

UNIVERSITE PARIS 6 – UPMC
D.U Assurance qualité au laboratoire de biologie médicale

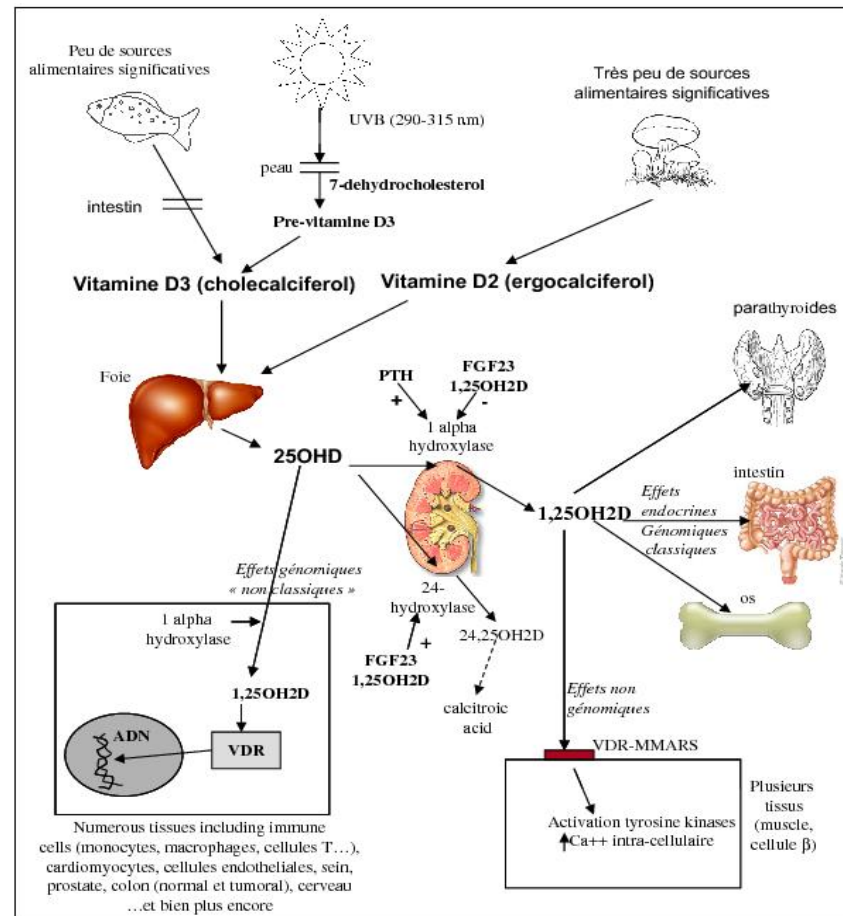
VERIFICATION DE METHODE – PORTEE A

DOSAGE DE LA VITAMINE D SUR LIAISON XL DIASORIN®



A. AIT BACHIR
2017-2018

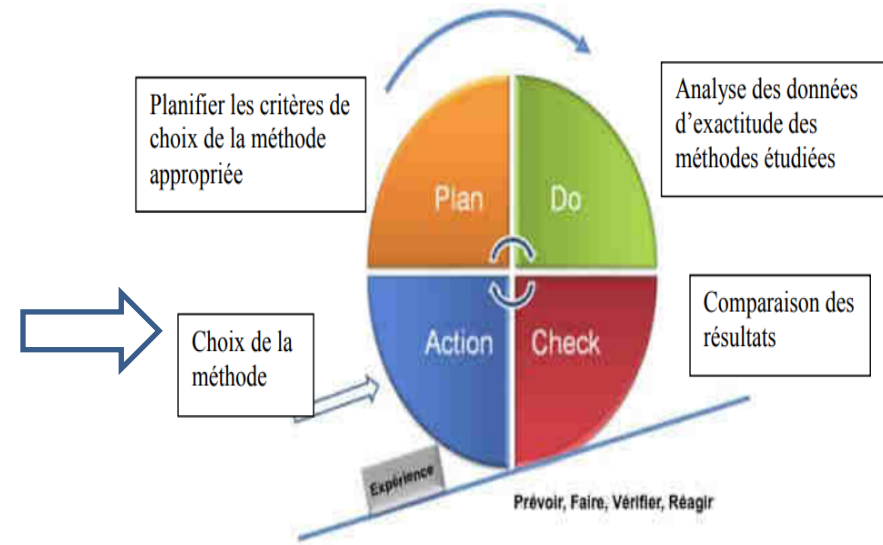
Vitamine D et métabolisme phosphocalcique



	grandeur	T1/2	Signification	Indications de dosage
25OH D	ng/ml	3-4 w	Stock en vitamine D	Insuffisance en vitamine D
1,25OH ₂ D	pg/ml	4 H	Métabolite actif	En 2 ^e intention: anomalie de l'α-1 hydroxylase; exploration de certaines hypercalcémies : sarcoïdose, lymphomes, rachitisme vitamino-résistant, diabète phosphaté,

Choix de la méthode

Evaluation externe de la Qualité : Récapitulatif des notations obtenues en 2015													
EEQ - Immunodosages avec Marqueur - Spécialisé (CIMH) 2015											Score : 9,7 (40e / 89) % dans LA : 100,0 % (1er / 89)		
ACTH											Score : 9,7 (38e / 86) - % dans LA : 100,0 % (1er / 86)		
Notes	TB	TB	TB	B+	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB		
z score (moyen 0,4)	0,2	-0,5	1,3	1,4	0,3	0,5	0,7	0,4	0,8	0,1	-0,1	-0,4	
Biais % (max : 16,6)	1,6	-3,7	10	17	2,4	5,6	12	5,8	11	0,9	-0,7	-3,1	
EEQ - Immunodosages avec Marqueur - Spécialisé (CIMV) 2015											Score : 7,3 (398e / 524) % dans LA : 90,0 % (379e / 524)		
1,25 (OH)2 VIT. D											Score : 6,7 (21e / 27) - % dans LA : 80,0 % (24e / 27)		
Notes	TB	B-	-1	TB	/	TB	TB	TB	TB	-1	B-		
z score (moyen -0,3)	0,4	-1,3	-1,6	0,5		0,6	-0,3	-0,4	1,2	-1,7	-0,9		
Biais % (max : -49,1)	7,0	-11	-49	-8,7		13	-8,6	-7,5	-1,8	-43	-21		
25 (OH) VITAMINE D											Score : 8,0 (364e / 535) - % dans LA : 100,0 % (1er / 535)		
Notes	TB	B-	B+	B+	TB	TB	/	B-	B-	B+	TB		
z score (moyen 0,2)	-0,1	-1,0	1,2	1,4	-0,3	-0,3		-0,8	-0,9	1,3	1,1		
Biais % (max : 29,2)	-2,5	-20	18	29	-2,6	-4,3		-19	-17	22	9,5		
EEQ - Immunodosages avec Marqueur - Spécialisé (CIMA) 2015											Score : 9,9 (164e / 422) % dans LA : 100,0 % (1er / 422)		
Anti Thyroglobuline											Score : 9,7 (171e / 404) - % dans LA : 100,0 % (1er / 404)		
Notes	TB	B-	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB		
z score (moyen -0,1)	-0,8	-1,2	0,2	0,6	-0,3	0,9	-0,7	-0,4	-0,7	0,6	0,4	0,1	
Biais % (max : -13,9)	-7,6	-14	1,8	5,7	-2,9	8,1	-8,0	-4,0	-5,2	5,2	4,1	0,8	
Anti Thyroperoxydase											Score : 10,0 (1er / 409) - % dans LA : 100,0 % (1er / 409)		
Notes	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB		
z score (moyen 0,8)	0,9	0,0	1,3	1,6	0,4	0,5	1,3	1,0	0,5	0,9	0,8	0,9	
Biais % (max : 14,2)	9,5	0,3	10	14	5,5	4,6	14	7,5	4,4	7,1	9,3	12	

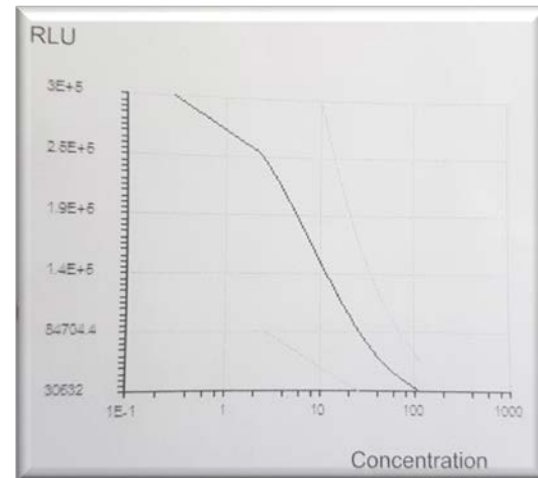
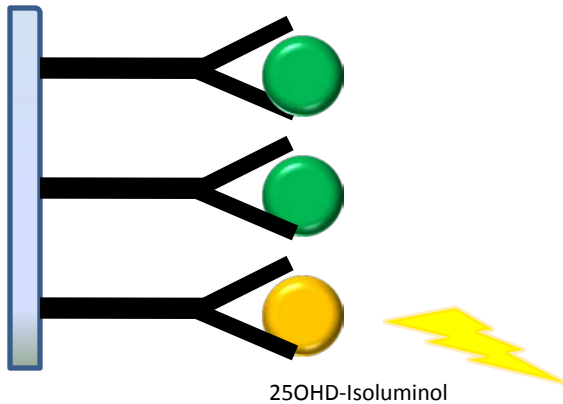


Roue de Deming de l'amélioration continue

Choix de la méthode

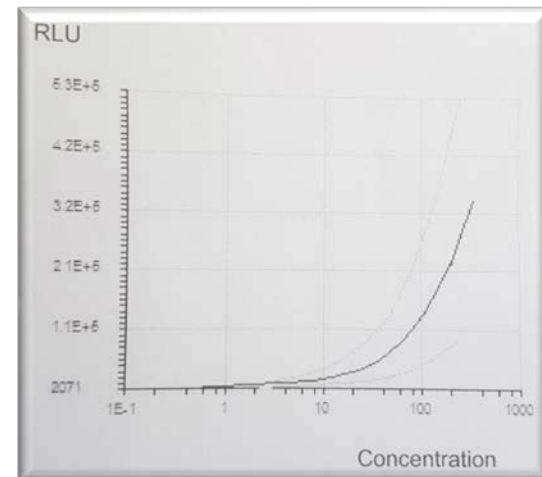
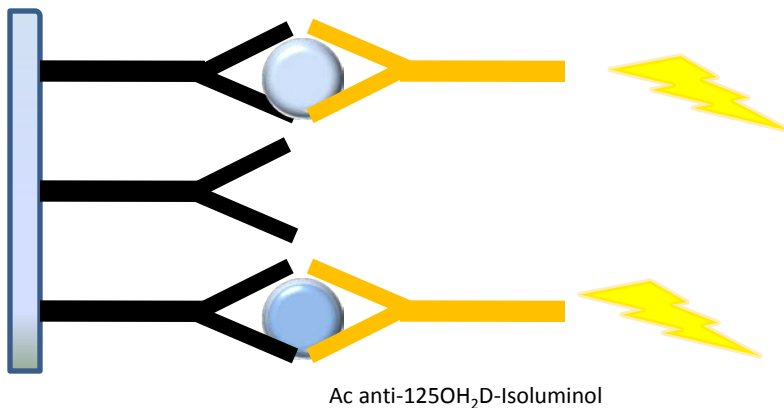
CLIA (Chemiluminescent immunoAssay) sur Liaison XL DiaSorin

- 25OHD: Compétition



Courbes d'étalonnage

- 1,25OH₂D: Sandwich



Exigences d'accréditation

- **Norme ISO 15189: § 5.5.1.1** : « *Le laboratoire doit sélectionner les procédures analytiques qui ont été validées pour leur utilisation prévue.* »
- **Guides techniques du COFRAC:**
 - SH REF 02 Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale.
 - SH GTA 01 Guide Technique d'Accréditation en biologie médicale
 - SH GTA 08 Expression et évaluation des portées d'accréditation
 - SH GTA 04 : Guide technique de vérification (portée A)/ validation (portée B) des méthodes en biologie médicale
 - SH FORM 43 : Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale
- SFBC: Recommandations pour l'accréditation
- Manuel qualité du laboratoire

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

Calendrier/implication perso

De mai à Septembre 2018:


- 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.

Maîtrise des risques

Méthode AMDEC: Rechercher les défaillances potentielles, et analyse de leur criticité. **Criticité=FxGxD**

Score	F (fréquence)	G (gravité)	D (détection)
1	Défaillance inexistante	Défaillance mineure	Signe avant coureur de la défaillance qui peut être évitée par une action préventive
2	Défaillance occasionnelle	Défaillance moyenne	Signe avant coureur de la défaillance, mais risque qu'il ne soit pas perçu
3	Défaillance certaine	Défaillance critique	Signe avant coureur de la défaillance n'est pas facilement décelable
4	Défaillance systématique	Défaillance très critique	Il n'existe pas de signe avant coureur de la défaillance
5		Défaillance catastrophique	

SH FORM 43



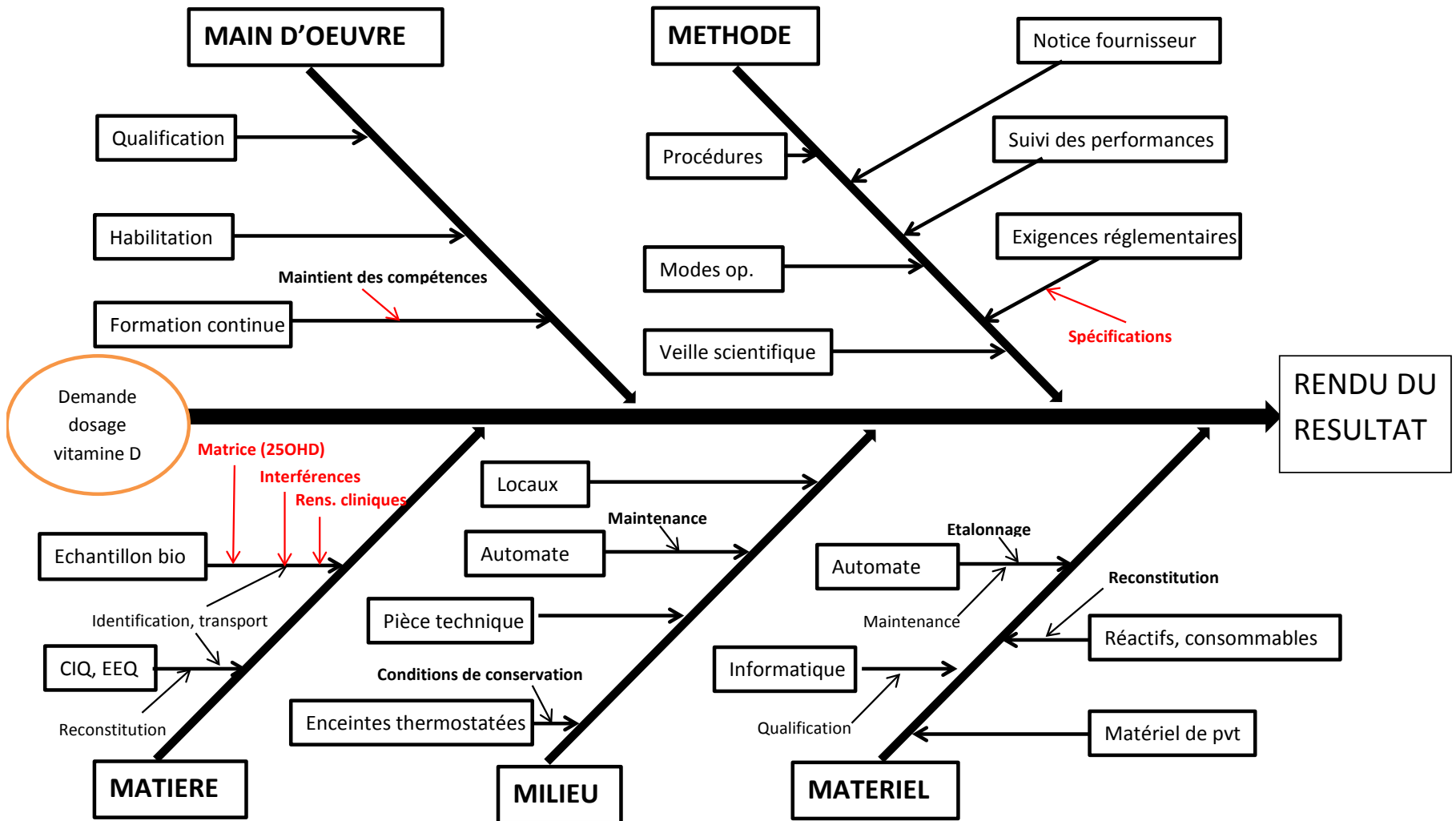
Fiche type de vérification (portée A) : Dosage de la 25-OH vitamine D

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 é ³	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
	Identité	1x3x3 : 9	Formation et information du personnel	<ul style="list-style-type: none"> - Guide des bonnes pratiques d'identification du patient (hôpital Necker) - Charte 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 - Réunion d'habilitation des préleveurs du service d'endocrinologie.
	Type de contenants	1x2x1 : 2	Formation des préleveurs	<ul style="list-style-type: none"> - Conditions préanalytiques des analyses NE-EXPF-PRE-DE-001
	Nature et volume de l'échantillon	2x1x1 : 2	Contrôle à réception	<ul style="list-style-type: none"> - Feuille de demande comportant les conditions de prélèvement et de transport : NE-EXPF-PLUS-DE-021

Maîtrise des risques

Diagramme D'Ishikawa



Résultats

1/ Répétabilité: Dosages répétés par un seul opérateur le même jour

25OHD	n	M (ng/ml)	ET (ng/ml)	CV (%)	CV (%) four.	CV (%) limite	Conclusion
Patient 1	30	17,5	0,52	2,98	3,2	6,5	Conforme
Patient 2	30	43,40	0,76	1,75	2	10	Conforme
Patient 3	30	63,67	1,31	2,06	3,1	10	Conforme
Pool bas	30	7,26	0,21	2,96	3,8	8,5	Conforme
Pool haut	30	30,63	0,94	3,09	1,8	7,6	Conforme

1,25OH2D	n	M (pg/ml)	ET (pg/ml)	CV (%)	CV (%) four.	CV (%) limite	Conclusion
Pool bas	31	35,18	1,07	3,05		4,1	Conforme
Pool haut	30	51,89	1,73	2,81		4,2	Conforme

2/ Fidélité intermédiaire: Utilisation des données des CIQ journaliers Diasorin/Probioqual sur 2 mois.

25OHD	n	M (ng/ml)	ET (ng/ml)	CV (%)	CV (%) f	CV (%) limite	Conclusion
MV10	56	19,10	1,05	5,52	7,3	15	Conforme
MV11	56	50,19	2,28	4,55	6	10,5	Conforme
MV12	57	68,53	3,74	5,46	6,4	10,5	Conforme
C1	44	16,68	0,97	5,83	8,9	15	Conforme
C2	44	53,34	2,70	5,07	6,4	10,5	Conforme

1,25OH2D	n	M (pg/ml)	ET (pg/ml)	CV (%)	CV (%) f	CV (%) limite	Conclusion
MV10	55	45,21	1,64	3,63	5,7	4,2	Conforme
MV11	55	12,18	0,73	5,99	6,6	3,8	Conforme
MV12	55	75,34	3,44	4,57	4,1	7,2	Conforme
C1	33	26,46	1,26	4,78	6,6	3,8	Conforme
C2	34	97,45	2,92	3	3,6	3,8	Conforme

3/ Justesse: Utilisation des données des CIQ journaliers sur 8 mois. Biais limites des EEQ

25OHD	n	V (ng/ml)	Cible GP (ng/ml)	Biais (%) GP	Biais (%) limite	Cible (TT)	Conclusion
MV10	196	19,34	18,85	2,61	35	NA	Conforme
MV11	196	51,71	51,52	0,37	35	NA	Conforme
MV12	196	59,49	59,06	0,63	35	NA	Conforme
C1	173	16,79	18,8	-10,67	35	NA	Conforme
C2	173	54,05	61,4	-11,97	35	NA	Conforme

1,25OH2D	n	V (pg/ml)	Cible GP (pg/ml)	Biais (%) GP	Biais (%) limite	Cible (TT)	Conclusion
MV10	195	43,75	43,17	1,35	30	NA	Conforme
MV11	201	11,43	9,95	14,88	30	NA	Conforme
MV12	202	71,51	63,8	12,09	30	NA	Conforme
C1	107	27,73	26	6,68	30	NA	Conforme
C2	108	103,62	101	2,60	30	NA	Conforme

Résultats

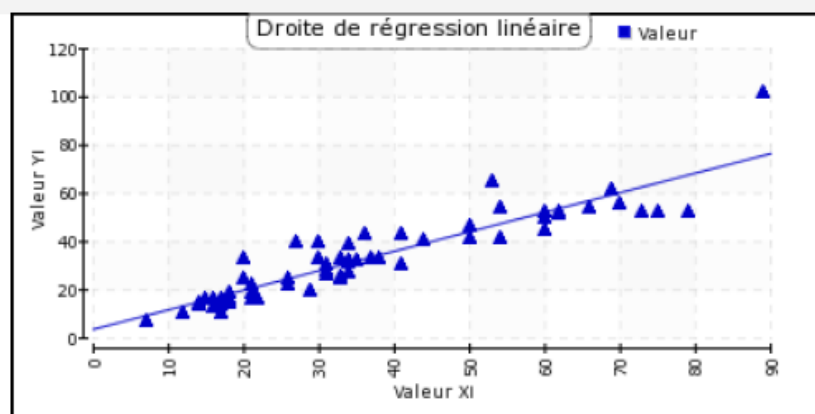
4/ Exactitude: Participation à 2 programmes EEQ: - ProBioQual: 12 enquêtes/an
 - DEQAS: 4 enquêtes/an

5/ Incertitude de mesure: A partir des données des CIQ et EEQ: Calculées à l'aide du logiciel Kalilab

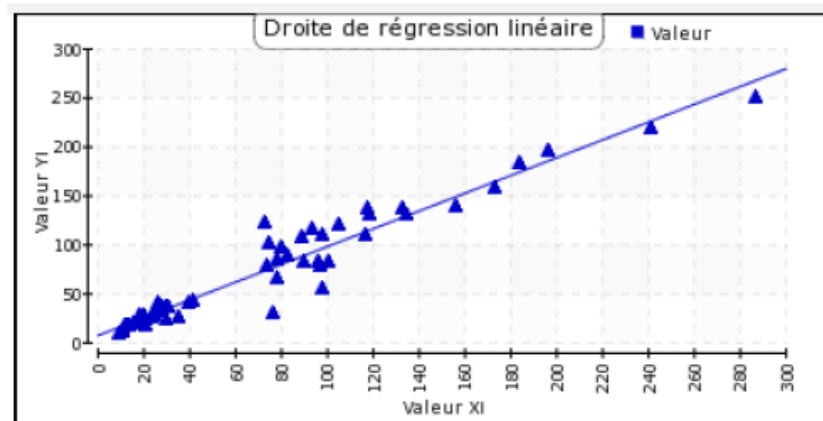
$$u(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(EEQ)} \quad \text{ou} \quad u(C) = \sqrt{\left(\frac{CV \times m}{100}\right)^2 + \left(\frac{\bar{E}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \sigma_E^2} \quad U = u(C) \times 2 \quad (\text{avec } k=2)$$

	25OHD	1,25OH ₂ D
Niveau bas	[25OHD] = 19,34 +/- 3,25 ng/m: (soit 16,81%)	[1,25OH ₂ D] = 11,43 +/- 4,53 pg/ml (soit 39,59%)
Niveau moyen	[25OHD] = 51,71 +/- 8,83 ng/m: (soit 17,07%)	[1,25OH ₂ D] = 43,75 +/- 9,50 pg/ml (soit 21,71%)
Niveau haut	[25OHD] = 69,49 +/- 10,96 ng/m: (soit 15,77%)	[1,25OH ₂ D] = 71,51 +/- 18,71 pg/ml (soit 26,17%)

6/ Comparaison de méthodes: comparaison Liaison XL vs IDS Isys
 59 échantillons patients



25OHD: $y = 0,809x + 3,73$ avec $r=0,91$



1,25OH₂D: $y = 0,908x + 7,63$ avec $r=0,967$

Résultats

7/ Intervalle de référence:

- **25OHD:** Méthode: Health based reference values. Valeurs de référence: 30-60 ng/ml (Entre 20 et 30 ng/ml : insuffisance ; entre 10 et 20 ng/ml : déficit ; <10 ng/ml : carence)
- **1,25OH₂D:** - Nourrissons : 30 – 150 pg/ml
 - Enfants : 30 – 80 pg/ml
 - Adolescent : 30 – 120 pg/ml
 - Adultes : 15 – 60 pg/ml

8/ Données fournisseur:

	25OHD	1,25OH ₂ D
Intervalle de mesure	4 à 150 ng/ml	5 à 200 pg/ml
Interférences analytiques	Hémolyse: 200 mg/dl d'Hb Lipémie: 589 mg/dl de TG Ictère: 40 mg/dl de Blb totale ou conjuguée Cholestérol: 301 mg/dl Acide urique: 20 mg/dl	Hémolyse: 300 mg/dl d'Hb Lipémie: 3000 mg/dl de TG Ictère: 40 mg/dl de Blb totale ou conjuguée Cholestérol: 400 mg/dl Acide urique: 20 mg/dl
contamination	Taux de récupération moyenne: 93 %	Taux de récupération moyenne: 94 %
Stabilité des réactifs	À 2-8°C: jusqu'à la date de péremption et pendant 4 semaine une fois ouverts	

Discussion

- Effet matrice de la 25OHD: Sérum++
- Interférences
- Renseignements cliniques et traitements

Conclusion

Adoption de la méthode CLIA DiaDorin[®] pour le dosage de la vitamine D



Merci pour votre attention