en 25-hydroxyvitamine D₃ (25-OH-D₃). Le foie exerce également une hydroxylation de la vitamine D₂ alimentaire en 25-hydroxyvitamine D₂ (25-OH-D₂)^{2,4}.

Suite à l'hydroxylation hépatique, la 25-OH-D, en association avec la protéine fixant la vitamine D, est transportée vers le rein où elle subit une hydroxylation supplémentaire. L'addition d'un groupe hydroxyle à la position 1 produit la 1,25 dihydroxyvitamine D (1,25 (OH)₂ D). La 1,25 dihydroxyvitamine D est le métabolite naturel de la vitamine D le plus puissant découvert à ce jour, et sa production est étroitement régulée par les concentrations de calcium, de phosphore et de l'hormone parathyroïdienne dans le sérum. Pendant les périodes de stress calcique, la 1,25 (OH)₂ D est le métabolite de la vitamine D le plus important produit par les reins^{5,6}.

Cela s'explique par son rôle essentiel dans l'absorption active efficace du calcium et du phosphore, ainsi que leur métabolisme normal.

Dans l'hyperparathyroïdie secondaire, les glandes parathyroïdes augmentent de volume et deviennent hyperactives. L'insuffisance rénale, une cause courante de l'hyperparathyroïdie secondaire, est généralement la complication d'une maladie rénale dans laquelle le rein est incapable d'éliminer le phosphore produit par l'organisme, en étant également incapable de produire la forme active de la vitamine D (1,25 (OH)₂ D) en des quantités suffisantes. L'accumulation de phosphore entraîne de faibles taux de calcium dans le sang, ce qui stimule l'augmentation de la production de PTH par les glandes parathyroïdes qui, en conséquence, présentent une augmentation de volume. Lorsque la maladie progresse, les glandes parathyroïdes ne répondent plus normalement au calcium ou à la vitamine D.

Les directives de pratique clinique telles que les normes KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives) et KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) recommandent des régimes thérapeutiques à base de vitamine D activée chez les patients atteints de maladie rénale chronique (MRC)^{7,8}. Par conséquent, la mesure de la 1,25 (OH)₂ D devient rapidement un outil efficace dans l'étude des maladies et des états pathologiques qui affectent le métabolisme normal du phosphore et du calcium^{9,10,11}.

LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D (REF 310980)

1 / 11

FR – 48777 – 2017-06

3. PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le test LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D est un dosage de type sandwich modifié en 3 étapes qui utilise une protéine de fusion recombinante pour la capture de la molécule de 1,25 (OH)₂ D et un anticorps monoclonal murin qui reconnaît spécifiquement le complexe formé entre la protéine de fusion recombinante et la molécule de 1,25 (OH)₂ D. Pendant la première incubation, les étalons, les contrôles ou les échantillons des patients sont incubés avec la protéine recombinante (agent de liaison) et un tampon de dosage. Après cette incubation, la phase solide contenant l'anticorps monoclonal spécifique est ajoutée et se lie au complexe de la première incubation. Après la seconde incubation, un cycle de lavage est effectué afin d'éliminer le matériel non lié. La troisième étape consiste à ajouter le conjugué et à réaliser une incubation. Le matériel non lié est éliminé par une seconde étape de lavage. Les réactifs Starter sont ensuite ajoutés et une réaction instantanée de chimiluminescence est amorcée. Le signal lumineux, mesuré en unités relatives de luminescence (RLU) par un tube photomultiplicateur, est proportionnel à la concentration de 1,25 (OH)₂ D présente dans les étalons, les contrôles et les échantillons des patients.

4. MATÉRIEL FOURNI

Réactif Integral

Particules magnétiques (2,4 mL)	[SORB]	Particules magnétiques revêtues d'un anticorps monoclonal murin, tampons phosphate, SAB (sérumalbumine bovine), Tween 20 et azide de sodium à 0,09%.
TCEP (4,5 mL)	[BUFA]	TCEP (TRIS (2-carboxyéthyl) phosphine), tampon citrate et azide de sodium à 0,09%
Conjugué (14,0 mL)	[CONJ]	Anticorps monoclonal murin* conjugué à un dérivé de l'isoluminol dans un tampon phosphate, Tween 20, sulfate de gentamicine à 0,01% et ProClin [®] 300 à 0,2%
Tampon de dosage (14,0 mL)	[BUFAS]	Tampon phosphate avec des agents bloquants, IgG de souris, SAB (sérumalbumine bovine), Tween 20, sulfate de gentamicine à 0,01% et ProClin [®] 300 à 0,2%
Nombre de tests		100

ProClin est une marque de commerce de The Dow Chemical Company (Dow) ou d'une société affiliée de Dow.

Composants supplémentaires non inclus dans le réactif Integral

Étalon 1 (2 flacons) Lyophilisé	[CAL1]	Sérum humain et tampon phosphate dopé avec de la 1,25(OH) ₂ D à faible concentration, ProClin [®] 300 à 0,2% et sulfate de gentamicine à 0,01% Reconstituer avec 2,0 mL d'eau distillée ou désionisée.
Étalon 2 (2 flacons) Lyophilisé	[CAL2]	Sérum humain et tampon phosphate dopé avec de la 1,25(OH) ₂ D à concentration élevée, ProClin [®] 300 à 0,2% et sulfate de gentamicine à 0,01% Reconstituer avec 2,0 mL d'eau distillée ou désionisée.
Agent de liaison (4 flacons) Lyophilisé	[PROT]	Protéine de fusion recombinante*, tampon TRIS avec du mannitol et un détergent. Reconstituer avec 5,0 mL de tampon de reconstitution pour agent de liaison.
Tampon de reconstitution pour agent de liaison (4 x 5,5 mL)	[BUFB]	Eau avec de l'azide de sodium à 0,09%

* Demande de brevet européen n° 13152851

* Demande de brevet international n° PCT/EP2014/051482

Normalisation: Les concentrations des étalons (pg/mL) sont étalonnées par rapport à une préparation interne standard.

Matériel nécessaire, mais non fourni (se rapportant au système)

LIAISON [®] XL Analyzer
LIAISON [®] Wash/System Liquid ([REF] 319100)
LIAISON [®] XL Waste Bags ([REF] X0025)
LIAISON [®] XL Cuvettes ([REF] X0016)
LIAISON [®] XL Starter Kit ([REF] 319200)
LIAISON [®] XL Disposable Tips ([REF] X0015)

Matériel supplémentaire nécessaire

LIAISON [®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D Control Set ([REF] 310981)
--

Matériel complémentaire recommandé

LIAISON [®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D Diluent ([REF] 310982)
--

LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D ([REF] 310980)
FR – 48777 – 2017-06

5. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

RÉSERVÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO – Non indiqué pour une utilisation interne ou externe chez les humains ou les animaux.


Sécurité générale :

- L'ensemble des échantillons, des réactifs biologiques et du matériel utilisés pour ce dosage doit être considéré comme une source potentielle de transmission d'agents infectieux. Éviter le contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses. Respecter les bonnes pratiques d'hygiène industrielle pendant le dosage.
- Ne pas manger, boire, fumer ni appliquer de cosmétiques dans le laboratoire d'analyse.
- Ne pas pipeter les solutions avec la bouche.
- Éviter tout contact direct avec l'ensemble du matériel potentiellement infectieux en utilisant des vêtements de protection comme une blouse de laboratoire, des lunettes/un masque de protection, et des gants jetables.
- Se laver les mains soigneusement à l'issue de chaque test.
- Éviter les projections ou la formation d'aérosols lors de la manipulation, de la dilution ou du transfert des échantillons ou des réactifs. Tout déversement de réactif doit être décontaminé avec une solution javellisée à 10% (contenant hypochlorite de sodium à 0,5%) et mis au rebut comme du matériel potentiellement infectieux.
- Les déchets doivent par conséquent être éliminés conformément aux règlements en vigueur, aux directives des autorités responsables de la juridiction des laboratoires et à la réglementation de chaque pays.
- Ne pas utiliser de trousse ou de composants dont la date de péremption indiquée sur l'étiquette est dépassée.

RISQUE CHIMIQUE ET INFORMATIONS DE SÉCURITÉ: Les réactifs contenus dans cette trousse sont classés conformément à la norme de communication des risques de l'OSHA américaine; aux lois nationales américaines sur le droit à l'information des individus; au règlement sur les produits contrôlés du centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail; et aux directives de l'Union Européenne applicables (consulter la fiche de données de sécurité pour de plus amples informations).

RÉACTIFS CONTENANT DES PRODUITS D'ORIGINE HUMAINE: Avertissement – Les traiter comme potentiellement infectieux. Chaque don de sérum/plasma intervenant dans la préparation de ce produit a été testé par une méthode agréée par la FDA et s'est avéré non réactif pour la présence d'anticorps anti-VIH1 et 2 (virus de l'immunodéficience humaine 1/2), de l'antigène HbsAg (virus de l'hépatite B), et d'anticorps anti-VHC (virus de l'hépatite C). Même si ces méthodes sont extrêmement précises, elles ne garantissent pas la détection de tous les dons infectés. Ce produit peut également contenir d'autres produits d'origine humaine pour lesquels il n'existe aucun test agréé. Parce qu'aucune méthode d'essai connue ne peut offrir une assurance complète que le VIH, le VHB, le VHC ou autres agents infectieux sont absents, tous les produits contenant des matières premières humaines doivent être manipulés en prenant les précautions universelles et, le cas échéant, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire décrites dans le manuel actuel des Centers for Disease Control et des National Institutes of Health (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, BMBL, Biosécurité dans les laboratoires biomédicaux et de microbiologie), ou encore conformément à la version actuelle du Manuel de sécurité biologique en laboratoire de l'Organisation Mondiale de la Santé.

GHS/CLP:

	ProClin®	AZIDE DE SODIUM
CAS No.:	55965-84-9	26628-22-8
Réactifs:	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">CONJ</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">BUFAS</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">CAL1</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">CAL2</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">SORB</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">BUFA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">BUFB</div>
Classification:	Sensibilisation cutanée, catégorie de danger 1	Aucun requis
Mention D'avertissement:	Attention	Aucun requis
Pictogrammes:	 GHS07 – Point d'exclamation	Aucun requis
Mention De Danger:	H317 – Peut provoquer une allergie cutanée.	Aucun requis
Conseil De Prudence:	P261 – Éviter de respirer brouillards/aérosols. P272 – Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 – Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux.	Aucun requis

LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D ([REF] 310980)

3 / 11

FR – 48777 – 2017-06

RÉACTIFS CONTENANT DE L'AZIDE DE SODIUM L'azide de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb ou en cuivre et donner naissance à des azotures fortement explosifs. Lors de l'élimination, rincer à grande eau pour empêcher l'accumulation d'azoture. Pour plus d'informations, consulter la rubrique « Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts (*Décontamination des canalisations d'éviers de laboratoire pour l'élimination des azotures*) » dans le manuel Guide-Safety Management N°CDC-22 publié par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

6. PRÉPARATION DU RÉACTIF INTEGRAL

Suivre scrupuleusement les précautions suivantes concernant la manipulation des réactifs :

6.1 Remise en suspension des particules magnétiques

Les particules magnétiques doivent être remises en suspension complètement avant de placer le réactif Integral dans l'automate. Suivre les étapes indiquées ci-après afin de garantir la mise en suspension complète des particules :

- Avant d'ôter les opercules des compartiments, agiter légèrement le compartiment des particules magnétiques à l'aide de la molette jusqu'à ce que la suspension soit marron. Le fait d'agiter horizontalement le réactif Integral délicatement et avec soin favorisera la suspension des particules magnétiques (éviter cependant la formation de mousse). Contrôler visuellement le fond du flacon des particules magnétiques pour s'assurer que toutes les particules sédimentées ont été effectivement remises en suspension.
- Répéter l'opération si nécessaire, jusqu'à ce que les particules magnétiques soient complètement remises en suspension.
- Après le retrait de l'opercule, essuyer soigneusement la surface de chaque septum pour éliminer le liquide résiduel si nécessaire.

6.2 Formation de mousse dans les réactifs

Pour garantir les performances optimales du réactif Integral, il est indispensable d'éviter toute formation de mousse. Observer les recommandations suivantes afin d'empêcher la formation de mousse :

- Avant toute utilisation du réactif Integral, contrôler visuellement les réactifs pour s'assurer de l'absence de mousse. Si après la remise en suspension des particules magnétiques il y a formation de mousse, placer le réactif Integral dans l'automate et laisser la mousse se dissiper. Le réactif Integral est prêt à l'emploi lorsqu'il a été laissé au repos à l'intérieur de l'automate, lorsque les particules magnétiques sont maintenues en agitation automatiquement et que la mousse s'est entièrement dissipée.

6.3 Chargement du réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse Automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer

- L'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer est pourvu d'un dispositif magnétique interne qui favorise la dispersion des microparticules avant de placer un réactif Integral dans la zone réactifs de l'automate d'immunoanalyse. Se reporter au manuel de l'opérateur de l'automate d'immunoanalyse pour obtenir des renseignements détaillés.
 - a. Placer le réactif Integral dans la rainure prévue à cet effet.
 - b. Laisser reposer le réactif Integral à l'intérieur du dispositif magnétique pendant au moins 30 secondes (et jusqu'à plusieurs minutes). Répéter l'opération si nécessaire.
- Placer le réactif Integral dans la zone réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en veillant à ce que l'étiquette soit à gauche, et attendre 15 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.
- Se reporter au manuel de l'opérateur de l'automate d'immunoanalyse pour charger les échantillons et démarrer le test.

7. CONSERVATION ET STABILITÉ DU RÉACTIF INTEGRAL

Dès réception, le réactif Integral doit être conservé en position verticale afin de faciliter la remise en suspension des particules magnétiques. Se reporter à la section Préparation du réactif Integral pour prendre connaissance des instructions relatives à la remise en suspension des particules. Lorsque le réactif Integral est stocké et hermétiquement fermé, les réactifs restent stables entre 2 et 8°C jusqu'à la date de péremption. Ne pas congeler. Le réactif Integral ne doit pas être utilisé au-delà de la date de péremption indiquée sur la trousse et sur ses étiquettes. Après ouverture et chaque utilisation, le réactif Integral doit être hermétiquement fermé à l'aide du ruban adhésif fourni avec la trousse, puis doit être conservé en position verticale entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière. Une fois ouvert, il peut être utilisé pendant 4 semaines s'il est conservé de manière appropriée. Éviter toute exposition excessive à la lumière.

7.1 Préparation, conservation et stabilité de l'agent de liaison

L'agent de liaison est fourni lyophilisé. Dès réception, conserver l'agent de liaison entre 2 et 8°C. Reconstituer 1 flacon d'agent de liaison avec 5 mL de tampon de reconstitution pour agent de liaison. **Laisser reposer pendant 15 minutes à température ambiante, puis mélanger délicatement par inversion.** Charger l'agent de liaison dans le portoir auxiliaire puis l'insérer dans l'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer au maximum 1 heure après la reconstitution. Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse pour obtenir des renseignements sur l'utilisation du portoir auxiliaire.

Après ouverture et chaque utilisation, boucher le flacon et le conserver entre 2 et 8°C. Après ouverture et reconstitution, l'agent de liaison reste stable pendant 2 jours.

L'agent de liaison est spécifique au lot de la trousse et doit être utilisé uniquement avec le lot de réactif Integral correspondant. L'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer vérifie automatiquement la bonne correspondance entre les lots du réactif Integral et l'agent de liaison.

8. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le dosage peut être effectué avec des échantillons de sérum, sérum SST, plasma EDTA et plasma héparine de lithium humains.

Le sang doit être prélevé de manière aseptique par ponction veineuse. Laisser les échantillons de sérum coaguler et séparer le sérum du caillot dès que possible. Les échantillons de plasma doivent être centrifugés et séparés des cellules immédiatement après la centrifugation. Avant le test, clarifier par filtration ou centrifugation les échantillons troubles, lipémiques et ceux contenant du matériel en suspension ou des débris érythrocytaires. Ne pas utiliser des échantillons fortement hémolysés ou lipémiques, ni des échantillons contenant des particules en suspension ou présentant une contamination microbienne évidente. Éliminer les bulles d'air qui se sont formées avant le test. **Il est indispensable de manipuler correctement les échantillons afin de garantir leur intégrité. Les échantillons restent stables à température ambiante jusqu'à 48 heures. Si le dosage est exécuté dans les 14 jours suivant le prélèvement, les échantillons peuvent être conservés entre 2 et 8°C. Dans le cas contraire, ils doivent être aliquotés et congelés à -20°C ou à des températures inférieures.** Si les échantillons ont été congelés, attendre qu'ils soient complètement décongelés et les homogénéiser avant le dosage. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés 4 fois. Les congélateurs dotés d'une fonction de dégivrage automatique ne sont pas recommandés pour la conservation des échantillons.

Le volume minimum requis pour réaliser un test sur l'automate d'immunoanalyse est de 225 µL par échantillon [75 µL d'échantillon à tester + 150 µL de volume mort (volume restant au fond du tube d'aliquote que l'instrument ne peut aspirer)].

9. ÉTALONS 1 ET 2

Les étalons LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D sont fournis lyophilisés. Reconstituer chaque flacon avec 2,0 mL d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer les flacons pendant 15 minutes à température ambiante puis mélanger délicatement par inversion. Transférer au moins 400 µL (étalonnage en triple) dans un tube à échantillon en verre ou en plastique. Apposer l'étiquette à code-barres appropriée sur le tube et le placer sur l'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer. Étalonner le dosage en respectant les instructions du manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse.

Les étalons LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D sont stables pendant 6 heures à température ambiante sur l'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer ou pendant 14 jours s'ils sont conservés entre 2 et 8°C. Les étalons peuvent également être aliquotés en un volume minimum de 400 µL et être conservés congelés à -20°C. Les étalons restent stables jusqu'à 4 cycles de congélation/décongélation. **Après un cycle de congélation/décongélation, mélanger délicatement par inversion avant utilisation.**

Les numéros de lot des étalons et du réactif Integral sont spécifiques au lot. Ne pas utiliser des étalons qui correspondent à un lot de réactif différent dans le même dosage.

10. ÉTALONNAGE

Les réactifs Integral LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D individuels contiennent des informations spécifiques pour l'étalonnage du lot de réactif Integral particulier. Le test des étalons spécifiques au dosage permet aux valeurs de RLU (unités relatives de luminescence) détectées d'ajuster la courbe maîtresse attribuée. Chaque flacon d'étalon permet d'effectuer 5 étalonnages. Le ré-étalonnage en triplets est obligatoire lorsque se vérifie au moins 1 des conditions suivantes :

- Un nouveau lot de réactif Integral ou de réactif Starter est utilisé.
- L'étalonnage précédent a été exécuté plus de 14 jours auparavant.
- Les résultats du contrôle de qualité sont en dehors des plages attendues.
- L'automate d'immunoanalyse a subi un entretien.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse pour obtenir des renseignements sur l'étalonnage.

Plage de mesure : L'intervalle de mesure du dosage LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D est compris entre 5,0 et 200 pg/mL.

La valeur la plus faible pouvant être rapportée est de 5,0 pg/mL. Les valeurs inférieures à 5,0 pg/mL doivent être reportées comme < 5,0 pg/mL. La valeur sans dilution la plus élevée pouvant être reportée est de 200 pg/mL.

Les échantillons qui sont au-dessus de la plage de mesure du dosage peuvent être dilués avec le diluant LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D Diluent ([REF] 310982) et testés à nouveau.

Dilution suggérée : 1 partie d'échantillon et 2 parties de diluant d'échantillon.

11. PROCÉDURE DE DOSAGE

Afin de garantir les bonnes performances du dosage, respecter scrupuleusement les instructions d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer.

Automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les informations codées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, étiquette RFID) du réactif Integral. Si l'étiquette RFID ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Integral. Ne pas jeter le réactif Integral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions. Se reporter au manuel de l'opérateur de l'automate d'immunoanalyse pour obtenir des renseignements détaillés.

L'automate d'immunoanalyse exécute les opérations suivantes :

1. Distribution du tampon de dosage et du TCEP.
2. Distribution des étalons, des contrôles ou des échantillons.
3. Distribution de l'agent de liaison.
4. Incubation.
5. Distribution des particules magnétiques revêtues.
6. Incubation.
7. Lavage avec la solution de lavage/liquide système.
8. Distribution du conjugué.
9. Incubation.
10. Lavage avec la solution de lavage/liquide système.
11. Ajout des réactifs Starter et mesure de la lumière émise.

12. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est nécessaire d'effectuer un contrôle de qualité une fois par jour d'utilisation ou conformément aux directives ou exigences des réglementations locales ou des organismes accrédités. Pour de plus amples informations sur les pratiques de contrôle de qualité appropriées, il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI C24-A3 et 42 CFR 493.1256 (c).

La trousse de contrôles LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D Control Set ([REF] 310981) est conçue pour détecter toute détérioration significative des réactifs. Les contrôles LIAISON® sont à analyser en simple pour évaluer la performance du test. Le test est valide si les valeurs des contrôles sont comprises dans les limites attendues indiquées sur le certificat d'analyse. Si les valeurs des contrôles se situent en dehors des limites attendues, le test est non valide et les résultats des patients ne peuvent pas être reportés. Un étalonnage du dosage doit être réalisé en cas de défaillance des contrôles, et les contrôles et les échantillons doivent être testés de nouveau.

La performance d'autres contrôles doit être évaluée afin de s'assurer de leur compatibilité avec ce dosage avant utilisation. Il est donc essentiel d'établir les intervalles de valeurs appropriés pour le matériel de contrôle de qualité employé.

L'intervalle des concentrations pour chaque contrôle est imprimé sur le certificat d'analyse et indique les limites définies par DiaSorin pour les valeurs des contrôles pouvant être obtenues par des tests fiables.

13. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL Analyzer calcule automatiquement la concentration en 1,25 (OH)₂ D présente dans les échantillons. Celle-ci est exprimée en pg/mL. Pour convertir les résultats en unités SI : pg/mL x 2,4 = pmol/L.

14. LIMITES DU DOSAGE

1. Les résultats des tests doivent être utilisés en association avec d'autres données cliniques et de laboratoire afin d'orienter le clinicien dans ses décisions de prise en charge des patients au cas par cas.
2. Afin d'obtenir des résultats fiables, il convient de suivre strictement le mode opératoire et d'effectuer les manipulations de façon appropriée.
3. Les échantillons fortement hémolysés, ictériques ou lipémiques, ainsi que ceux contenant du matériel en suspension ou présentant une contamination microbienne évidente, ne sont pas recommandés et ne doivent pas être testés.
4. Une contamination bactérienne des échantillons peut affecter les résultats du test.
5. Ne pas inactiver le sérum ou le plasma par la chaleur.
6. Des anticorps hétérophiles présents dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines contenues dans les réactifs et ainsi interférer avec les dosages immunologiques *in vitro*. Les patients régulièrement exposés à des animaux ou à des produits du sérum d'origine animale peuvent être sensibles à cette interférence et des valeurs anormales peuvent être observées.

15. VALEURS ATTENDUES

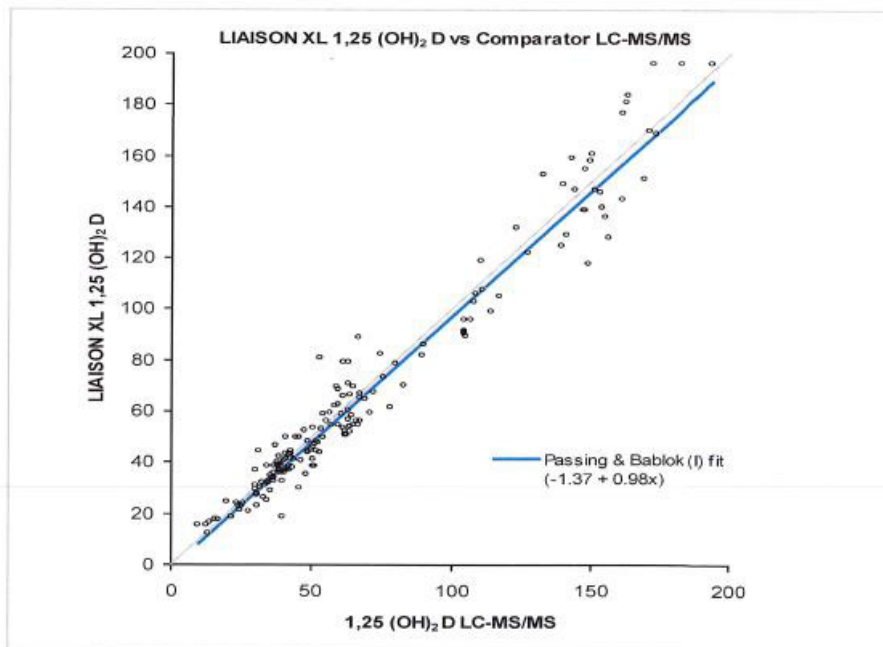
Chaque laboratoire doit établir sa propre plage de valeurs attendues. Afin d'évaluer la plage de référence attendue du dosage LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D, une étude a été réalisée avec des échantillons prélevés chez 123 adultes apparemment en bonne santé, âgés de 21 à 75 ans et issus de groupes ethniques mixtes (48,8% d'individus à la peau sombre et 52% à la peau claire). Les échantillons ont été collectés en hiver (48,8%) et en été (51,2%) chez des sujets vivant dans les régions du nord, du centre et du sud des États-Unis, et présentant des valeurs normales du calcium total, de la TSH et de la PTH. En se basant sur l'intervalle de confiance à 95%, les valeurs suivantes ont été établies d'après la directive CLSI EP28-A3C.

Sujets américains	1,25 (OH) ₂ D médiane	Intervalle observé 2,5 ^e au 97,5 ^e percentile
n = 123	47,8 pg/mL	19,9 – 79,3 pg/mL

16. CARACTÉRISTIQUES DU DOSAGE

16.1 Comparaison des méthodes/corrélation entre patients :

Un total de 173 échantillons couvrant l'intervalle de dosage ont été testés avec le dosage LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D et un dosage de comparaison par LC-MS/MS conformément à la directive CLSI EP9-A3. L'étude a permis d'obtenir l'analyse de régression de Passing et Bablok suivante :
LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D = $0,9811x - 1,37$; $R^2 = 0,9588$



16.2 Précision

2 lots de trousse de contrôles et 6 échantillons de sérum couvrant l'intervalle du dosage ont été testés deux fois par jour en double, sur 20 jours, et en utilisant 2 lots de réactifs sur 2 automates LIAISON[®] XL Analyzers à DiaSorin Inc. Les tests ont été réalisés conformément à la directive CLSI EP5-A2.

ID échantillon	n	1,25 (OH) ₂ D moyenne (pg/mL)	Inter-lots		Total (parmi les lots)	
			EC	% CV	EC	% CV
Trousse de contrôle 1	160	30,9	0,84	2,7%	1,16	3,8%
Trousse de contrôle 2	160	122,9	6,09	5,0%	4,36	3,6%
Sérum de précision 1	160	23,3	0,05	0,2%	1,53	6,6%
Sérum de précision 2	160	38,9	0,63	1,6%	2,20	5,7%
Sérum de précision 3	160	52,7	0,64	1,2%	2,65	5,0%
Sérum de précision 4	160	76,0	1,33	1,7%	3,13	4,1%
Sérum de précision 5	160	137,4	1,91	1,4%	6,55	4,8%
Sérum de précision 6	160	193,4	5,53	2,9%	11,34	5,9%

16.3 LoB - Limite de blanc

En suivant la méthode de la directive CLSI EP17-A2, la limite de blanc du dosage LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D est $\leq 0,35$ pg/mL.

Limite de blanc, ou la valeur la plus élevée susceptible d'être observée avec un échantillon ne contenant aucun analyte, remplace le terme « sensibilité analytique ».

16.4 LoD - Limite de détection

En suivant la méthode de la directive CLSI EP17-A2, la limite de détection du dosage LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D est de 0,70 pg/mL.

16.5 LoQ - Limite de quantification

En suivant la méthode de la directive CLSI EP17-A2, la limite de quantification du dosage LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D est de 5,0 pg/mL.

16.6 Linéarité

1 pool d'échantillons de chaque type (sérum, sérum SST, plasma EDTA et plasma héparine de lithium) a été dilué et analysé avec le dosage LIAISON[®] XL 1,25 Dihydroxyvitamin D conformément à la directive CLSI EP6-A. Les résultats ont été analysés par une régression de la concentration en 1,25 (OH)₂ D observée par rapport à la concentration en 1,25 (OH)₂ D attendue.

Les équations obtenues pour chaque type d'échantillon sont les suivantes :

Sérum : 1,25 (OH)₂ D observée = 1,014x - 1,936; R² = 0,9829

Sérum SST : 1,25 (OH)₂ D observée = 1,028x + 0,2179; R² = 0,9874

Plasma EDTA : 1,25 (OH)₂ D observée = 1,02x + 4,807; R² = 0,9565

Plasma héparine de lithium : 1,25 (OH)₂ D observée = 1,023x - 2,441; R² = 0,9925

16.7 Récupération

5 échantillons de sérum à haute concentration et 5 échantillons de sérum à basse concentration ont été analysés purs. Les échantillons de récupération ont ensuite été préparés en mélangeant, selon des rapports définis, les échantillons à haute et à basse concentration et en les analysant par groupes de 5 réplicats. Les résultats moyens des 5 réplicats sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Échantillons	Concentration définie	Attendue (pg/mL)	Observée (pg/mL)	% de récupération
Échantillon à haute conc. 1 (HS1) 2 HS1 : 1 LS1 1 HS1 : 1 LS1 1 HS1 : 2 LS1	177,4	128,0 102,6 77,2	121,0 97,3 73,0	95% 95% 95%
Échantillon à basse conc. 1 (LS1)	27,8			
Échantillon à haute conc. 2 (HS2) 2 HS2 : 1 LS2 1 HS2 : 1 LS2 1 HS2 : 2 LS2	203,6	151,7 125,0 98,2	141,6 115,4 89,8	93% 92% 91%
Échantillon à basse conc. 2 (LS2)	46,3			
Échantillon à haute conc. 3 (HS3) 2 HS3 : 1 LS3 1 HS3 : 1 LS3 1 HS3 : 2 LS3	181,6	134,2 109,8 85,4	127,0 101,8 81,7	95% 93% 96%
Échantillon à basse conc. 3 (LS3)	38,0			
Échantillon à haute conc. 4 (HS4) 2 HS4 : 1 LS4 1 HS4 : 1 LS4 1 HS4 : 2 LS4	201,6	143,0 112,9 82,7	137,6 105,4 77,4	96% 93% 94%
Échantillon à basse conc. 4 (LS4)	24,2			
Échantillon à haute conc. 5 (HS5) 2 HS5 : 1 LS5 1 HS5 : 1 LS5 1 HS5 : 2 LS5	223,8	158,3 124,6 90,8	148,4 111,8 85,1	94% 90% 94%
Échantillon à basse conc. 5 (LS5)	25,3			
		Récupération moyenne		94%

16.8 Substances interférentes

Des études contrôlées portant sur la présence de substances potentiellement interférentes dans du sérum à deux concentrations de 1,25 (OH)₂ - D (20 et 60 pg/mL) n'ont montré aucune interférence avec le dosage LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D à la concentration la plus élevée de chaque substance listée ci-dessous. Le test était basé sur la directive CLSI EP7-A2.

Médicament/substance	Concentration testée
Hémoglobine	300 mg/dL
Bilirubine (conjuguée)	40 mg/dL
Bilirubine (non conjuguée)	40 mg/dL
Triglycérides	3 000 mg/dL
Cholestérol	400 mg/dL
Albumine	12 g/dL
Acide urique	20 mg/dL
HAMA	3774 ng/mL
Facteur rhumatoïde	7310 IU/mL
Acétaminophène	20 mg/dL
Acide acétylsalicylique	65 mg/dL
Acide salicylique	60 mg/dL
Ibuprofène	50 mg/dL
Biotine	0,1 mg/dL
Acide ascorbique	6 mg/dL
Métoprolol	1,2 mg/dL
Hydrochlorure de propranolol	0,23 mg/dL
Hydrochlorothiazide (HCTZ)	0,6 mg/dL
Furosémide	6 mg/dL
Acide valproïque	57,6 mg/dL
Spirolactone	0,6 µg/mL
Nifédipine	43 µg/dL
Vérapamil	216 µg/dL
Losartan potassique	2,25 µg/mL
Valsartan	11 µg/mL
Tétracycline	15,1 µg/mL
Énalapril	42,4 µg/dL
Doxycycline	34,6 µg/mL
Lisinopril	32,7 µg/dL

16.9 Réactions croisées

Des études de contrôle portant sur des substances ayant un potentiel de réaction croisée ont été réalisées avec le dosage LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D aux concentrations listées ci-dessous. Le test était basé sur la directive CLSI EP7-A2.

Substance ayant un potentiel de réaction croisée	Concentration dopée	% de réactivité croisée
1,25 (OH) ₂ D ₃	100 pg/mL	100%
1,25 (OH) ₂ D ₂	100 pg/mL	104%
Zemplar	100 pg/mL	113%
25(OH)D ₃	100000 pg/mL	<0,1%
25(OH)D ₂	50000 pg/mL	<0,1%
24,25 (OH) ₂ D ₃	50000 pg/mL	<0,1%
25,26 (OH) ₂ D ₃	50000 pg/mL	<0,1%
3-épi 25 (OH)D ₃	50000 pg/mL	<0,1%
Vitamine D ₂	50000 pg/mL	<0,1%
Vitamine D ₃	50000 pg/mL	<0,1%
Sensipar	50000 pg/mL	<0,1%

16.10 Effet crochet aux doses élevées

Aucun effet crochet aux doses élevées n'a été observé pour des concentrations de 1,25 dihydroxyvitamine D allant jusqu'à 5000 pg/mL.

17. Références

1. Haddad, J.G. and T.C.B. Stamp, "Circulating 25-Hydroxyvitamin D in Man" American Journal of Medicine, 57: 57, (1974).
2. Holick, M.F., "The Cutaneous Photosynthesis of Previtamin D₃: A Unique Photoendocrine System," Journal of Investigative Dermatology, 76: 51, (1981).
3. Harrison, J.E., A.J.W. Hitchman, G. Jones, C.S. Tam and J.N.M. Heersche, "Plasma Vitamin D Metabolite Levels in Phosphorus Deficient Rats During the Development of Vitamin D Deficient Rickets," Metabolism, 31 (11): 1121, (1982).
4. DeLuca, H.F., "The Vitamin D Systems: A View From Basic Science to the Clinic," Clinical Biochemistry, 14: 213, (1981).
5. Norman, A.W. and F.P. Roos, "Vitamin D Seco-Steroids: Unique Molecules with Both Hormone and Possible Membranophilic Properties," Life Science, 24: 759, (1979).
6. DeLuca, H.F. and H.K. Schnoes, "Metabolism and Mechanism of Action of Vitamin D," Annual Reviews Biochemistry, 45: 631, (1976).
7. K/DOQI: Kidney Disease Outcomes Quality Initiative; Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease
8. KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes
9. Aarskog, D., L. Aksnes and T. Markestad, "Effect of Parathyroid Hormone on Vitamin D Metabolism in Osteoporosis," Pediatrics, 68 (1): 109, (1981).
10. Chesney, R.W., "Current Clinical Applications of Vitamin D Metabolite Research," Clinical Orthopedics and Related Research, 161: 285, (1981).
11. Sorensen, O.H., B. Lumholtz, B. Lund, I. Hjelmsstrand, L. Mosekilde, F. Melsen, J.E. Bishop and A.W. Norman, "Acute Effects of Parathyroid Hormone on Vitamin D Metabolism in Patients with the Bone Loss of Aging," Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 54 (6): 1258, (1982).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C24-A3, Vol.19, No.5, Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline - Third Edition
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP28-A3C, Vol.28, No.30; Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP17-A2, Vol.32, No.8, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline June 2012 - Second Edition.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP09-A3, Vol.33, No.11 Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Third Edition
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A2, Vol.24, No.25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP6-A, Vol.23, No.16 Evaluation of Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline - Approved Guideline
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP7-A2, Vol.25, No.27 Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Annexe 3 : Maitrise des risques

MAITRISE DES RISQUES (Echelle de criticité : Fréquence x Gravité x Détectabilité. Chacun côté de 1 à 3, décrite dans SH GTA 06). Indice critique : supérieur à 8.				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ¹	Eléments à maîtriser	Moyens de maitrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité	1x3x3 :9	Formation et information du personnel	<ul style="list-style-type: none"> - Guide des bonnes pratiques d'identification du patient (hôpital Necker) - Chartre d'identification des patients - Conduite à tenir en cas d'erreur d'identification : NE-PBPS-QUAL-PG-001 - Guide des bonnes pratiques d'identification du patient NE-PBPS-QUAL-PG-001-02] - Procédure de fusion des doublons par les admissions : NE-PBPS-INF-MO-005.
	Préparation du patient	1x1x1 : 1	Information des patients et préleveurs	<ul style="list-style-type: none"> - Manuel de prélèvement + Banque d'Information Biologique (BIB) sur l'intranet
	Type de contenants	1x2x1 : 2	Formation des préleveurs	<ul style="list-style-type: none"> - Réunion d'habilitation des préleveurs du service d'endocrinologie.
	Nature et volume de l'échantillon	1x4x1 : 4	Contrôle à réception Natur du prélèvement : sérum++	<ul style="list-style-type: none"> - Conditions préanalytiques des analyses NE-EXPF-PRE-DE-001 - Feuille de demande comportant les conditions de prélèvement et de transport : NE-EXPF-PLUS-DE-071 - Enregistrement de l'heure du prélèvement et de l'heure d'arrivée au laboratoire. - Processus général de réalisation d'un examen de biologie médicale NE-PBPS-QUAL-MO-005 - Transport des échantillons biologiques par pneumatique : NE-PBPS-LOGI-PG-001 - Contrat de maintenance des pneumatiques - Gestion des échantillons biologiques à la réception centralisée des laboratoires : NE-PBPS-PRE-PG-003 - Procédure de Réception et gestion des échantillons biologiques au laboratoire des explorations Fonctionnelles: NE-EXPF-PRE-PG-001 - Procédure de Traitement d'une non-conformité préanalytique : NE-EXPF-PRE-PG-002
	Délai et température avant traitement analytique	3x2x1 : 6	Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	
	Prétraitement : centrifugation, ...	1x1x1 : 1 2x3x1: 6	Conditions de centrifugation Aliquotage des tubes secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Procédure d'entretien des centrifugeuses : NE-PBPS-EHS-PG-029 - Contrôle annuel des centrifugeuses - un seul programme de centrifugation pour tous les tubes. - Formation du personnel aux conditions préanalytiques : Conditions préanalytiques des analyses NE-EXPF-PRE-DE-001 - Questionnaire d'habilitation préanalytique. A la réception des E.F. NE-EXPF-PRE-DE-006
	Interférences	1x3x2: 6	Informations thérapeutiques à obtenir : interférence possible de la vitamine D exogène	Feuille de demande comportant les renseignements thérapeutiques pertinents sous forme de cases à cocher réf FDD

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

MAITRISE DES RISQUES (Echelle de criticité : Fréquence x Gravité x Détectabilité. Chacun côté de 1 à 3, décrite dans SH GTA 06). Indice critique : supérieur à 8.					
5M	Points critiques	Echelle de criticité ¹	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 (-15 à -25°C)	1x2x1: 2	Stabilité des analyses	Instructions de conservation - Conditions préanalytiques des analyses NE-EXPF-PRE-DE-001 - Conservation post analytique des analyses : NE-EXPF-POST-DE-001 - Stabilité des analyses : NE-EXPF-PRE-DE-004 Enregistrements métrologiques - Procédure de gestion des enceintes thermostatées : NE-PBPS-METRO-PG-001 - Conduite à tenir en cas de panne des enceintes thermostatées aux explorations fonctionnelles : NE-EXPF-METRO-PG-001 (de 8h30 à 17h du L au V) - Conservation dans des enceintes thermostatées cartographiées, et équipées avec sonde étalonnée Cofrac, dont les alarmes sont gérées dans le logiciel Océasoft. Relevé manuel par le technicien du lundi au vendredi avant la 1ère ouverture de l'enceinte.	
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (2-8°C)	1x2x1: 2	Métrologie/suivi des enceintes	Exigences / manuel d'utilisation du fournisseur - Respect des spécifications d'installation de l'automate Liaison DIASORIN - Climatisation - Filtres sur les vitres Enregistrements des conditions environnementales - Relevé et suivi de la température de fonctionnement de l'automate par relevé manuel au moment de l'analyse, par sonde Océasoft - Enregistrement et vérification dans le fichier de suivi des contrôles internes : NE-EXPF-PLUS-DE-051	
	Conditions de conservation des CIQ et EEQ avant reconstitution (2-8°C)	1x2x1: 2			
	Exigences environnementales pour le matériel (18-32°C)	1x1x1: 1	Conditions environnementales	Pas de lumière directe Entretien des locaux	- Procédure générale de tri et d'élimination des déchets : NE-PBPS-EHS-PG-007 - Procédure Entretien d'un plan de travail : NE-PBPS-EHS-PG-002
Qualité de l'eau			Non applicable	Non applicable	
Surveillance des dérives	1x3x2: 6	Périodicité des maintenances Maîtrise des équipements (suivi métrologique, raccordement, ...)		Enregistrements des maintenances - Procédure gestion des équipements : NE-PBPS-METRO-PG-006 - Suivi dans Kalilab Traçabilité métrologique, CIQ/EEQ - Procédure de Maîtrise de la qualité des analyses par la gestion des CIQ et EEQ : NE-EXPF-PLUS-PG-003 - Conduite à tenir en cas de mauvais résultat du CIQ : NE-EXPF-PLUS-MO-004 - Fichier de suivi des CIQ : CQ-HORMO-AAAA.xls : NE-EXPF-PLUS-DE-051 - Suivi des performances d'une méthode : NE-EXPF-PLUS-DE-066 - Procédure de Gestion et vérification des fichiers de calculs : NE-PBPS-INF-PG-005 - Procédure de Gestion des contrôles de qualité (CIQ, EEQ, CIL) : NE-PBPS-QUAL-PG-014	
Contamination	1x2x1 : 2	Respect des conditions opératoires du fournisseur		Vérification expérimentale	
Informatique embarquée	1x3x1 : 3	Paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données, ...		- Suivi des versions du logiciel embarqué de l'automate - Enregistrements de dossiers tests pour vérification des connexions - Passage des CQI après changement de version du logiciel - Fiche de suivi des versions de logiciel : NE-EXPF-PLUS-DE-065	

MAITRISE DES RISQUES (Echelle de criticité : Fréquence x Gravité x Détectabilité. Chacun côté de 1 à 3, décrite dans SH GTA 06). Indice critique : supérieur à 8.				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ¹	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 des réactifs	1x2x1 :2	Respect des préconisations du fournisseur Métrologie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiches fournisseur -Vérification de la version de la fiche technique (Suivi dans Kalilab) -Alerte mail organisée par le fournisseur pour toute modification du matériel ou d'un réactif (enregistrement des adresses mail des référents) Traçabilité métrologique (voir plus haut)
	Gestion des stocks	1x3x1 :3	Acceptation à réception des réactifs Gestion des stocks et approvisionnement	- Procédure de gestion des stocks : NE-PBPS-LOGI-PG-004 - Suivi des stocks (entrée – sortie) dans SAP et traçabilité des lots utilisés - Conduite à tenir en cas de rupture de stock ou de panne d'automate NE-EXPF-PLUS-PG-002 -Vérification de la date de péremption et date limite d'utilisation après ouverture
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	1x3x2 : 6	Métrologie des pipettes Respect du mode opératoire de reconstitution (CIQ Probioqual à reconstituer avec de l'eau distillée, aliquotés et conservés à -20°C)	Instructions de reconstitution et de stabilité : - Mode opératoire : Dosage de la 25OH et de la 1 25(OH)2 D sur le Liaison XL: NE-EXPF-AXE P-MO-011 - Fiche technique Liaison 25OH Vit D total Assay : NE-EXPLF- AXE P-DX-018 - Consignes de reconstitution et de conservation des CIQ : NE-EXPF-PLUS-DX-018 - Procédure de gestion des pipettes : NE-PBPS-METRO-PG-011
Méthode	Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, ...)	1x2x1 : 2	Maitrise analytique sur site	- Mode opératoire : Dosage de la 25OH et de la 1 25(OH)2 D sur le Liaison XL: NE-EXPF-AXE P-MO-011 - Fiche technique Liaison 25OH Vit D total Assay : NE-EXPLF- AXE P-DX-018 - Instruction technique : identification d'une interférence : NE-EXPF-PLUS-MO-005 -Tableau des caractéristiques des dosages NE-EXPF-PLUS-DE-030
	Causes d'incertitude de mesure	1x2x1 : 2	Calcul des incertitudes de mesure	Calculs d'incertitude de mesure certifiés dans le logiciel Kalilab®

MAITRISE DES RISQUES (Echelle de criticité : Fréquence x Gravité x Détectabilité. Chacun côté de 1 à 3, décrite dans SH GTA 06). Indice critique : supérieur à 8.				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ¹	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
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	2x3x1 : 6	Formation et évaluation des compétences du personnel, plan de formation Disponibilité du personnel pour assurer le respect de la procédure Connaissance des risques chimiques et biologiques	Enregistrements des compétences du personnel <ul style="list-style-type: none"> - Gestion du personnel non médical (NE-PBPS-CADRE-PG-010) - Parcours d'intégration d'un nouveau personnel médical et paramédical (livret d'accueil du laboratoire de Biologie : NE-PBPS-QUAL-MO-001) - Parcours de formation du personnel non médical : NE-PBPS-CADRE-DE-009 - Personnel habilité pour la préparation des tubes secondaires ; grille d'habilitation (et réhabilitation) d'un agent de réception, d'un technicien de labo : NE-EXPF-CADRE-DE-004 et NE-EXPF-CADRE-DE-001) - Connaissance des modes opératoires : suivi des attestations de lecture dans Kalilab. - Staff sur le contrôle de qualité au laboratoire (Questionnaire CQI-EEQ : NE-EXPF-PLUS-DE-053) - Matrice des compétences NE-EXPF-PLUS-DE-046 - Suivi du maintien des compétences : NE-EXPF-PLUS-DE-062 - Staff sur le contrôle de qualité au laboratoire - Matrice des compétences : NE-EXPF-PLUS-DE-046 - Planning du personnel non médical : NE-EXPF-CADRE-DE-002 - Fiches de données de sécurité à disposition. - Conduites à tenir face aux risques chimiques et biologiques à disposition (formation sur site ou e-learning (Kaptitude®))

Annexe 4 : Analyse des données de répétabilité

Pour la 25OHD :

Pool bas		Pool haut		Patient 1		Patient 2		Patient 3	
N°	Dosage	N°	Dosage	N°	Dosage	N°	Dosage	N°	Dosage
1	7,59	1	29,5	1	17.3	1	42.1	1	62.2
2	7,29	2	29,4	2	17.1	2	42.9	2	62.7
3	7,4	3	30,2	3	17.9	3	42.9	3	61.8
4	7,48	4	29,9	4	17.4	4	42.6	4	63
5	7,22	5	29,6	5	17.4	5	42.2	5	63.7
6	7,2	6	29,8	6	17.1	6	43.2	6	61.6
7	7,25	7	31	7	17.7	7	43.1	7	63.3
8	7,27	8	31,8	8	16.9	8	43	8	63.3
9	7,12	9	29,9	9	17.4	9	43	9	62.5
10	7,15	10	31,7	10	16.6	10	43.3	10	63.8
11	7,2	11	30,8	11	17.5	11	43.4	11	64.7
12	7,4	12	32,1	12	18.1	12	42.8	12	65.6
13	7,16	13	31	13	17.4	13	43.6	13	64.3
14	7,55	14	32,6	14	17.7	14	44.2	14	64.6
15	7,42	15	32,4	15	16.8	15	43.5	15	62
16	7,29	16	31,5	16	17.1	16	43.6	16	64.7
17	7,13	17	30,3	17	17.2	17	42.2	17	63.3
18	6,94	18	29,7	18	17.1	18	43.4	18	64.7
19	7,29	19	29,4	19	16.9	19	42.7	19	63.6
20	7,23	20	30,1	20	16.9	20	43.7	20	63.1
21	6,92	21	30,3	21	17.2	21	45.1	21	64.2
22	7,39	22	30,7	22	18	22	43.6	22	64.9
23	7,57	23	30,6	23	17.8	23	44	23	63
24	7,07	24	29,1	24	17.8	24	43.3	24	64.3
25	6,57	25	31,4	25	18	25	45.3	25	64.3
26	7,53	26	30,4	26	18.4	26	43.5	26	64.3
27	7,52	27	30,1	27	18.3	27	43.8	27	63.7
28	7,28	28	30,9	28	18.1	28	44.4	28	65.2
29	7,26	29	31,5	29	18.6	29	44.3	29	67.3
30	7,24	30	31,3	30	18.1	30	43.8	30	66.5

REPETABILITE							
-							
Echantillons	Nombrede valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Patient 3 niveau haut	30	63.873	1.315	2.06	3.1	10.000	Conforme
Patient 2 niveau moyen	30	43.407	0.760	1.75	2	10.000	Conforme
Patient 1 niveau bas	30	17.527	0.523	2.98	3.2	8.500	Conforme
pool bas	30	7.264	0.217	2.98	3.8	8.500	Conforme
pool haut	30	30.633	0.946	3.09	1.8	7.600	Conforme

Pour la 1,25OH₂D :

Pool bas				Pool haut			
N° passage	Dosage (pg/ml)	N° passage	Dosage (pg/ml)	N° passage	Dosage (pg/ml)	N° passage	Dosage (pg/ml)
1	33,1	17	35,9	1	62,7	16	63,5
2	33,4	18	34,2	2	61,6	17	60
3	35,6	19	35,9	3	63,9	18	61,1
4	35,9	20	34,5	4	62,1	19	62
5	34,9	21	36,8	5	63,3	20	60,1
6	35	22	36	6	61,9	21	57,7
7	34,4	23	34	7	64,1	22	65,3
8	34,3	24	35	8	63	23	59,5
9	35,6	25	35,5	9	60,3	24	62,3
10	35,8	26	35,1	10	63,8	25	62,2
11	34,2	27	36,9	11	59,3	26	62
12	34,4	28	36,8	12	61,1	27	61,4
13	35,5	29	35,6	13	62,6	28	62,3
14	33	30	37,1	14	63,1	29	58,6
15	34,7	31	35,5	15	63,3	30	62,7
16	36,1						

REPETABILITE							
-							
Echantillons	Nombrede valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Pool bas	31	35.184	1.074	3.05		4.100	Conforme
Pool haut	30	61.893	1.737	2.81		4.200	Conforme

Annexe 5 : Analyse des données de reproductibilité

25OHD

1,25OH₂D

Date	MV10	MV11	MV12	C1	C2	date	MV10	MV11	MV12	C1	C2
03-avr	18,7	48,9	66,9	16,4	51,5	03-avr	44,90	12,8	76,0	26,30	93,10
03-avr	20,4	52,9	74,5	15,4	51,9	03-avr	45,60	12,4	78,4		
05-avr	17,8	49,2	65,7	17,8	53,2	05-avr	46,10	12,7	80,2	25,50	96,50
05-avr	21,2	50,5	68,3			05-avr	49,00	12,5	81,2		
06-avr	18,9	47,4	65,2	16,0	52,6	06-avr	46,40	12,1	77,5	26,70	101,00
06-avr	19,3	50,6	66,2			06-avr	47,50	12,1	75,0		
10-avr	19,6	52,9	77,5	18,2	55,7	10-avr	41,90	12,6	71,7	26,00	97,90
10-avr	19,7	49,3	69,5	17,3	49,6	10-avr	45,20	11,4	76,0	25,90	98,00
12-avr	18,6	47,2	61,2	16,7	50,6	12-avr	45,40	12,1	77,7		101,00
12-avr	18,2	46,7	62,9			12-avr	45,80	10,9	74,2		
13-avr				16,1	49,4	13-avr	43,60	11,8	75,7	23,90	90,60
13-avr	17,4	49,2	65,0			13-avr	45,30	11,8	75,8	24,50	93,10
13-avr	19,4	47,0	67,5			17-avr	47,10	12,8	78,2	23,80	95,00
17-avr	18,6	48,0	66,9	16,8	56,3	17-avr	44,60	12,6	78,9		
17-avr	20,7	52,8	73,0			17-avr	44,50	12,7	77,3		
17-avr	19,7	51,1	72,7	16,3	52,9	19-avr	45,70	13,4	78,2	25,00	95,20
19-avr	18,8	48,1	68,9	16,2	51,4	19-avr	43,70	11,2	73,9		
19-avr	19,1	50,0	69,7			23-avr	44,60	10,9	69,5	25,40	95,70
23-avr	18,3	47,8	63,6	16,2	52,7	23-avr	43,00	11,2	68,4	26,20	96,10
23-avr	19,2	48,1	64,8	16,1	52,4	24-avr	43,40	11,6	75,0	26,00	94,90
24-avr	18,3	47,8	65,5	15,7	50,1	24-avr	42,70	11,7	71,6		
24-avr	18,3	48,8	64,4	15,2	52,1	27-avr	44,20	12,7	75,7	26,00	96,50
27-avr	19,5	52,0	69,4	16,2	57,1	27-avr	44,00	12,4	74,7	27,20	92,00
27-avr	19,4	53,5	75,9	16,6	52,3	02-mai	44,90	12,0	77,3		
02-mai	20,3	51,6	71,6	15,3	51,7	02-mai	44,80	12,6	77,2		
02-mai	17,3	50,6	68,9	17,7	62,0	04-mai	46,10	14,7	82,7	26,80	101,00
03-mai	18,5	48,6	63,3	15,7	52,9	04-mai	42,80	12,6	69,7		
04-mai	17,3	46,5	66,3	15,0	51,3	07-mai	44,30	12,9	78,1	26,50	98,90
04-mai	21,1	54,0	73,4	15,5	51,2	07-mai	43,30	11,5	71,2		
07-mai	18,0	49,7	67,0	17,6	54,2	11-mai	47,80	13,2	78,4	25,90	99,60
07-mai	18,4	49,6	63,8	17,4	54,7	11-mai	44,80	12,3	74,3		
11-mai	19,2	50,8	70,0	16,8	52,2	14-mai	44,90	13,2	76,1	26,40	94,60
11-mai	18,7	50,0	69,6	16,4	54,5	14-mai	43,20	12,0	73,3	25,60	94,50
14-mai	18,5	49,2	67,1	16,3	54,6	15-mai	46,10	12,8	79,6	26,30	99,10
14-mai	19,4	52,2	67,1			15-mai	44,60	12,2	75,9		
15-mai	19,5	52,3	73,7	16,2	51,9	16-mai	45,50	12,3	78,4	26,20	96,50
15-mai	20,1	52,0	67,4	17,5	55,5	16-mai	45,00	11,6	75,5		
16-mai	18,2	51,8	68,4	17,6	55,9	17-mai	44,40	11,6	73,9	27,70	99,80
16-mai	19,0	47,5	67,3	17,3	49,8	17-mai	46,40	11,9	71,3	27,70	100,00
16-mai	18,8	52,6	71,1			18-mai	44,50	12,2	77,6	26,30	97,00
17-mai	18,6	48,9	66,4	15,3	51,7	18-mai	45,00	12,1	76,7		
17-mai	18,6	50,9	69,2			22-mai	48,40	12,5	76,9	27,50	100,00
18-mai	17,8	50,0	72,5	16,4	52,2	22-mai	46,10	12,2	78,4		
18-mai	19,1	51,8	67,1	17,6	53,1	23-mai	47,90	12,4	76,3	26,30	98,70
22-mai			64,7			23-mai	40,40	10,1	65,5	26,10	99,70

FIDELITE INTERMEDIAIRE - réévaluation du 06-09-2018							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Niveau Moyen C2	44	33.345	2.707	8.07	6.4	10.500	Conforme
Niveau Bas MV10	56	19.102	1.054	5.52	7.3	15.000	Conforme
Niveau Bas C1	44	16.682	0.972	5.83	8.9	15.000	Conforme
Niveau Haut MV12	57	88.532	3.740	4.24	6.4	10.500	Conforme
Niveau Moyen MV11	56	30.196	2.286	7.55	6	10.500	Conforme

FIDELITE INTERMEDIAIRE - réévaluation du 06-09-2018							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Niveau Moyen MV10	55	45.213	1.643	3.63	6.7	4.200	Conforme
Niveau Bas MV11	55	12.189	0.731	5.99	6.6	3.800	Conforme
Niveau Haut MV12	55	75.342	3.440	4.57	4.1	7.200	Conforme
Niveau Bas C1	33	26.494	1.255	4.78	6.6	3.800	Conforme
Niveau Haut C2	34	97.468	2.921	3.00	3.6	3.800	Conforme

Annexe 6 : Analyse des données de justesse

Pour la 25OHD :

date	MV10	MV11	MV12	C1	C2	date	MV10	MV11	MV12	C1	C2
18-déc	19,9	57,8	70,1	18,0	61,6	02-mars	19,7	52,5	71,2	16,4	54,6
19-déc	19,1	56,3	69,4	16,5	53,1	02-mars	19,6	54,9	69,3		
20-déc	20,8	57,7	73,5	16,7	54,3	07-mars	19,6	53,9	71,7	15,0	50,7
21-déc	20,9	57,5	77,7	17,4	62,6	07-mars	20,0	54,2	69,8	17,5	57,0
22-déc	21,0	59,1	79,5	16,5	57,8	08-mars	19,4	52,3	67,7	16,4	56,2
27-déc	19,7	53,8	68,2	18,0	58,7	08-mars	19,0	52,7	70,4	18,1	57,0
28-déc	20,6	59,0	78,5	18,8	61,4	09-mars	20,6	55,5	65,2	15,1	48,2
29-déc	21,7	58,0	78,4	17,5	60,7	09-mars	19,1	49,4	65,5	14,9	53,3
04-janv	18,7	56,2	79,5	16,5	57,1	12-mars	19,3	52,8	67,2	16,4	53,3
05-janv	19,8	53,9	71,9	17,5	56,9	12-mars	19,1	53,0	64,2	17,0	54,3
08-janv	18,9	55,1	74,4	15,4	51,7	13-mars	17,4	49,5	59,3	16,5	50,7
09-janv	18,8	53,7	72,2	16,7	56,1	14-mars	18,8	52,1	67,6	18,0	54,8
10-janv	19,4		65,5	16,4	55,2	14-mars	20,6	57,0	71,6		
11-janv	19,1	54,5	69,3	19,1	58,2	15-mars	18,4	52,6	66,3	16,4	56,1
12-janv	17,0	51,0	66,5	15,9	54,3	15-mars	20,0	55,2	69,9		
15-janv	20,2	59,5	76,5	16,2	55,4	16-mars	19,0	53,3	69,2	16,5	54,9
17-janv	19,4	57,8	74,3	17,5	61,3	16-mars	20,6	57,4	77,5	16,5	57,9
18-janv	19,9	57,6	72,9	16,4	59,5	19-mars	20,0	55,8	71,8	17,8	57,5
19-janv	18,6	53,6	71,0	16,4	55,7	19-mars	20,7	58,5	70,1	17,8	58,4
22-janv	19,5	56,0	71,5	16,0	58,1	20-mars	22,0	61,6	76,8	16,2	55,0
23-janv	19,1	54,3	72,4	16,6	54,7	20-mars	21,1	61,6	78,9		
24-janv	19,7	51,5	66,4	16,7	53,9	21-mars	19,0	53,1	68,5	17,0	57,3
24-janv	20,3	56,1	74,7			21-mars	18,6	55,3	67,6		
25-janv	20,5	55,2	72,5	15,3	48,0	22-mars	19,4	54,8	65,5	17,8	58,4
25-janv	19,0	51,3	65,9	16,5	52,1	22-mars	18,9	54,6	69,3		
29-janv	20,0	54,4	72,9	17,1	58,7	23-mars	19,9	51,0	68,7	16,1	51,6
29-janv	21,1	56,8	75,7	17,5	56,2	23-mars	18,2	46,7	61,9	17,7	57,3
31-janv	21,1	58,5	74,6	17,9	60,2	26-mars	19,9	50,3	67,4	17,6	53,1
31-janv	21,2	55,9	73,5	18,3	58,0	26-mars	20,1	52,3	69,2		
02-févr	19,4	50,7	65,6	16,1	52,8	27-mars	19,9	50,0	67,0	17,6	50,4
02-févr	19,5	52,7	63,7	16,9	51,3	27-mars	19,5	46,9	70,4	17,6	57,2
07-févr	20,3	55,2	71,6	16,8	58,9	28-mars	18,7	51,7	68,4	16,3	51,8
07-févr	20,7	57,0	76,8	18,1	59,0	28-mars	21,1	55,1	72,7	17,0	53,9
09-févr	20,3	57,4	77,3	18,1	59,6	29-mars	19,5	49,7	69,5	16,9	53,5
09-févr	21,7	57,9	73,5	17,3	59,1	29-mars	18,8	49,0	67,9		
13-févr	20,9	54,6	73,6	18,8	57,7	03-avr	18,7	48,9	66,9	16,4	51,5
13-févr	20,9	60,0	73,9			03-avr	20,4	52,9	74,5	15,4	51,9
14-févr	18,1	50,5	65,6	16,3	53,2	05-avr	17,8	49,2	65,7	17,8	53,2
14-févr	19,7	52,7	68,3			05-avr	21,2	50,5	68,3		
15-févr	20,5	53,7	67,5	17,7	53,3	06-avr	18,9	47,4	65,2	16,0	52,6
15-févr	18,9	52,3	79,0			06-avr	19,3	50,6	66,2		
21-févr	21,7	58,4	81,1	15,1	53,7	10-avr	19,6	52,9	77,5	18,2	55,7
21-févr	18,4	51,6	65,1			10-avr	19,7	49,3	69,5	17,3	49,6
23-févr	19,6	54,9	69,7	15,2	48,2	12-avr	18,6	47,2	61,2	16,7	50,6
23-févr	17,0	46,2	61,3	17,5	55,3	12-avr	18,2	46,7	62,9		
27-févr	22,2	49,3	62,8	16,8	52,6	13-avr				16,1	49,4
27-févr	20,0					13-avr	17,4	49,2	65,0		
27-févr	23,3	60,7	81,4			13-avr	19,4	47,0	67,5		
01-mars	19,0	49,9	70,8	17,6	58,0	17-avr	18,6	48,0	66,9	16,8	56,3
01-mars	17,7	50,8	68,7			17-avr	20,7	52,8	73,0		

date	MV10	MV11	MV12	C1	C2
17-avr	19,7	51,1	72,7	16,3	52,9
19-avr	18,8	48,1	68,9	16,2	51,4
19-avr	19,1	50,0	69,7		
23-avr	18,3	47,8	63,6	16,2	52,7
23-avr	19,2	48,1	64,8	16,1	52,4
24-avr	18,3	47,8	65,5	15,7	50,1
24-avr	18,3	48,8	64,4	15,2	52,1
27-avr	19,5	52,0	69,4	16,2	57,1
27-avr	19,4	53,5	75,9	16,6	52,3
02-mai	20,3	51,6	71,6	15,3	51,7
02-mai	17,3	50,6	68,9	17,7	62,0
03-mai	18,5	48,6	63,3	15,7	52,9
04-mai	17,3	46,5	66,3	15,0	51,3
04-mai	21,1	54,0	73,4	15,5	51,2
07-mai	18,0	49,7	67,0	17,6	54,2
07-mai	18,4	49,6	63,8	17,4	54,7
11-mai	19,2	50,8	70,0	16,8	52,2
11-mai	18,7	50,0	69,6	16,4	54,5
14-mai	18,5	49,2	67,1	16,3	54,6
14-mai	19,4	52,2	67,1		
15-mai	19,5	52,3	73,7	16,2	51,9
15-mai	20,1	52,0	67,4	17,5	55,5
16-mai	18,2	51,8	68,4	17,6	55,9
16-mai	19,0	47,5	67,3	17,3	49,8
16-mai	18,8	52,6	71,1		
17-mai	18,6	48,9	66,4	15,3	51,7
17-mai	18,6	50,9	69,2		
18-mai	17,8	50,0	72,5	16,4	52,2
18-mai	19,1	51,8	67,1	17,6	53,1
22-mai			64,7		
22-mai	19,3	50,0	65,8	17,1	54
22-mai	21,7	56,4	74,0	18,2	56,5
23-mai	18,3	49,5	68,8	16,9	53,8
23-mai	20,3	52,1	67,9		
24-mai	18,8	51,1	69,3	18,6	61,6
24-mai	21,6	54,4	76,3	18,3	55,4
28-mai	20,2	46,6	67,7	16,3	52,7
28-mai	17,9	49,4	65,3		
28-mai	21,3	55,6	76,0	18,3	55
30-mai	19,3	50,1	72,7	17,4	54,7
30-mai	18,7	48,7	70,3	17,1	52,6
31-mai	18,7	48,4	66,9	15	49,7
31-mai	18,1	48,3	64,2		
01-juin	18,0	49,4	68,6	16,4	51,6
01-juin	18,1	48,4	68,5	17,2	53,6
05-juin	18,2	50,3	69,3	17	55,8
05-juin	21,3	55,4	77,5		
07-juin	23,2	59,7	77,9	14,4	59,3
07-juin	19,8	52,4	70,3	18,2	62,1
07-juin	20,8	54,3	76,3		
11-juin	19,1	48,8	70,7	16,4	53,3
11-juin	20,0	50,6	71,2	17,3	53,9
14-juin	19,2	49,3	71,6	20	64,6
14-juin	22,4	58,8	82,7	17,1	54,2
15-juin	22,0	55,8	81,4	19,7	63,4
15-juin	18,5	50,2	67,7	16,7	52,9
15-juin	20,4	52,8	75,8		

date	MV10	MV11	MV12	C1	C2
19-juin	16,7	45,0	63,6	16,4	47
20-juin	17,1	43,6	59,3	15,8	48,2
20-juin	16,9	46,8	61,7	17,2	48,5
20-juin	20,6	51,7			
20-juin	18,4	47,6	63,8		
21-juin	16,8	47,7	64,1	17,4	57,8
21-juin	23,3	54,7	76,2	15,4	47,7
25-juin	20,9	51,0	75,6	17,2	59,2
25-juin	18,2	45,5	63,7	16,5	51,3
25-juin	19,5	51,2	67,3		
27-juin	17,3	43,8	61,6	16,5	51
27-juin	16,8	42,9	63,4	15,6	50
27-juin	17,8	45,0	67,2	15,7	49,4
27-juin	19,8	53,0	74,7		
28-juin	17,3	49,1	65,0	15,4	52,1
29-juin	18,8	50,0	72,2	15,1	51,7
29-juin	19,7	50,7	74,9	16,2	51,3
02-juil	18,1	46,5	66,5	16,8	54,2
02-juil	18,1	50,5	70,4		
03-juil	18,9	49,1	65,8	16,9	51,2
03-juil	20,2	51,6	71,7	17,4	50,7
04-juil	15,8	41,5	54,6	15,7	50,8
05-juil	18,1	45,1	60,4	16,7	53,7
05-juil	16,9	44,5	63,7	16,7	52,9
06-juil	18,0	49,7	63,5	16,8	50,1
06-juil	16,4	44,5	62,4	16,3	49
				16,6	50,3
10-juil	19,6	51,1	67,9	17,2	52,5
10-juil	18,8	47,7	65,3	17,6	55,2
11-juil	17,3	46,3	63,5	15,7	49,1
11-juil				15,2	49,9
11-juil	18,0	48,2	66,4	16,3	51,1
11-juil	18,8	51,6	67,6	15,8	52
12-juil	18,1	49,3	68,0	16,3	54,5
12-juil	19,8	54,2	74,2		
17-juil	19,2	50,8	69,3	16,4	50,7
17-juil	20,0	49,2	69,0	17,8	55,5
17-juil	20,2	49,8	68,6		
19-juil	19,0	48,1	71,5	15,4	53,5
19-juil	19,0	50,8	66,3	17,9	54,2
24-juil	18,9	47,3	62,0	15,2	48,2
24-juil	18,9	46,9	64,7	15,8	51,9
27-juil	19,5	49,8	68,0	18	58,5
27-juil	20,7	52,3	73,8		
31-juil	18,4	48,6	67,2	17,8	51,3
31-juil	19,5	51,1	67,3		
02-août	19,0	47,9	64,2	18,5	55,8
02-août	20,2	52,9	72,6	18,1	55,5
07-août	19,8	51,6	66,6	18,7	54,9
07-août	18,3	47,3	62,0	17,5	53,3
09-août	17,3	48,6	64,4	17	53,3
09-août	19,9	52,6	67,6		
16-août	17,5	44,3	61,5	17,4	50,6
16-août	18,2	46,0	61,5	17,3	53,1
20-août	18,7	48,1	58,1	14,7	44,7
20-août	17,9	46,7	61,6	14,7	46,8
22-août	17,5	44,5	61,2	15,2	48,9
22-août	19,1	51,7	67,5	17,6	53,7
24-août	17,6	49,6	65,6	17,7	53,3

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paires)	Biais (%) / groupe de paires	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) moyenne générale	Biais (%) limite	Conclusion
Niveau Moyen MV11	196	51.713	51.52	0.375	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Bas MV10	196	19.342	18.85	2.612	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Haut MV12	196	69.497	69.06	0.633	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Bas C1	173	16.793	18.8	-10.675	0	0.000	35.000	Conforme
Niveau Moyen C2	173	54.050	51.4	-11.971	0	0.000	35.000	Conforme

Pour la 1,25OH₂D :

date	MV10	MV11	MV12	C1	C2	date	MV10	MV11	MV12	C1	C2
18-déc	43,90	9,4	63,7	30,80	115,00	12-mars	47,20	13,5	78,0	27,12	100,00
19-déc	43,90	10,0	66,9	31,70	119,00	12-mars	44,40	12,8	78,2		
20-déc	40,90	9,5	54,4	31,70	123,00	14-mars	46,90	14,0	74,4	25,60	97,60
21-déc	40,30	9,3	59,0			14-mars	45,80	14,4	74,1		
22-déc		8,7	59,0			15-mars	46,60	14,1	77,7		
27-déc	46,20	10,2	67,4			15-mars	44,40	13,3	73,8	26,40	100,00
28-déc	43,00	9,8	65,1			16-mars	44,50	14,4	74,5	26,60	97,30
29-déc	44,90	9,8	64,3			16-mars		14,7	77,2	28,30	101,00
04-janv	42,40	10,3	63,3			19-mars	45,00	13,4	79,6	25,90	94,60
05-janv	44,40	10,6	73,3			19-mars		12,4	72,7		
08-janv	50,10	11,7	83,4			20-mars	47,10	13,1	78,7	27,50	95,00
09-janv	46,00	11,2	74,1			20-mars		12,8	73,2	27,10	98,10
10-janv	42,30	9,6	65,5			21-mars	47,00	14,7	80,8	25,80	102,00
11-janv	45,90	10,3	70,5			21-mars	43,80	12,4	74,8	27,20	96,30
12-janv	45,90	10,0	67,2			22-mars	45,40	13,6	77,0	26,80	98,20
15-janv	43,30	10,2	60,0			22-mars	46,40	13,7	77,6		
17-janv	42,30	9,3	63,7			23-mars	44,60	13,9	77,0	26,20	93,80
18-janv	41,00	9,4	62,8			23-mars	45,10	13,2	76,6		
19-janv	42,90	9,1	59,2			26-mars	41,70	12,5	70,5	27,40	96,80
22-janv	42,30	8,9	58,3	31,60	122,00	26-mars	40,50	11,9	69,1		
23-janv	43,00	9,1	58,6	32,80	117,00	27-mars	42,80	13,5	71,9	26,10	95,40
24-janv	42,70	8,8	58,1	30,70	117,00	27-mars	41,00	11,8	70,6		
24-janv	43,30	9,1	62,5	33,90	128,00	28-mars	42,90	11,8	73,2		
25-janv	42,30	10,0	64,0	33,00	122,00	28-mars	43,70	11,5	72,2		
25-janv	44,90	9,4	64,0	32,50	124,00	29-mars	41,20	12,6	75,7	27,30	94,30
29-janv	44,10	10,0	68,5	32,30	127,00	29-mars	44,70	13,2	70,3		
29-janv	42,00	9,3	62,1	32,80	125,00	03-avr	44,90	12,8	76,0	25,20	95,40
31-janv	38,50	8,2	55,0	32,00	125,00	03-avr	45,60	12,4	78,4		
31-janv	39,90	9,0	62,6	30,30	120,00	05-avr	46,10	12,7	80,2	26,00	98,30
01-févr	40,70	9,3	61,1	29,90	121,00	05-avr	49,00	12,5	81,2		
01-févr	39,80	9,5	63,5	31,60	123,00	06-avr	46,40	12,1	77,5	26,00	96,60
				31,30	121,00	06-avr	47,50	12,1	75,0		
02-févr	42,80	9,7	60,6	30,50	121,00	10-avr	41,90	12,6	71,7	25,90	94,50
02-févr	43,60	9,7	61,8	32,60	125,00	10-avr	45,20	11,4	76,0		
07-févr	42,90	10,5	69,9	31,80	117,00	12-avr	45,40	12,1	77,7	25,10	94,40
07-févr	40,40	11,3	64,7	30,20	115,00	12-avr	45,80	10,9	74,2	25,60	95,40
09-févr	41,50	9,6	62,0	31,10	116,00	13-avr	43,60	11,8	75,7	24,60	92,00
09-févr	42,30	9,8	65,5	31,90	117,00	13-avr	45,30	11,8	75,8		
13-févr	40,20	9,3	53,9			17-avr	47,10	12,8	78,2	25,20	94,10
13-févr	39,10	10,0	59,4	30,80	121,00	17-avr	44,60	12,6	78,9		
14-févr	37,70	8,8	57,1			17-avr	44,50	12,7	77,3	26,30	96,10
14-févr	39,20	8,7	60,9	30,70	125,00	19-avr	45,70	13,4	78,2	27,20	98,70
15-févr	40,60	9,0	59,4			19-avr	43,70	11,2	73,9	24,60	91,10
15-févr	40,20	9,2	60,9	29,10	114,00	23-avr	44,60	10,9	69,5		
21-févr	44,60	10,8	65,7	28,90	113,00	23-avr	43,00	11,2	68,4	26,30	93,10

date	MV10	MV11	MV12	C1	C2	date	MV10	MV11	MV12	C1	C2
15-mai	44,60	12,2	75,9			21-juin	41,50	10,0	71,1		
16-mai	45,50	12,3	78,4	25,40	95,70	21-juin	41,70	9,5	64,2		
16-mai	45,00	11,6	75,5	26,20	96,10	25-juin	44,50	10,9	69,1		
17-mai	44,40	11,6	73,9	26,00	94,90	25-juin	42,60	10,1	67,7		
17-mai	46,40	11,9	71,3			27-juin	42,80	11,2	73,7	26,80	101,00
18-mai	44,50	12,2	77,6	26,00	96,50	27-juin	43,20	10,6	67,5	27,70	102,00
18-mai	45,00	12,1	76,7	27,20	92,00	29-juin	42,50	10,8	70,0	29,00	108,00
22-mai	48,40	12,5	76,9	26,80	101,00	29-juin	40,30	10,0	74,9		
22-mai	46,10	12,2	78,4			02-juil	46,00	11,9	81,8	29,90	110,00
23-mai	47,90	12,4	76,3	26,50	98,90	02-juil	43,00	11,0	74,7	30,00	110,00
23-mai	40,40	10,1	65,5			03-juil	47,90	13,7	87,1	24,30	95,60
24-mai	47,80	12,6	78,3	25,90	99,60	03-juil					
24-mai	45,40	10,8	69,8			04-juil	41,70	10,5	69,6		
25-mai	45,60	12,1	74,1	26,40	94,60	04-juil	42,90	10,6	74,2	22,60	87,50
25-mai	45,60	11,9	70,9	25,60	94,50	05-juil	45,00	11,7	70,3	26,40	91,80
28-mai	47,40	11,8	77,4	26,30	99,10	05-juil	43,60	10,6	69,6	24,70	93,30
28-mai	44,90	12,4	73,8			10-juil	43,60	12,2	77,9	24,50	95,90
30-mai	46,60	12,2	78,8	26,20	96,50	10-juil	42,10	10,4	69,3		
30-mai	46,20	12,9	73,1			11-juil	44,20	11,7	74,2	26,00	97,60
31-mai	46,90	12,5	71,4	27,70	99,80	11-juil	44,20	11,4	71,9	25,80	103,00
31-mai	44,90	11,9	71,1	27,70	100,00	12-juil	40,20	10,2	72,0		
01-juin	48,90	12,9	74,1	26,30	97,00	12-juil	35,70	9,1	58,8		
01-juin	48,70	13,1	73,1			17-juil	38,90	9,7	64,6		
05-juin	40,20		60,7	27,50	100,00	17-juil	39,60	8,7	56,5		
05-juin	39,90	10,9	61,9			19-juil	39,60	9,2	57,7		
05-juin	38,60	9,2	58,6	26,30	98,70	19-juil	40,30	9,7	72,0		
07-juin	37,20	9,3	56,0	26,10	99,70	24-juil	40,00	9,1	67,0		
07-juin	38,50	8,9	58,4	28,10	100,00	24-juil	42,20	8,5	69,0		
11-juin	39,10	9,8	63,6			27-juil	45,10	10,5	69,0		
11-juin	42,10	11,7	70,9	27,20	98,10	27-juil	39,90	11,4	77,1		
13-juin	44,70	12,5	76,9			31-juil	47,80	12,6	83,4		
13-juin	46,60	13,6	83,5	28,40	103,00	31-juil	46,20	12,4	80,3		
14-juin	48,00	13,8	82,6	29,50	101,00	02-août	45,80	12,5	82,7		
14-juin	49,20	13,0	84,9	28,10	97,10	02-août	43,60	12,8	81,4		
15-juin	41,10	9,2	62,6			07-août	42,50	12,7	81,0		
15-juin	41,20	9,8	68,2	28,30	98,70	07-août	45,40	12	75,2		
19-juin	38,00	10,2	66,8			09-août	42,60	12	77,1		
19-juin	35,40	8,7	56,7	30,30	107,00	09-août	43,90	11	76,0		
20-juin	45,70	10,2	74,2			16-août	44,60	12	81,5		
20-juin	42,50	9,1	67,5	26,50	97,20	16-août	41,30	12	74,8		
						20-août	44,20	12	80,5		
						20-août	42,40	12	79,7		
						22-août	44,70	12	80		
						22-août	44,10	11	80		
						24-août	46,40	13	80		

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
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
Niveau Moyen MV10	195	43.755	43.17	1.355	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Bas MV11	201	11.431	9.95	14.888	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Haut MV12	202	71.514	63.8	12.091	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Bas C1	107	27.739	26	6.687	0	0.000	30.000	Conforme
Niveau Haut C2	108	103.626	101	2.600	0	0.000	30.000	Conforme

Annexe 7: Analyse des données d'exactitude

Pour la 25OHD :

EXACTITUDE							
Contrôles quantitatifs							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) groupe de pairs	Biais (%) toute technique	Biais (%) limite	Conclusion
Niveau Bas							
17MV01	19.300	19.32	15.37	-0.104	25.569	35.000	Conforme
17MV04 flacon 1	19.700	19.72	15.57	-0.101	26.525	35.000	Conforme
17MV04 flacon 2	20.300	19.72	15.57	2.941	30.379	35.000	Conforme
17MV09 flacon 1	19.000	18.72	16.22	1.496	17.139	35.000	Conforme
17MV09 flacon 2	19.200	18.72	16.22	2.564	18.372	35.000	Conforme
17MV12	19.600	18.5	16.03	5.946	22.271	35.000	Conforme
18 MV01	24.000	23.43	18.74	2.433	28.068	35.000	Conforme
18MV03	29.480	27.96	28	5.436	5.286	25.000	Conforme
18MV04	24.280	23.3	18.85	4.206	28.806	35.000	Conforme
18MV06	27.520	28.02	29.38	-1.784	-6.331	25.000	Conforme
DEQAS 537	19.600	19.64	19.48	-0.204	0.616	25.000	Conforme
DEQAS 538	13.920	13.48	13.56	3.264	2.655	25.000	Conforme
DEQAS 540	25.120	23.84	25.64	5.369	-2.028	25.000	Conforme
DEQAS 516	18.000	18.4	18.92	-2.174	-4.863	25.000	Conforme
DEQAS 517	26.000	27.48	28.2	-5.386	-7.801	25.000	Conforme
DEQAS 519	12.000	12.8	13.24	-6.250	-9.366	25.000	Conforme
DEQAS 521	18.000	17	16.48	5.882	9.223	25.000	Conforme
DEQAS 523	10.000	10.04	10.28	-0.398	-2.724	25.000	Conforme
DEQAS 525	26.000	25.8	24.6	0.775	5.691	25.000	Conforme
DEQAS 527	24.000	22.56	21.08	6.383	13.852	25.000	Conforme
DEQAS 529	11.000	10.04	10.16	9.562	8.268	25.000	Conforme
DEQAS 530	26.000	23.04	23.28	12.847	11.684	25.000	Conforme
DEQAS 531	10.000	10.24	10.84	-2.344	-7.749	25.000	Conforme
DEQAS 532	19.000	19.24	18.88	-1.247	0.636	25.000	Conforme
DEQAS 534	28.000	26.84	26.12	4.322	7.198	25.000	Conforme
Niveau Moyen							
17MV06	53.800	48.72	33.67	10.427	59.786	25.000	Conforme
17MV08	53.000	50.42	33.92	5.117	56.250	25.000	Conforme
17MV10 flacon 1	54.000	50.83	33.8	6.236	59.763	25.000	Conforme
17MV10 flacon 2	53.000	50.83	33.8	4.269	56.805	25.000	Conforme
DEQAS 536	32.000	32.76	32.24	-2.320	-0.744	25.000	Conforme
DEQAS 539	34.520	34.56	34.28	-0.116	0.700	25.000	Conforme
DEQAS 518	43.000	43.56	44.12	-1.286	-2.539	25.000	Conforme
DEQAS 520	42.000	43.6	44	-3.670	-4.545	25.000	Conforme
DEQAS 522	38.000	36.48	35.72	4.167	6.383	25.000	Conforme
DEQAS 524	50.000	49.84	49.92	0.321	0.160	25.000	Conforme
DEQAS 527	44.000	40.52	38.44	8.588	14.464	25.000	Conforme
DEQAS 528	36.000	32.84	30.64	9.622	17.493	25.000	Conforme
DEQAS 533	35.000	34.12	33.36	2.579	4.916	25.000	Conforme
DEQAS 535	56.000	55.32	58.84	1.229	-4.827	25.000	Conforme
Niveau Haut							
17MV02	69.480	68.88	70.88	0.871	-1.975	25.000	Conforme
17MV03 flacon 1	62.400	56.35	33.72	10.736	85.053	25.000	Conforme
17MV03 flacon 2	55.900	56.35	33.72	-0.799	65.777	25.000	Conforme
17MV05	70.100	69.26	70.83	1.213	-1.031	25.000	Conforme
17MV07	73.000	70.44	72.32	3.634	0.940	25.000	Conforme
17MV11 flacon 1	68.900	67.32	72.6	2.347	-5.096	25.000	Conforme
17MV11 flacon 2	68.300	67.32	72.6	1.456	-5.923	25.000	Conforme
18MV02	90.000	84.92	78.76	5.982	14.271	25.000	Conforme
18MV05	85.520	82.36	77.88	3.837	9.810	25.000	Conforme

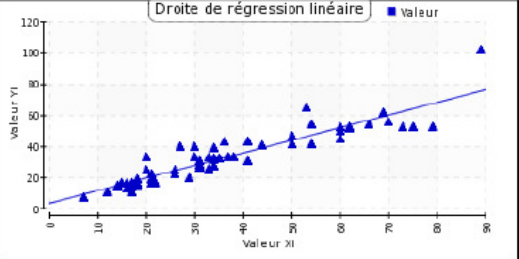
Pour la 1,25OH₂D :

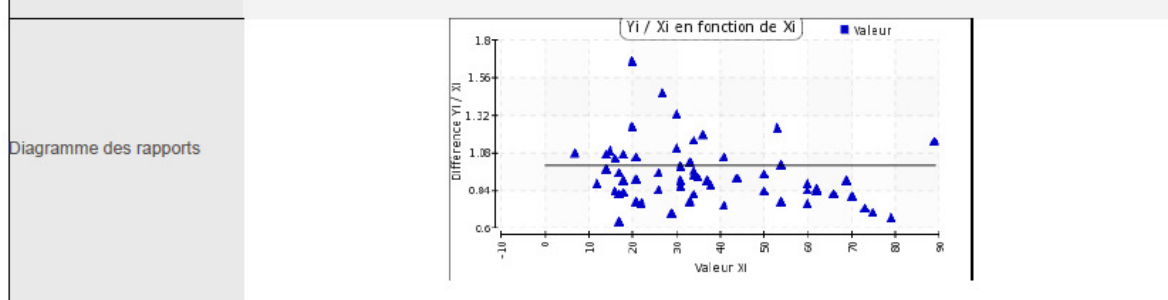
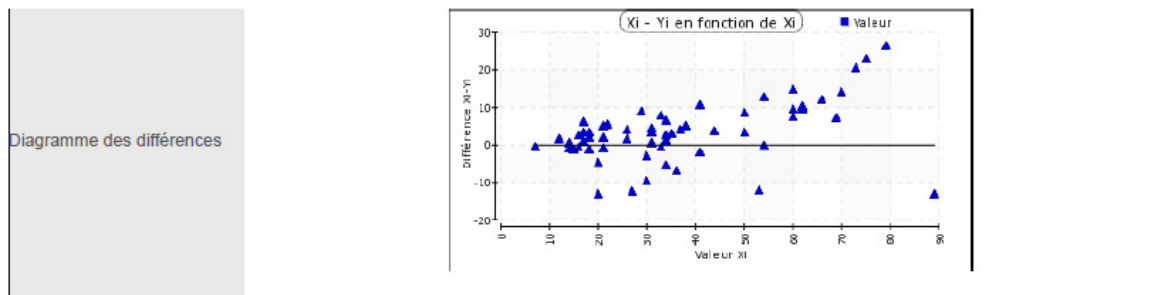
Contrôles quantitatifs							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) groupe de pairs	Biais (%) toute technique	Biais (%) limite	Conclusion
Niveau Bas							
DEQAS 421	22.790	25.92	26.54	12.076	-14.130	30.000	Conforme
17MV06	9.830	9.72	8.67	1.132	13.379	30.000	Conforme
17MV08	9.910	9.75	8.28	1.641	19.686	30.000	Conforme
17MV10	8.910	9.79	8.13	-8.989	9.594	30.000	Conforme
Niveau Moyen							
18MV06	66.450	65.58	64.08	1.327	3.699	30.000	Conforme
18MV07	61.370	62.19	63.13	-1.319	-2.788	30.000	Conforme
18MV08	44.830	45.51	39.95	-1.494	12.215	30.000	Conforme
18MV03	68.040	67.11	63.15	1.386	7.743	30.000	Conforme
18MV04	50.370	49.36	40.73	2.046	23.668	30.000	Conforme
18MV01	57.500	48.61	41.6	18.288	38.221	30.000	Conforme
DEQAS 425	39.670	41.96	43.04	-5.458	-7.830	30.000	Conforme
DEQAS 423	65.460	64.13	66.58	2.074	-1.682	30.000	Conforme
DEQAS 424	65.540	55	55.38	19.164	18.346	30.000	Conforme
DEQAS 422	34.710	32.96	32.33	5.309	7.362	30.000	Conforme
DEQAS 420	59.580	58.5	59.42	1.846	0.269	30.000	Conforme
DEQAS 419	45.580	51.92	45.46	-12.211	0.264	30.000	Conforme
DEQAS 416	37.710	37.67	39	0.106	-3.308	30.000	Conforme
DEQAS 417	30.000	30.88	31.38	-2.850	-4.398	30.000	Conforme
DEQAS 418	41.670	42.04	45.46	-0.880	-8.337	30.000	Conforme
DEQAS 415	52.000	48.29	48.58	7.683	7.040	30.000	Conforme
DEQAS 412	34.000	29.58	30.67	14.943	10.858	30.000	Conforme
DEQAS 413	54.000	48	49	12.500	10.204	30.000	Conforme
DEQAS 410	56.000	47.92	48.83	16.861	14.684	30.000	Conforme
DEQAS 411	41.670	39.25	40.46	6.166	2.991	30.000	Conforme
DEQAS 409	50.580	48.88	49.54	3.478	2.099	30.000	Conforme
DEQAS 408	40.670	39.21	41	3.724	-0.805	30.000	Conforme
DEQAS 407	35.710	33.46	35.29	6.724	1.190	30.000	Conforme
DEQAS 406	61.500	58.67	60.29	4.824	2.007	30.000	Conforme
17MV05	66.450	60.72	39.52	9.437	68.143	30.000	Conforme
17MV07	65.450	64.52	36.55	1.441	79.070	30.000	Conforme
17MV09	42.620	43.55	36.53	-2.135	16.671	30.000	Conforme
17MV11	70.500	61.13	36.25	15.328	94.483	30.000	Conforme
17MV12	44.040	42.56	35.76	3.477	23.154	30.000	Conforme
Niveau Haut							
18MV05	169.580	164.75	100	2.932	69.580	30.000	Conforme
18MV02	160.410	162.9	100	-1.529	60.410	30.000	Conforme
DEQAS 414	71.000	62.63	61.96	13.364	14.590	30.000	Conforme

Annexe 8 : Comparaison de méthode

Pour la 25OHD :

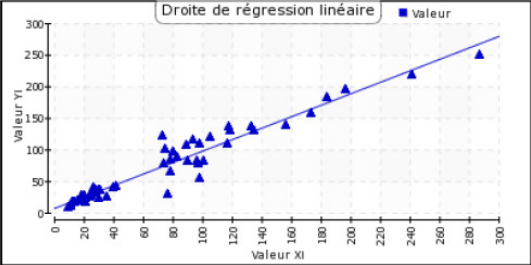
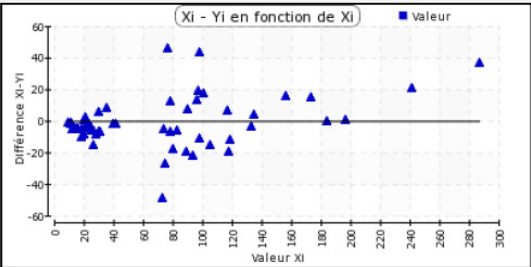
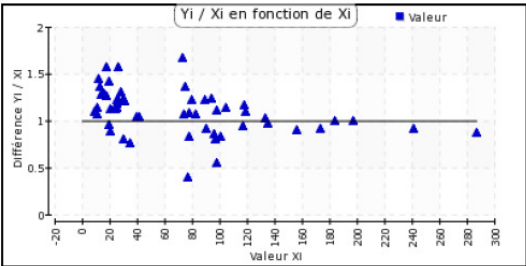
N°	25OHD Liaison	25OHD Isys (ng/ml)	N°	25OHD Liaison (ng/ml)	25OHD Isys (ng/ml)
1	12,4	10,68	31	6	6,56
2	16,4	17,24	32	13,6	13,08
3	12,4	11,12	33	14,8	13,28
4	13,6	12,64	34	17,6	16,12
5	8	13,28	35	6,4	6,68
6	21,6	21,64	36	15,2	13,24
7	26,4	21,56	37	2,8	3
8	6,8	4,32	38	7,2	5,92
9	16,4	12,16	39	7,2	7,68
10	13,2	13,4	40	8,8	6,64
11	13,2	10,12	41	21,2	26,12
12	24	20,12	42	24,8	20,64
13	5,6	5,44	43	8	9,92
14	20	18,72	44	14,4	17,12
15	4,8	4,24	45	10,4	8,76
16	6,8	6,44	46	28	22,4
17	13,2	10,04	47	35,6	40,88
18	8,4	8,84	48	10,4	9,84
19	6,4	5,32	49	24	21,08
20	8,4	7,64	50	24,8	21
21	24	18,04	51	31,6	21,08
22	21,6	16,56	52	13,6	15,76
23	13,6	11,04	53	12	13,28
24	6,8	5,56	54	12	15,92
25	11,6	8	55	27,6	24,72
26	12,4	12,24	56	30	20,84
27	8,4	6,4	57	10,8	15,8
28	7,2	6,44	58	14	12,88
29	20	16,56	59	29,2	21,08
30	5,6	5,96			

COMPARAISON DE METHODES	
Données bibliographiques	
Méthode précédente, autre méthode utilisée	VM-NEE-AQUANT-14-2
Nombre de mesures	59
Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire	
Méthode d'exploitation des résultats	Moindres rectangles
Equation de la droite de régression	$Y = 0.809X + 3.732$
	



Pour la 1,25OH₂D :

N°	1,25OH ₂ D	1,25OH ₂ D Isys	N°	1,25OH ₂ D Liaison	1,25OH ₂ D Isys (pg/ml)
1	18	22,7	28	18	28,4
2	25	28,5	29	16	20,6
3	101	83,7	30	118	137,6
4	11	12,6	31	94	116,2
5	98	54,6	32	28	36,7
6	73	121,9	33	26	31,7
7	20	19,3	34	13	17,8
8	9	9,9	35	21	18,6
9	35	26,8	36	25	29,5
10	156	140,1	37	31	37,4
11	184	184,2	38	30	37,1
12	75	101,9	39	20	28,5
13	78	65,3	40	105	120
14	80	97,9	41	26	40,9
15	96	82,2	42	133	136,5
16	77	30,8	43	40	41,6
17	24	27	44	119	130,9
18	97	78	45	21	23,7
19	197	195,9	46	11	11,8
20	12	17,4	47	83	88,8
21	173	158	48	241	220,2
22	25	30,6	49	78	84,6
23	42	44	50	89	108,6
24	74	79,3	51	30	24
25	135	131,1	52	14	17,9
26	117	110,1	53	98	109,3
27	90	82,3	54	287	250,2

COMPARAISON DE METHODES	
Données bibliographiques	
Méthode précédente, autre méthode utilisée	
Nombre de mesures	54
Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire	
Méthode d'exploitation des résultats	Moindres rectangles
Equation de la droite de régression	$Y = 0.908X + 7.633$
	
Diagramme des différences	
Diagramme des rapports	

Annexe 9 : Feuille de demande d'examens des explorations fonctionnelles

Etiquette Patient ORBIS	Etiquette Service UH	Prescripteur : Téléphone : Préleveur :	Réservé au laboratoire E1 (Etiquette labo)
-------------------------	----------------------	---	--

Hôpital universitaire Necker-Enfants Malades
LABORATOIRE DU POLE DE BIOLOGIE
EXPLORATIONS FONCTIONNELLES - Pr. D. PRIE Tél : 01 44 49 50 57 - Fax : 01 44 49 50 58



Date de prélèvement : Heure de prélèvement : H

URGENT **IMPERATIF EN CAS D'URGENCE** : * Accord téléphonique préalable au 95 057
 * N° de téléphone ou BIP du Service demandeur à rappeler :
Nombre de tubes à prélever (hors tests dynamiques et hors cycles) : de 1 à 3 dosages : 1 tube de 5 ml
> 3 dosages : 1 tube supplémentaire pour 3 dosages

Nombre de tubes prélevés : 1 tube 2 tubes 3 tubes 4 tubes 5 tubes

METABOLISME PHOSPHOCALCIQUE OSSEUX ET RENAL

TUBE BOUCHON JAUNE	Renseignements cliniques	Traitements
<input type="checkbox"/> PTH <input type="checkbox"/> PTH charge calcique <input type="checkbox"/> Ostéocalcine <input type="checkbox"/> C-Telopeptide (CTX) <input type="checkbox"/> P1NP <input type="checkbox"/> 25 (OH)D <input type="checkbox"/> 1.25 (OH)D <input type="checkbox"/> Phosphatases alcalines osseuses <input style="background-color: #d8bfd8;" type="checkbox"/> FGF23 (Tube violet à 4°C) <input type="checkbox"/> HJ.Explo.Adulte <input type="checkbox"/> Clairance Iohexol <input type="checkbox"/> Temps sang : __ <input type="checkbox"/> Clairance Inuline <input type="checkbox"/> Temps urine : __	<input type="checkbox"/> Hypercalcémie <input type="checkbox"/> Hypocalcémie <input type="checkbox"/> Hyperphosphorémie <input type="checkbox"/> Hypophosphorémie <input type="checkbox"/> Bilan nutritionnel <input type="checkbox"/> Lithiase / colique néphrétique <input type="checkbox"/> IRC non dialysée <input type="checkbox"/> IRC hémodialysée <input type="checkbox"/> Transplanté rénal <input type="checkbox"/> Ostéoporose <input type="checkbox"/> Rachitisme / Ostéomalacie <input type="checkbox"/> Sarcoïdose / Granulomatose <input type="checkbox"/> Ostéogénèse imparfaite	<input type="checkbox"/> Vitamine D ou Dédrogyl <input type="checkbox"/> Rocaltrol / un-alpha <input type="checkbox"/> Corticoïdes <input type="checkbox"/> Calcium <input type="checkbox"/> Biphosphonate ou Prolia <input type="checkbox"/> Mimpara / Cinacalset <input type="checkbox"/> Phosphore <input type="checkbox"/> Diurétique thiazidique <input type="checkbox"/> Biotine <input type="checkbox"/> Multi-vitamines <input type="checkbox"/> Lithium

REPRODUCTION / SURRENALE

<input type="checkbox"/> FSH <input type="checkbox"/> LH <input type="checkbox"/> AMH <input type="checkbox"/> Inhibine B <input type="checkbox"/> Test LHRH (FSH et LH) <input type="checkbox"/> Prolactine <input type="checkbox"/> Temps 0 <input type="checkbox"/> Temps -15 <input type="checkbox"/> Estradiol <input type="checkbox"/> Progestérone <input type="checkbox"/> Estradiol (liquide de kyste) <input type="checkbox"/> Testostérone <input type="checkbox"/> DHEA sulfate <input type="checkbox"/> D4 androstène dione <div style="background-color: #d8bfd8; padding: 2px;">TUBE VIOLET (Transport rapide)</div> <input type="checkbox"/> 17 OH progestérone <input type="checkbox"/> 11 Désoxycortisol (composé S) <input type="checkbox"/> Cortisol Cortisol cycle : <input type="checkbox"/> 8h <input type="checkbox"/> 12h <input type="checkbox"/> 16h <input type="checkbox"/> 20h <input type="checkbox"/> 0h <input type="checkbox"/> 4h <input type="checkbox"/> 8hJ2 <input type="checkbox"/> Cortisol et ACTH après freinage minute <input type="checkbox"/> Cortisol / hypoglycémie <input type="checkbox"/> T1 : (Transport : <input type="checkbox"/> T2 : <input type="checkbox"/> T3 : <input type="checkbox"/> ACTH Cortisol et ACTH après : <input type="checkbox"/> CRH <input type="checkbox"/> Minirin ACTH cycle : <input type="checkbox"/> 8h <input type="checkbox"/> 12h <input type="checkbox"/> 16h <input type="checkbox"/> 20h <input type="checkbox"/> 0h <input type="checkbox"/> 4h <input type="checkbox"/> 8hJ2 <input type="checkbox"/> Rénine <input type="checkbox"/> Rénine debout ATTENTION <input type="checkbox"/> Rénine couché Rénine transport <input type="checkbox"/> Rénine assis à T°C ambiante	<input type="checkbox"/> Puberté précoce <input type="checkbox"/> Retard pubertaire Stade Tanner : <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> Hyperpl.cong.Surrénales <input type="checkbox"/> Prématurité <input type="checkbox"/> AOGÉ <input type="checkbox"/> Cryptorchidie <input type="checkbox"/> Hypospadias <input type="checkbox"/> Micropénis <input type="checkbox"/> Grossesse <input type="checkbox"/> Lésion hypothalamo-hypophys. <input type="checkbox"/> Insuff. hypophysaire <input type="checkbox"/> Gynécomastie <input type="checkbox"/> Syndrome de Turner <input type="checkbox"/> Hirsutisme ou acné, SOPK <input type="checkbox"/> Insuffisance surrénalienne <input type="checkbox"/> Syndrome de Cushing	<input type="checkbox"/> Hydrocortisone <input type="checkbox"/> Fludrocortisone <input type="checkbox"/> Estro-progestatif <input type="checkbox"/> Injection d'HCG <input type="checkbox"/> Norprolac, parlodel ou dostinex <input type="checkbox"/> Decapeptyl <input type="checkbox"/> Priming <input type="checkbox"/> Androcur <input type="checkbox"/> Biotine Date des dernières règles : ___/___/___
TUBE VIOLET (Transport rapide)		
TEST AU SYNACTHENE T0 + T60' avec de dosage de : <input type="checkbox"/> Cortisol <input type="checkbox"/> 17 OH Progestérone <input type="checkbox"/> 11 Désoxycortisol (composé S) <input type="checkbox"/> D4 Androstène dione		

**RENSEIGNER OBLIGATOIREMENT AU RECTO :
IDENTIFICATION DU PATIENT, DU SERVICE,
DES PRELEVEURS ET PRESCRIPTEURS**

**Hôpital universitaire Necker-Enfants Malades
LABORATOIRE DU POLE DE BIOLOGIE
EXPLORATIONS FONCTIONNELLES - Pr. D. PRIE Tél : 01 44 49 50 57 - Fax : 01 44 49 50 58**



IMPERATIF EN CAS D'URGENCE : * Accord téléphonique préalable au 95057
* N° de téléphone ou BIP du Service demandeur à rappeler :

**Nombre de tubes à prélever (hors tests dynamiques et hors cycles) : de 1 à 3 dosages : 1 tube de 5 ml
> 3 dosages : 1 tube supplémentaire pour 3 dosages**

Nombre de tubes prélevés : 1 tube 2 tubes 3 tubes 4 tubes 5 tubes

TUBE BOUCHON ROUGE OU JAUNE	Renseignements cliniques	Traitements
AXE THYROÏDIEN		
<input type="checkbox"/> T3 L <input type="checkbox"/> T4 L <input type="checkbox"/> TSH <input type="checkbox"/> Test TRH <input type="checkbox"/> Anticorps anti-Thyroglobuline <input type="checkbox"/> Anticorps anti-TPO	<input type="checkbox"/> Hypothyroïdie <input type="checkbox"/> Hyperthyroïdie Grossesse (par trimestre) : <input type="checkbox"/> 1er <input type="checkbox"/> 2em <input type="checkbox"/> 3em <input type="checkbox"/> Dépistage néonatal positif <input type="checkbox"/> Nouveau-né prématuré <input type="checkbox"/> Thyroïdectomie <input type="checkbox"/> Craniopharyngiome <input type="checkbox"/> Autre lésion hypotha-hypophys.	<input type="checkbox"/> L-Thyroxine (LT4, Levothyrox) <input type="checkbox"/> Cynomel (LT3) <input type="checkbox"/> Neomercazole <input type="checkbox"/> Cordarone <input type="checkbox"/> Biotine <input type="checkbox"/> Autres : _____ Posologie : _____ <input type="checkbox"/> Prise le matin même
METABOLISME GLUCIDIQUE		
<input type="checkbox"/> Insuline <input type="checkbox"/> Insuline à jeûn <input type="checkbox"/> Insuline post-prandiale <input type="checkbox"/> Insuline cycle <input type="checkbox"/> Insuline test HGPO <input type="checkbox"/> Insuline test HGPIV <input type="checkbox"/> C-Peptide <input type="checkbox"/> C-Peptide post-prandial <input type="checkbox"/> C-Peptide cycle <input type="checkbox"/> C-Peptide test HGPO <input type="checkbox"/> C-Peptide Test HGPIV <input type="checkbox"/> C-Peptide test Glucacon	<input type="checkbox"/> Diabète <input type="checkbox"/> MODY <input type="checkbox"/> Hypoglycémie <input type="checkbox"/> Hyperinsulinisme	<input type="checkbox"/> Insuline <input type="checkbox"/> antidiabétique oral <input type="checkbox"/> Increlex <input type="checkbox"/> Biotine <input type="checkbox"/> Autres : _____
AXE SOMATOTROPE		
<input type="checkbox"/> IGF1 <input type="checkbox"/> IGF1 test Increlex <input type="checkbox"/> GH <input type="checkbox"/> GH Cycle nyctéméral <input type="checkbox"/> GH Betaxolol Glucagon <input type="checkbox"/> GH test Arginine <input type="checkbox"/> GH test Glucagon <input type="checkbox"/> GH test Arginine-Insuline <input type="checkbox"/> GH test GRF <input type="checkbox"/> GH test Insuline <input type="checkbox"/> GH test Propranolol-Glucagon <input type="checkbox"/> GH test Sommeil <input type="checkbox"/> GH test TRH <input type="checkbox"/> GH test HGPO	<input type="checkbox"/> Hypoglycémie néonatale <input type="checkbox"/> Anomalie de croissance Stade Tanner : <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> Lésion hypothalamo-hypophys. <input type="checkbox"/> Déficit hormone de croissance <input type="checkbox"/> Acromégalie	<input type="checkbox"/> Hormone de croissance <input type="checkbox"/> Increlex <input type="checkbox"/> Analogue somatostatine <input type="checkbox"/> Antagoniste GH (Somavert) <input type="checkbox"/> Priming <input type="checkbox"/> Biotine <input type="checkbox"/> Autres : _____

ZEFC Version 06/04/2018