

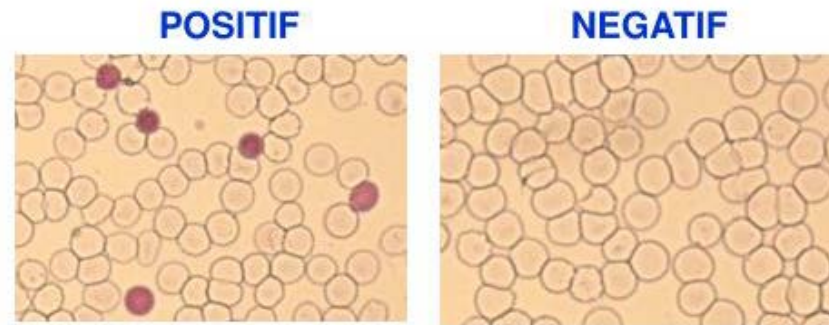
**Mise en place d'une vérification de méthode  
: recherche d'hématies fœtales dans le sang  
maternel  
par le test de Kleihauer  
dans un laboratoire polyvalent**

Soutenance le 22 Octobre  
2018

Caroline SAVALLE  
Interne en Biologie Médicale

# Le test de Kleihauer

- Principe : l'Hb F des hématies fœtales est plus résistante à l'élyution à pH acide que l'Hb A des hématies adultes



- Buts :
  - Détecter et quantifier une hémorragie fœto-maternelle (HFM)
  - Adapter la dose d'Ig anti-D (Rhopylac<sup>®</sup>) à injecter en fonction du volume de l'HFM en prévention de :
    - l'allo-immunisation fœto-maternelle Rh(D) chez les femmes Rh(D) négatif
    - la maladie hémolytique du nouveau-né Rh(D) lors de la grossesse

# Pourquoi ce travail ?

- Au laboratoire du Groupe Hospitalier Seclin-Carvin, visite de surveillance S2 en décembre 2018  
→ ouverture de la sous-famille Hématocytologie :
- Hémogramme
- Test de Kleihauer
- Acquisition d'une expérience dans la mise en place d'une vérification de méthode

# Démarche utilisée

- Vérification des données bibliographiques
- Détermination des critères de performance à vérifier
- Détermination des limites d'acceptabilité

- Analyse de risques
- Réalisation des tests
- Exploitation des résultats
- Comparaison aux spécifications attendues
- Rédaction du dossier de vérification de méthode

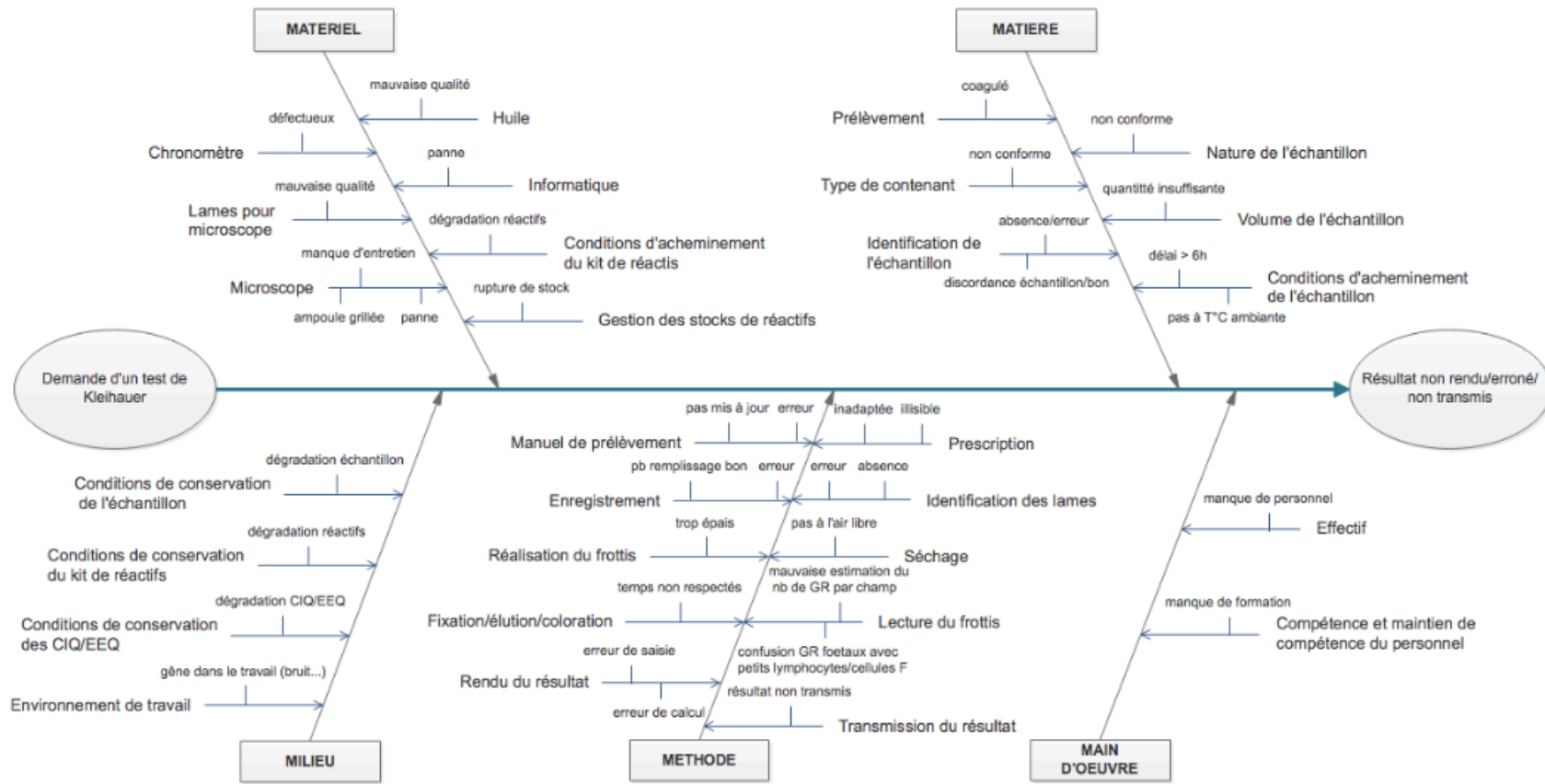


- Fiches de dysfonctionnement
- Plan d'action : actions correctives
- Révision de procédures

- CIQ/EEQ
- Audit interne
- Audit Cofrac

# Maîtrise des risques

- Diagramme d'Ishikawa :



- Analyse de risques

# Vérification des critères de performances : évaluation des performances (1)

## Répétabilité

- 10 lames pour chacun des 3 niveaux du CIQ FETALtroI™ (EUROCELL)
- Niveaux 1 et 2 conformes (CV<40%), Niveau 3 conforme (CV<30%)

## Fidélité intermédiaire

- 3 niveaux du CIQ lus une fois par semaine sur 27 semaines
- **Niveau 1 non conforme** (CV>40%) mais acceptable car résultats tous dans la fourchette attendue
- Niveau 2 conforme (CV<40%), Niveau 3 conforme (CV<30%)

## Justesse

- Pas de CIQ externalisés
- Bibliographie : surestimation du nb de GR fœtaux sans biais précis

## Exactitude

- 7 EEQ RBC-F avec 2 niveaux de contrôle (EUROCELL)
- **2 résultats de TK négatifs non conformes** car hors limites acceptables
- Tous les autres résultats conformes ( $|Z\text{-score}| < 2$ )

# Vérification des critères de performances : évaluation des performances (2)

## Variabilité inter-opérateurs

- 6 lames de CIQ (2 par niveau) lues en aveugle par 12 opérateurs
- 6 EEQ avec 2 niveaux de contrôle lues par 7 à 12 opérateurs
- 8 niveaux /15 de CIQ/EEQ non conformes (CV>30-40%)

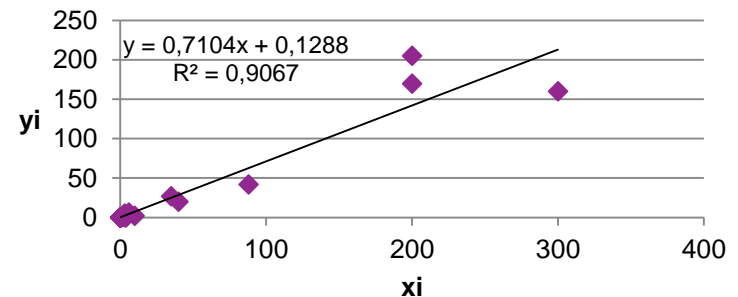
## Incertitude de mesure

- Méthode « CIQ/EEQ »
- Valeurs faible-moyenne-haute non conformes : 296-68-68% (>CV<sub>labo</sub>)

## Comparaison de méthodes

- Méthode maison (X) vs méthode avec kit (Y)
- 28 échantillons patients et 2 CIQ
- Davantage de GR intermédiaires avec méthode maison -> kit

Droite de Deming  
 $y_i = f(x_i)$  :



# Vérification des critères de performances : vérification bibliographique

## Intervalle de mesure

- NABM : seuil de détection < 5 HF / 10000 HA
- Kit : limite de détection = 0 HF / 10000 HA

## Interférences

- Cellules F
  - Petits lymphocytes
- } Résultat faux positif ou surestimé

## Contamination entre échantillons

- Pas de risque : pour chaque frottis, utilisation d'un nouveau cône et d'une nouvelle lame pour étaler

## Robustesse

- SH GTA 04 : rapport fidélité intermédiaire/répétabilité
- Niveaux 2 et 3 du CIQ : rapports proches de 1

## Stabilité des réactifs

- Recommandations du fournisseur du kit :
  - Conserver à T°C ambiante
  - Ne pas utiliser après la date de péremption
  - Bien refermer réactifs fixation/élution après utilisation

## Valeurs usuelles

- Notice : cellules foétales dans sang adulte < 0,1‰

# Avis d'aptitude

Résultats des tests non satisfaisants



**Non-conformité de la technique**

# Problèmes rencontrés et axes d'amélioration

## Difficultés de lecture des CIQ

- ⑩ Préparation "maison" des différents niveaux de CIQ

## Difficultés de lecture des EEQ

- ⑩ Changement de fournisseur d'EEQ : ASQUALAB

## Grande variabilité inter- opérateurs Incertitudes de mesure élevées

- ⑩ Acquisition d'un microscope avec une cellule de comptage

## ➤ Manque d'expérience des techniciens

- ⑩ Formations régulières

# Conclusion

- Améliorations à faire
  - TK pas présenté au COFRAC pour accréditation en décembre 2018
- Recommandations actuelles (BCSH, 2009) :
  - TK : test de dépistage
  - Cytométrie en flux : test de confirmation



**Merci de votre attention**