

VALIDATION D'UNE MÉTHODE QUANTITATIVE DE PORTÉE B

DOSAGE DE L'ALDOSTÉRONNE EN CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE COUPLÉE À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Tarek Chaabouni
Pharmacien Biologiste

DIPLÔME UNIVERSITAIRE ASSURANCE-QUALITÉ AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MÉDICALE
SORBONNE UNIVERSITÉS UPMC
Session 2017-2018



**Laboratoire unique sur 3 sites regroupant 23 Unités Fonctionnelles
U.F DE BIOCHIMIE SITE BICHAT**

- 1 secteur Biochimie générale 24/24h (36 millions de B en 2017)
- 1 secteur Biochimie spécialisée (Hormonologie, Hémoglobine, Protéine, Glycosylation, Vitamines et Spectrométrie de masse)

Démarche Accréditation COFRAC	Année	% HU PNVS	% UF Biochimie
Entrée dans la démarche d'accréditation	2010	0	0
Première visite	Septembre 2014	5	42
Visite de suivi S3 et Extension	Septembre 2017	55	95

Responsable du secteur Gaz du sang (Secteur Biochimie 24/24h)

Coresponsable du secteur Vitamines (HPLC)

Coresponsable du secteur Spectrométrie de masse LC/MS (Aldostérone , Méтанéphrine)

Validation biologique de la biochimie générale et hormonale

Référent Qualité Secteur Gaz du sang

Référent Qualité informatique AQUIRE

Référent Qualité de la garde,

Dosage de l'aldostérone plasmatique par LC/MS sur Xevo TQS de Waters®



❖ Référentiels normatifs:

- Norme NF EN ISO 15189 (chapitre 5.5.2) « *pour s'assurer qu'elle convient à l'utilisation prévue* » .
- Guide technique SH GTA 04 (5.3 et 5.5 de la norme NF EN ISO 15189) concernant la vérification sur site/validation des méthodes en biologie médicale
- Fiche-type SH FORM 43

❖ Choix de la portée:

Notre travail porte sur une méthode quantitative utilisant un système analytique sans marquage CE, adapté au niveau du laboratoire et procédé d'une étape d'extraction manuelle avec une plaque OASIS Max.



Validation en portée B

Visite d'extension BB2 (Novembre 2018)

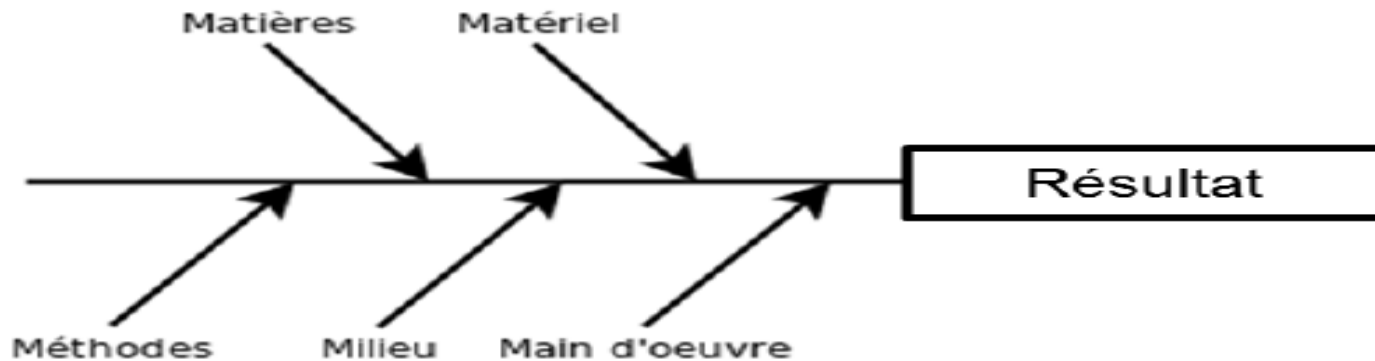
- L'APHP a doté l'ensemble de ses laboratoires d'un logiciel de management de la qualité : Kalilab (société Netika).
- La validation de méthode a été établie comme un seul processus (choix de la RAQ).

Protocole de Validation de méthode

Maîtrise de risque

Lister les facteurs d'influence, d'évaluer leur criticité puis de mettre en place des moyens de maîtrise pour chacun de ces risques.

Pour lister les risques, nous avons utilisé le diagramme des 5 M (Ishikawa) :



Evaluation de la performance et choix des critères d'acceptabilité

Le référentiel retenu dans le cas de l'aldostérone était la table de Ricos et al. ainsi que les Evaluations Externes de la Qualité (EEQ) de ProBioQual.

Analyte	CVi	CVg	I (%)	B (%)	TE (%)
Aldostérone Plasmatique	29.4	40.1	14.7	12.4	36.7

Abbreviations: CVw = within-subject biologic variation ; CVg = between-subject biologic variation ; I = desirable specification for imprecision ; B = desirable specification for inaccuracy ; TE = desirable specification for allowable total error.

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MATIERE	Identité	Formation du personnel	<p>Procédure d'enregistrement des demandes dans le SIL (PN_PRA_F_006, PN_PRA_F_007, PN_REC_F007, PN_REC_F_095)</p> <p>Habilitation des personnels de l'ACEBM et du poste Réception (PN_GRH_E_029, PN_GRH_E_580)</p> <p>Circuit du tube dans le laboratoire avec différents acteurs</p>	3	3	9
	Prélèvement	<p>Sang veineux</p> <p>Ordre des tubes : héparine avant EDTA (contamination)</p>	<p>Manuel de prélèvement (PN_PLV_Q_001):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ordre de prélèvement des tubes 2. Agitation lente des tubes par retournement 3. Aiguille adaptée 4. A distance d'une perfusion (hémodilution, contamination) 5. Respecter les recommandations préanalytiques 6. Préciser la position / test statique ou dynamique <p>Formation dans les services de soins</p>	3	3	9
	Remplissage	Minimum 5mL				

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MATIERE	Transport	<p>Délai d'acheminement : inférieur à 4H (tube EDTA)</p> <p>A température ambiante : 20°C +/- 5°C</p>	<p>Catalogue des examens.</p> <p>Pneumatique / Coursiers</p> <p>Recueil heure de prélèvement / horodatage heure de réception</p> <p>Règles ScanBac définies pour les délais d'acheminement</p> <p>Enregistrement et suivi des non-conformités</p> <p>Contrôle des températures de transport</p>	3	1	3
	Conservation	<ul style="list-style-type: none"> - Décanter et garder à température ambiante si le dosage est envisagé dans les trois heures qui suivent. - Congeler à -20°C si le dosage est différé - Recongeler le plasma à -20°C en post analytique pendant 3 mois 	<p>Prise en charge de larénine et aldostérone(PN_REC_F_076)</p> <p>Aliquotage des échantillons UF de Biochimie (PN_REC_F_188)</p> <p>Procédure de conservation des prélèvements en post-analytique (PN_PSA_M_003)</p> <p>Logiciel de suivi des températures des enceintes réfrigérées post-analytiques</p> <p>Procédure d'élimination des prélèvements (PN_PSA_F_021)</p>	2	1	2

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MATERIEL	Péremption	<p>Elimination des tubes périmés (services de soins)</p> <p>Elimination des réactifs périmés</p>	<p>Manuel de prélèvement (PN_PLV_Q_001):</p> <p>Spectrométrie de masse : Suivi des lots de solvants et phases mobiles (PN_PREP_E_108)</p> <p>inventaires des réactifs (PN_GFO_M_004)</p> <p>Suivi mensuel des missions du référent technique (PN_PREP_E_011)</p>	2	2	4
	Disponibilité	Eviter les ruptures de stocks des réactifs	<p>Procédure de suivi de stocks (PN_GFO_M_003)</p> <p>Enregistrement FAQ + indicateur</p> <p>Commandes en urgence par la cadre</p> <p>LC/MS Fiches de stock(PN_GFO_E_087)</p>	3	1	3
	Conservation	<p>Réactifs: entre 15 et 25°C</p> <p>Calibrants et CIQ : -20°C</p> <p>Matériels (colonne, kit d'extraction) : entre 15 et 25°C</p>	<p>Logiciel de suivi des températures SIRIUS :</p> <p>Cartographie des enceintes par un organisme accrédité</p> <p>Enceintes de secours identifiées</p> <p>Date d'ouverture/reconstitution sur les flacons</p> <p>Péremption des CIQ et calibrants : délai fiches fournisseur</p>	2	1	2

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MATERIEL	Informatique	<p>Connexions automate – MW – SIL</p> <p>Intégrité des données maîtrisée entre automate, MW, SIL et Serveurs</p> <p>Maîtrise des pannes</p>	<p>Qualification des connexions par jeux de tests initiaux et réguliers tracés selon plan défini</p> <p>Sauvegarde des données brutes autoanalyseur définie et planification respectée (PN_ARC_F_002)</p> <p>Sauvegarde des serveurs informatiques SIL et MW</p> <p>Spectrométrie de masse : sauvegarde des données brutes (PN_MAI_F_133)</p> <p>Procédure situation dégradée testée (PN_SIL_M_007)</p> <p>Procédure de dépannage en cas de perte de connexion (PN_SIL_F_008)</p>	3	1	3
	Analyseur	<p>Maintenances :</p> <ul style="list-style-type: none"> - préventives - curatives 	<p>Documentation fournisseur : Manuel d'utilisation de Xevo TQ-S de Waters(PN_TEC_DE_032)</p> <p>Planning des maintenances internes</p> <p>Spectrométrie de masse : maintenance hebdomadaire(PN_MAI_F_133)</p> <p>Planning des maintenances fournisseur (Kalilab)</p> <p>Contrat SAV</p>	4	1	4

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MATERIEL	Pipettes	Pipettes pour : - reconstitution des calibrant et des CIQ - étape manuelle d'extraction - préparation des phases mobiles et des réactifs - dilution manuelle	Liste des pipettes critiques en spectrométrie de masse (PN_TEC_F_287) Raccordement COFRAC par organisme accrédité tous les ans sur site Jeux de pipettes critiques raccordées COFRAC pour remplacement ponctuel Formation du personnel	5	1	5
	Centrifugeuses	Identification des centrifugeuses : 2200 g pendant 15 min	Procédure d'utilisation des centrifugeuses (PN_REC_M_020) → programmes fixes Entretien des centrifugeuses → planning des maintenances (MPL) Contrôle métrologique par le biomédical (périodicité annuelle)	5	1	5
	Enceintes réfrigérées	Températures, contenus, localisations, enceintes de secours maîtrisés	Logiciel SIRIUS avec localisation, identification et suivi des températures des enceintes Identification des enceintes critiques au poste de travail (pastille rouge) et dans Kalilab (PN_MAI_M_008)	5	1	5

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
METHODE	Documentation	<p>Interne : à jour et suivie</p> <p>Enregistrements : classés et préservés</p> <p>Externes : à jour et suivie</p> <p>→ manuel automates, notices fournisseur, nouveautés scientifiques</p>	<p>Procédure de gestion documentaire (PN_DOC_P_002, PN_DOC_M_007, PN_DOC_M_002)</p> <p>Logiciel de gestion documentaire : Kalilab</p> <p>Suivi de la diffusion des documents (attestations de lecture dans Kalilab)</p> <p>Gestion des notices par les techniciens référents</p> <p>Bibliographie, veille scientifique, DPC par les biologistes</p>	3	1	3
	Performances	<p>Conforme aux critères établis par les sociétés savantes avant mise en route puis pour la confirmation en routine</p>	<p>Procédure de validation de méthode (PN_VAM_P_001)</p> <p>Formation du personnel</p> <p>EEQ Probioqual avec suivi des actions correctives (PN_GCQ_F_004)</p> <p>Suivi des CIQ quotidien et mensuel (PN_GCQ_E_03, PN_GCQ_E_467), des EEQ (PN_GCQ_F_004), calcul des incertitudes de mesure</p> <p>Evaluation des fournisseurs (PN_EVF_P_001, PN_EVF_M_001)</p>	4	1	4

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
METHODE	CIQ	<p>Règles de passage établies</p> <p>Valeurs cibles et valeurs acceptables établies</p> <p>Règles d'alarmes et de rejets maîtrisées</p> <p>Conduites à tenir définies</p> <p>Analyse d'impact réalisée avec établissement des critères de comparabilité</p> <p>Maitrise des dérives des CIQ</p> <p>Maitrise des dérives automatés</p>	<p>Procédure de gestion des CIQ au laboratoire (PN_GCQ_M_008)</p> <p>Règles de WG paramétrées dans le MPL</p> <p>Qualification du CIQ sur période probatoire de 30 jours</p> <p>Critères d'acceptabilité définis</p> <p>Formation du personnel technique et biologique</p> <p>Algorithme de conduite à tenir en cas de rejet du CIQ / analyse d'impact (PN_RES_F_005)</p> <p>Non conformités enregistrées et suivies avec rappel du compte rendu / commentaire « Annule et remplace »</p> <p>Suivi régulier des Levey-Jennings (PN_GCQ_E_0467)</p>	5	1	5
	EEQ	<p>Présence d'EEQ pour chaque méthode (saisie en binômes)</p> <p>Fournisseur d'EEQ accrédité</p> <p>Exploitation et suivi des actions correctives</p>	<p>Procédure EEQ suivi gestion (PN_GCQ_F_004)</p> <p>Suivi des EEQ</p> <p>Enregistrement des EEQ dans le SIL</p> <p>Enregistrement des actions correctives en cas d'EEQ non conforme (FAQ)</p>	4	1	4

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
METHODE	Etalons	Référence calibrateur/Notice	Documentation fournisseur	3	1	3
	Réactif	Référence réactif/Notice	Vérification des mises à jour (site fournisseur, mission mensuelle du référent) Traçabilité des réactifs(PN_PREP_E_111, PN_PREP_E_108)	3	1	3
	Dilution	Dilution manuelle	Personnel formé et habilité Traçabilité de la dilution manuelle Pipettes dédiées	5	1	5
	Validation	Résultats critiques transmis Homogénéité des interprétations	Modes opératoires de vérification technique et de validation biologique / poste de travail Validation Biologique Rénine et Aldostérone (PN_VAB_F_051) Suivi des séries d'aldostérone(PN_TEC_E_211) Critères de communication des résultats critiques aux biologistes Procédure de communication des résultats au prescripteur (PN_RES_P_002) Traçabilité dans le SIL	5	1	5

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUE S	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MAIN D'ŒUVRE	Formation	<p>Qualification pour la validation de méthodes</p> <p>Nouveaux arrivants au secteur tutorés (technicien et biologiste)</p> <p>Rotation suffisante au poste</p> <p>Retour de congés (maladie, maternité,...)</p>	<p>Validation des méthodes : Habilitation des deux techniciennes et d'un biologiste responsable : Fiche Tutorat Validation de Méthodes (PN_GRH_E_779), Critères de qualification à la Validation de Méthodes (PN_GRH_E_229), Fiche d'évaluation initiale Validation de Méthodes (PN_GRH_E_784)</p> <p>Nouveaux techniciens arrivants : - Tutorat (PN_GRH_E_894) - Evaluation des compétences initiale (PN_GRH_E_895)</p> <p>Nouveaux biologistes arrivants : - Tutorat (PN_GRH_E_898) - Evaluation des compétences initiale (PN_GRH_E_899)</p> <p>Habilitation selon des critères prédéfinis : Personnel non médical (PN_GRH_E_042) –Personnel médical (PN_GRH_E_043)</p> <p>Personnel déjà en poste : Maintien des habilitations tous les 2 ans : Technicien(PN_GRH_E_896) et Biologiste ((PN_GRH_E_897)</p> <p>Plannings personnel médical (PN_RSH_E_025) et Personnel non médical (PN_RSH_E_021, PN_RSH_E_022, PN_RSH_E_023, PN_RSH_E_024)</p> <p>Renouvellement des habilitations</p>	3	1	3

Analyse et interprétation des résultats

Maîtrise de risque

5M	POINTS CRITIQUES	ELEMENTS A MAITRISER	MODALITES DE MAITRISE	ECHELLE DE CRITICITE (C= FxG)		
				F	G	C
MILIEU	Température	Plage de température de fonctionnement de l'automate maîtrisée (15 et 25 °C)	<p>Logiciel de suivi des températures des pièces techniques</p> <p>Climatisation</p> <p>Système interne de gestion de la température de l'automate</p>	3	1	3
	Déchets	Risque infectieux	<p>Filière DASRI identifiée</p> <p>Formation Hygiène et Sécurité - Référent Hygiène et Sécurité</p> <p>Document Unique</p>	5	1	5
	Sécurité	Risque AES maîtrisé	<p>Surveillance périodique de la pression des bouteilles de gaz dans la salle de LC/MS</p> <p>Port de gants et blouses +/- lunettes de protection par le personnel en zone technique</p> <p>Utilisation des bouchons pour les tubes.</p>	5	1	5

Analyse et interprétation des résultats

Evaluation expérimentale des critères de performance

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

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

Aldosterone

Processus simple

DESCRIPTION DU PROCESSUS

1. VM-PNE-BQUANT-15-1 / Aldosterone

Eléments à vérifier

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

Analyse et interprétation des résultats

Evaluation expérimentale des critères de performance

Répétabilité

Echantillons	Nombre de valeurs	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%)RICOS	Conclusion
Niveau Bas Chromsys 3514-1	30	382,866	16,135	4,21	8,2	12,400	Conforme
Niveau Moyen Chromsys 3514-2	30	864,528	23,098	2,67	7,0	12,400	Conforme
Niveau Haut Chromsys 3514-3	30	3978,387	163,303	4,10	3,9	12,400	Conforme

Fidélité intermédiaire

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%)RICOS	Conclusion
Niveau Bas Chromsys 3514-1	40	281,458	32,668	11,61	10,0	14,700	Conforme
Niveau Moyen Chromsys 3514-2	40	682,047	74,026	10,85	10,0	14,700	Conforme
Niveau Haut Chromsys 3514-3	40	2711,182	246,648	9,10	10,0	14,700	Conforme

Justesse:

En absence de contrôles internes externalisés, la justesse n'a pas été évaluée pour ce paramètre.

Analyse et interprétation des résultats

Evaluation expérimentale des critères de performance

Exactitude

Rapports de ProBioQual établis pour les années 2017 et 2018.

Echantillons	Nombre (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) groupe de pairs	Biais (%) moyenne générale	Biais (%) RICOS	Conclusion
Niveau Bas								
17ME01	1	137,100	144,2	176,2	-4,924	-22,191	36,700	Conforme
17ME03	1	248,900	235,1	198,4	5,870	25,454	36,700	Conforme
17ME05	1	159,400	217,2	189,1	-26,611	-15,706	36,700	Conforme
17ME07	1	372,400	308	329,4	20,909	13,054	36,700	Conforme
17ME08	1	150,200	178,3	174,8	-15,760	-14,073	36,700	Conforme
17ME09	1	308,200	346,2	339,5	-10,976	-9,219	36,700	Conforme
17ME11	1	221,900	256,8	225,3	-13,590	-1,509	36,700	Conforme
17ME12	1	252,600	263,5	228,1	-4,137	10,741	36,700	Conforme
18ME01	1	242,300	308,7	254,1	-21,510	-4,644	36,700	Conforme
18ME02	1	320,300	364,6	347,9	-12,150	-7,933	36,700	Conforme
18ME03	1	418,200	411,1	411,9	1,727	1,529	36,700	Conforme
18ME06	1	149,100	179,8	189,1	-17,075	-21,153	36,700	Conforme
18ME07	1	437,700	433,8	429,6	0,899	1,885	36,700	Conforme
Niveau haut								
17ME02	1	769,900	906,1	955,3	-15,031	-19,408	36,700	Conforme
17ME04	1	915,900	1174,2	1106,4	-21,998	-17,218	36,700	Conforme
17ME06	1	777,700	911,1	892,9	-14,642	-12,902	36,700	Conforme
18ME04	1	867,600	839	835	3,409	3,904	36,700	Conforme
18ME05	1	814,200	817,8	837	-0,440	-2,724	36,700	Conforme
18ME08	1	863,500	892,3	836,1	-3,228	3,277	36,700	Conforme

Analyse et interprétation des résultats

Evaluation expérimentale des critères de performance

Incertitude de mesure

Calculée par la méthode CIQ/EEQ

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

$$u(C) = \sqrt{\left(\frac{CV \times m}{100}\right)^2 + \left(\frac{\bar{E}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \hat{\sigma}_E^2}$$

C : concentration en aldostérone (en pmol/L).

L'incertitude élargie U est obtenue en multipliant u(C)

par le coefficient k (k=2).

Les résultats du calcul de l'incertitude sont exprimés de la façon suivante :

C±U (k=2) en pmol/L

	CIQ			EEQ			u ² = uCIQ ² + uEEQ ²	u	U= u*k
	CV (%)	m (pmol/L)	uCIQ ² (CV*M/100) ²	•	Ã _E	uEEQ ² = • ² /3 +Ã _E ²			
Niveau bas	11.61	281.46	1067.80	11.47	8.09	109.33	1177.14	34.31	68.62
Niveau haut	10.85	682.05	5476.31	9.91	7.54	89.56	5565.87	74.60	149.21

Les incertitudes élargies obtenues à 24,38% et 21,87% respectivement pour le niveau bas et le niveau haut sont inférieurs à 36.70% (Ricos). L'incertitude de mesure est donc conforme.

Analyse et interprétation des résultats

Evaluation expérimentale des critères de performance

Etendue de mesure

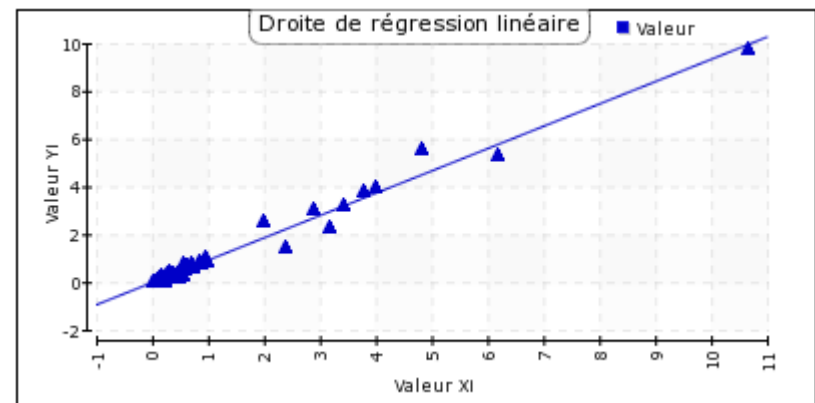
On a adopté l'intervalle de mesure proposé par le fournisseur en choisissant la valeur de 39 pmol/L comme limite basse car elle correspondait au point le plus bas de la calibration (Point G1 dilué au 1/2) et la valeur de 4161 pmol/L comme limite haute car elle correspondait au point le plus haut de la calibration. Au-delà de 4161 pmol/L, une dilution manuelle est à réaliser.

L'intervalle de mesure indiqué par le fournisseur est adapté à la pratique du laboratoire.

Comparaison des méthodes

Nous avons comparé la concentration d'aldostérone plasmatique en LC/MS réalisée à Bichat avec la même méthode de dosage à HEGP sur 50 mesures dans un intervalle de 33.7 à 6186.8 pmol/L couvrant l'étendue de mesure pertinente.

Analyse des résultats globaux par régression linéaire (droite des moindres rectangles) avec une équation $y = 0.934x + 31.456$ ($r=0.989$)



Analyse et interprétation des résultats

Evaluation expérimentale des critères de performance

Interférences:

Compte-tenu de la technique basée sur la détection et la quantification de fragments peptidiques selon leur rapport m/z extrêmement spécifique des molécules dosées, l'étude des interférences classiquement envisagée avec d'autres techniques (avec composante colorimétrique) n'apparaît pas justifiée.

Contamination:

- inter-réactif n'a pas été vérifiée sur site (les données fournisseur)
 - inter-échantillon a été vérifiée par passage (n=3) de 2 patients de concentrations différentes.
- Les moyennes obtenues en pmol/L des répliques ne sont pas statistiquement différentes.

Robustesse et stabilité:

- Pour les réactifs liquides prêts à l'emploi, nous nous sommes basés sur les données du fournisseur préconisant une conservation à température ambiante jusqu'à la date de péremption.
- Pour les réactifs lyophilisés, la stabilité a été étudiée sur site.

Deux points de calibrant (Multi level serum calibrator set, lot5016) ont été passés en raison de 18 séries à savoir le G1 (valeur théorique à 67 pmol/l) et le G6(valeur théorique à 4161 pmol/l).

Les CV respectifs du G1 et G6 étaient à 5.92 % et 6.36% (CV acceptable).

La stabilité des calibrants est conforme aux exigences de notre laboratoire.

Intervalles de références:

Le laboratoire a choisi d'utiliser les valeurs de référence du laboratoire de Biochimie de l'HEGP qui utilise le même appareil (XevoTQS) et la même technique de dosage. Nous sommes les back up l'un de l'autre. Les intervalles adoptés sont cohérents avec les données de la littérature.

Conclusion

Le dosage de l'aldostérone plasmatique en LC/MS qui est une méthode quantitative de portée B est validé suite à ce travail élaboré avec la technicienne référent en spectrométrie de masse.

Les différentes expérimentations ont permis de conclure que la performance de la méthode est acceptable.

Une étude des risques nous a permis d'exposer toutes les erreurs pouvant intervenir et notre façon de les maîtriser. Ce travail a également contribué à former puis à habilitier deux techniciens et deux biologistes dans le secteur LC/MS.

La rédaction de plusieurs documents qualités qui aident à maîtriser les aspects préanalytiques, analytiques et post analytiques nous a permis de finaliser le dossier d'accréditation du dosage de l'aldostérone plasmatique en LC/MS et d'inscrire ce processus sur la liste des demandes d'accréditation pour la prochaine visite du COFRAC.

