

# **GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION DE VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B) DES METHODES EN BIOLOGIE MEDICALE**

Document SH GTA 04  
Révision 01

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

Section Santé humaine

## SOMMAIRE

<b>1</b>	<b>OBJET DU DOCUMENT .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>DOMAINE D'APPLICATION .....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>MODALITES D'APPLICATION .....</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS.....</b>	<b>5</b>
<b>5</b>	<b>DEFINITIONS ET REFERENCES .....</b>	<b>6</b>
5.1	Définitions .....	6
5.2	Références .....	8
<b>6</b>	<b>QUELLES SONT LES EXIGENCES D'ACCREDITATION ?.....</b>	<b>8</b>
<b>7</b>	<b>PROCÉDURES ET ENREGISTREMENTS.....</b>	<b>10</b>
7.1	Maîtrise de la documentation – méthodologie .....	10
7.2	Procédure de vérification / validation de méthodes .....	11
7.3	Procédure de gestion de portée flexible .....	13
<b>8</b>	<b>GESTION DES RISQUES .....</b>	<b>14</b>
<b>9</b>	<b>VERIFICATION / VALIDATION SUR SITE DES PERFORMANCES D'UNE METHODE.....</b>	<b>14</b>
9.1	Description du processus.....	15
9.2	Description de la méthode .....	15
9.3	Mise en œuvre .....	15
9.4	Maîtrise des risques .....	15
9.5	Identification des performances à évaluer .....	19
9.6	Vérification des critères de performances et méthodes de calcul .....	20
9.6.1	<i>Vérification/validation d'une méthode quantitative.....</i>	20
9.6.1.1	Evaluation de la répétabilité .....	20
9.6.1.2	Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) .....	21
9.6.1.3	Justesse .....	21
9.6.1.4	Exactitude .....	22
9.6.1.5	Incertitude de mesure .....	22
9.6.1.6	Comparaison de méthodes .....	23
9.6.1.7	Etendue de mesure .....	24
9.6.1.8	Interférences et spécificité analytique .....	25
9.6.1.9	Contamination .....	25
9.6.1.10	Robustesse et stabilité des réactifs .....	26
9.6.1.11	Intervalle de référence et/ou valeurs seuils .....	26
9.6.1.12	Déclaration d'aptitude .....	27
9.6.2	<i>Vérification d'une méthode qualitative.....</i>	27
9.6.2.1	Variabilité inter-opérateurs .....	27
9.6.2.2	Sensibilité, spécificité analytiques, justesse et fidélité .....	27
9.6.2.3	Incertitude de mesure .....	28
9.6.2.4	Approche de la limite de détection .....	29
9.6.2.5	Comparaison de méthodes .....	29
9.6.2.6	Interférences .....	29
9.6.2.7	Contamination .....	29
9.6.2.8	Robustesse .....	29
9.6.2.9	Intervalle de référence et/ou valeurs seuils .....	29
9.6.2.10	Déclaration d'aptitude .....	30

<b>10 ANNEXE 1 : METHODES DE CALCUL DES CRITERES DE PERFORMANCES .....</b>	<b>31</b>
10.1 Répétabilité.....	32
10.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire).....	32
10.3 Variabilité inter-opérateurs .....	32
10.4 Justesse .....	33
10.5 Exactitude .....	33
10.6 Incertitude de mesure .....	33
10.7 Etendue de mesure : limite de détection, limite de quantification, limite de linéarité .....	34
10.8 Comparaison de méthodes .....	34
10.9 Interférences et spécificité analytique .....	36
10.10 Contamination.....	36
10.11 Robustesse.....	36
10.12 Stabilité des réactifs.....	37
10.13 Intervalles de référence et valeurs de décision clinique.....	38
<b>11 ANNEXE 2 : EXEMPLES .....</b>	<b>39</b>
11.1 Processus simple – méthode quantitative : calcémie .....	39
11.2 Processus simple – méthode qualitative : détermination des groupes sanguins ABO et rhésus .....	47
11.3 Processus simple – méthode qualitative : détermination des RAI .....	57
11.4 Processus complexe : Protéinogramme .....	67
11.5 Processus complexe : Hémogramme.....	76
11.6 Processus complexe : diagnostic biologique d'une infection urinaire supposée bactérienne (ECBU).....	101
11.7 Processus complexe : diagnostic biologique du paludisme .....	149
<b>12 ANNEXE 3 : TESTS STATISTIQUES A L'USAGE DE LA VERIFICATION/VALIDATION DE METHODES.....</b>	<b>174</b>
12.1 Valeurs aberrantes.....	174
12.2 Comparaison de 2 CV.....	175
12.3 Comparaison de 2 moyennes .....	176
12.4 Comparaison de 2 séries de résultats (séries appariées).....	177
12.4.1 Test t des différences .....	177
12.4.2 Test de concordance entre deux instruments .....	179
12.4.2.1 Test de Bland-Altman .....	179
12.4.2.2 Droites de régression.....	181
12.5 Comparaison de n séries de résultats (n opérateurs ou n analyseurs).....	183
12.6 Vérification des concordances .....	184
<b>13 ANNEXE 4 : BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>187</b>
13.1 Références légales et réglementaires .....	187
13.2 Références normatives générales.....	187
13.3 Documentation COFRAC / EA .....	188
13.4 Validation des méthodes.....	188
13.5 Validation des méthodes en biologie médicale.....	189
13.6 Sites Internet.....	190

Les **recommandations** contenues dans ce guide sont le fruit de la réflexion collégiale de biologistes médicaux issus de laboratoires privés et publics, de membres des instances de la section Santé humaine (Comité de Section et Commission Technique d'Accréditation), de représentants des sociétés savantes (SFBC, GEHT, SFM), des ordres professionnels (ordre des médecins, ordre des pharmaciens section G), d'organisme agréé reconnu pour l'évaluation des pratiques professionnelles en biologie médicale par la HAS (Bioqualité) et d'**évaluateurs techniques**.

## 1 OBJET DU DOCUMENT

Les normes NF EN ISO 15189 et NF EN ISO/CEI 17025 définissent les exigences générales concernant la qualité et la compétence des laboratoires de biologie médicale et des laboratoires d'essai.

Le présent guide technique explicite les exigences des paragraphes 5.4 de la norme NF EN ISO/CEI 17025 et 5.3 & 5.5 de la norme NF EN ISO 15189 ainsi que celles de la norme NF EN ISO 22870 concernant la vérification/validation des méthodes en biologie médicale, en se fondant sur les bonnes pratiques dans ce domaine et les performances communément observées et acceptées (état de l'art). Le laboratoire pourra compléter ces informations à partir des recommandations proposées par la SFBC, le GEHT, la SFM, l'ANPGM, l'INCA, ...).

Ce guide ne se substitue pas aux exigences et/ou normes applicables au sein du laboratoire. Les recommandations qu'il contient et que le laboratoire est libre d'appliquer, sont celles reconnues par le COFRAC comme étant appropriées pour répondre aux exigences des normes NF EN ISO 15189, NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 22870, ainsi qu'aux documents COFRAC SH REF 02 et 08. Dans tous les cas, il appartient aux laboratoires de démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire pleinement aux exigences normatives, sur la base des éléments développés dans le présent document.

Ce guide s'adresse :

- aux laboratoires accrédités ou en démarche d'accréditation COFRAC selon les normes NF EN ISO 15189 et 22870 ou NF EN ISO/CEI 17025 ;
- aux structures exécutant des examens/analyses relevant du champ d'application de la section Santé Humaine, comme dans les domaines suivants : analyses médico-légales, Anatomie et de Cytologie Pathologiques (ACP), biologie humaine, ... ;
- aux fournisseurs de dispositifs de diagnostic *in vitro* (DM-DIV) pour comprendre et accompagner les laboratoires dans leur démarche ;
- aux évaluateurs du COFRAC, il constitue à ce titre une base d'harmonisation à leur usage ;
- aux membres des instances du COFRAC (Comité de Section, Commission Technique d'Accréditation Santé Humaine).

*Le terme « laboratoire » utilisé dans le texte désigne toute structure accréditée ou candidate à l'accréditation, non seulement les laboratoires de biologie médicale (LBM), mais également les laboratoires réalisant des analyses dans un cadre médico-légal, les laboratoires de l'Etablissement Français du Sang (EFS) exerçant des activités de qualification biologique des dons de sang, ainsi que les cabinets d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques (ACP) ou tout autre laboratoire réalisant des analyses dans le cadre de la biologie humaine.*

## 2 DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique de la « validation » des méthodes en Santé Humaine. Il est important de préciser que la grande majorité des laboratoires **adoptent des méthodes reconnues (portée flexible standard A)**. Dans ce cas, la « validation » correspond à une vérification des performances du système analytique (analyseur et réactif), lors de la mise en application (routine) dans le laboratoire. Cette vérification permet de confirmer la fiabilité des résultats obtenus (« aptitude à l'emploi »), en fonction des objectifs définis pour satisfaire les besoins cliniques. Cette vérification correspond à un des éléments de la maîtrise du processus analytique (cf. document SH REF 02, §5.5.2), et **s'applique à l'ensemble des examens de la portée définie**.

Les laboratoires peuvent également employer des **méthodes adaptées** ou développées en interne (**portée flexible étendue B**). Dans ce cas, le laboratoire évalue, pour sa validation, l'ensemble des critères de qualité de la méthode susceptibles d'en démontrer la maîtrise.

Ce document propose des recommandations pour chaque cas :

- la vérification sur site pour les méthodes adoptées (portée de type A),
- la validation pour les méthodes adaptées ou développées (portée de type B).

Il aborde également la gestion de la portée flexible incluant notamment la maîtrise des phases pré-analytique, analytique et post-analytique.

Pour rappel, seule la **phase analytique est envisagée** en termes de « validation » de méthode. La phase pré-analytique, essentielle, est abordée notamment au travers de la maîtrise des risques dans le présent document, ce qui n'exclut pas la réalisation d'essais dans certains cas (type de conservateur, extraction, ...). Les laboratoires doivent prendre cette phase pré-analytique en considération et mettre en place des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation et **a minima respecter les instructions des notices d'utilisation si elles sont spécifiques au fournisseur ou en valider les adaptations**.

## 3 MODALITES D'APPLICATION

Le présent guide technique d'accréditation est applicable à compter du 15 avril 2015. Dans le domaine de la biologie médicale, et au jour de son approbation, ce guide technique d'accréditation reflète l'état d'avancement des connaissances en termes de vérification/validation des méthodes.

## 4 SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS

L'objet principal de cette révision est d'intégrer les exigences de la version 2012 de la norme NF EN ISO 15189 (notamment en termes de maîtrise des risques), ainsi que celles de la norme NF EN ISO/CEI 17025. De plus, une nouvelle notion est développée : la distinction entre processus analytique simple et processus analytique complexe.

Afin d'en faciliter la lecture, aucune marque de révision n'est indiquée.

## 5 DEFINITIONS ET REFERENCES

### 5.1 Définitions

**Matrice** : milieu faisant l'objet de l'examen/analyse (sérum, plasma, sang total, urine, LCR, tissu, ...).

**Mesurage** : obtention expérimentale d'une ou plusieurs valeurs que l'on peut raisonnablement attribuer à une grandeur. Les mesurages ne s'appliquent qu'aux propriétés quantitatives.

**Technique** : Ensemble de procédés reposant sur des connaissances scientifiques et destinés à la production.

Manière de faire pour obtenir un résultat (équivalent à un mode opératoire).

**Méthode** : ensemble ordonné de manière logique de principes, de règles, d'étapes qui constitue un moyen pour parvenir à un résultat.

#### Méthodes quantitatives

Elles fournissent des résultats issus de données numériques.

Remarque : Le dénombrement est une propriété quantitative, d'unité égale à 1. Les résultats issus d'un ratio (%) sont également considérés comme des résultats quantitatifs.

#### Méthodes qualitatives

Elles fournissent des résultats issus de données non numériques. Par exemple, les examens à lecture subjective (identification macro et/ou microscopique, ...) ou les résultats binaires (présence/absence, positif/négatif, ...).

Des méthodes qualitatives basées sur des données numériques, c'est-à-dire basées sur une évaluation par rapport à un seuil, doivent être vérifiées/validationées comme des méthodes quantitatives (par exemple : sérologie HIV).

*Les résultats de méthodes assimilées comme semi-quantitatives ou semi-qualitatives sont à considérer comme étant des méthodes quantitatives.*

*Les méthodes de ce type feront l'objet d'une vérification/validation appropriée et pertinente, adaptée en fonction des familles d'examens définies (SH INF 50) (cf. §9.6 et exemples en annexe 2). Seuls les items pertinents seront vérifiés/validationés.*

**Méthodes reconnues** : les méthodes à privilégier seront celles des DM-DIV marqués CE ou celles publiées dans des livres faisant autorité, des journaux avec comité de lecture, des normes, des instructions de consensus international ou des réglementations.

#### Méthodes non reconnues

Les méthodes développées par le laboratoire (ou méthodes internes) doivent être validées de manière appropriée pour l'utilisation prévue et parfaitement documentées.

**Vérification de méthode** : confirmation que les méthodes **reconnues** sont utilisées dans leur domaine d'application, qu'elles correspondent aux besoins des « clients » (patients/prescripteurs) et qu'elles sont maîtrisées par le laboratoire.

Les méthodes reconnues entrent dans le cadre d'une portée de type A (cf. document SH REF 08).

**Validation de méthode :** confirmation que les méthodes **non reconnues** sont utilisées dans leur domaine d'application, qu'elles correspondent aux besoins des « clients » (patients/prescripteurs) et qu'elles sont maîtrisées par le laboratoire.

Les méthodes reconnues utilisées hors de leur domaine d'application et les méthodes non reconnues entrent dans le cadre d'une portée de type B (cf. document SH REF 08).

**Processus analytique :** ensemble de méthodes permettant l'obtention de résultats d'examens aboutissant au diagnostic biologique.

Dans le cadre d'une approche processus, les données d'entrée du processus analytique proviennent de l'étape pré-analytique et les données de sortie seront utilisées pour le processus post-analytique (transmission des données, interprétation des résultats de l'examen de biologie médicale, ...).

Les examens de biologie médicale peuvent être constitués d'une seule méthode/étape/processus (appelée « processus simple », comme le dosage des protéines totales dans le sérum) ou de l'enchaînement de plusieurs méthodes/étapes/sous-processus, faisant appel à des méthodes quantitatives et/ou qualitatives (appelé « processus complexe », comme le cas de l'ECBU ou de la Numération Formule Sanguine).

Le rôle du biologiste consistera à identifier la nature des processus (simple ou complexe), puis à vérifier / valider chacune des étapes identifiées.

#### Exemples :

- processus simple : dosage des protéines totales

Processus analytique	Méthodes	Techniques manuelles	Techniques automatisées
Dosage des protéines totales	Quantification	Spectrophotométrie (biuret)	Spectrophotométrie / biuret

- processus complexe : diagnostic biologique d'une infection urinaire supposée bactérienne

Processus analytique	Méthodes / Etapes*	Techniques manuelles	Techniques automatisées
Echantillon biologique : urine	Mise en culture en vue du dénombrement bactérien	Oeses calibrées	Ensemenceurs
	Recherche, identification et numération d'éléments cellulaires, germes bactériens et autres éléments	Examen direct microscopique avec ou sans préparation	Analyse d'images ou cytométrie en flux
	Recherche, identification de germes bactériens et de cellules <sup>1</sup>	Examen microscopique et coloration : Gram...	Examen microscopique et coloration : Gram...
	Recherche, identification de germes bactériens et/ou bactéries spécifiques : identification bactérienne	Détermination phénotypique : - morphologie - caractérisation biochimique : colorimétrie - séro-agglutination - immuno-enzymologie - immunofluorescence Biologie moléculaire	- Caractérisation biochimique (spectrophotométrie) - Spectrométrie de masse - Biologie moléculaire

<sup>1</sup> Pour les laboratoires exécutant cette étape

Processus analytique	Méthodes / Etapes*	Techniques manuelles	Techniques automatisées
	Etude de la sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme standard, détermination des CMI	- Méthode de diffusion en milieu gélosé, inhibition de croissance en présence de concentration d'antibiotiques - Biologie moléculaire - catégorisation SIR ou CMI ...	- Inhibition de croissance en milieu liquide en présence de certaines concentrations d'antibiotiques, après incubation - Biologie moléculaire - catégorisation SIR ou CMI ...

\* : méthodes/étapes/sous-processus correspondants aux lignes de portée décrites dans le document SH INF 50.

## 5.2 Références

Les références bibliographiques sont rapportées dans l'[annexe 4](#).

## 6 QUELLES SONT LES EXIGENCES D'ACCREDITATION ?

Dans les normes NF EN ISO 15189, NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 22870, la validation est abordée dans les chapitres 5.3, 5.4 et 5.5.

### NF EN ISO/CEI 17025 § 5.4.2 :

«Le laboratoire doit utiliser des méthodes d'essai et/ou d'étalonnage, y compris des méthodes d'échantillonnage qui répondent aux besoins du client et qui conviennent aux essais et/ou étalonnages qu'il effectue [...].»  
« [...] Le laboratoire doit sélectionner des méthodes appropriées qui ont été publiées dans des normes internationales, régionales ou nationales, par des organisations techniques de renom ou dans des textes ou revues scientifiques spécialisés, ou spécifiées par le fabricant de l'équipement. Des méthodes développées par le laboratoire [...] peuvent également être employées si elles conviennent à l'usage prévu et qu'elles ont été validées. »

### NF EN ISO 15189 & 22870 § 5.3.1.2 & 5.3.1.3 :

Ce paragraphe indique que « le laboratoire doit vérifier, lors de l'installation et avant utilisation, que le matériel est capable d'atteindre les performances nécessaires et qu'il est conforme aux exigences relatives aux examens concernés ». Cette exigence s'applique au matériel utilisé dans le laboratoire, au matériel prêté ou au matériel utilisé dans des locaux associés ou mobiles par des tiers autorisés par le laboratoire.

« Le matériel doit être utilisé à tout moment par du personnel formé et autorisé. Des instructions sur l'utilisation, la sécurité et la maintenance du matériel (y compris tous les manuels et toutes les instructions d'utilisation fournis par le fabricant) doivent être disponibles. »

### NF EN ISO 15189 § 5.3.1.7 j) :

Ce paragraphe indique que le laboratoire doit conserver « les enregistrements de la performance du matériel confirmant que le matériel est actuellement adapté à l'utilisation ».

### NF EN ISO 15189 § 5.3.2.3 :

« Chaque nouvelle formulation de trousse de réactifs prêts à l'emploi résultant de modifications de réactifs ou de procédure, un nouveau lot de fabrication ou une nouvelle expédition doit être vérifiée en termes de performance avant utilisation Les consommables qui peuvent affecter la qualité des examens doivent être vérifiés en termes de performance avant utilisation. »

NF EN ISO 15189 § 5.5.1.1 :

« Le laboratoire doit sélectionner les procédures analytiques qui ont été validées pour leur utilisation prévue.

Note : les procédures privilégiées sont celles spécifiées dans les modes d'emploi des DM-DIV ou celles qui ont été publiées dans des livres établis faisant autorité, des textes ou journaux revus par des pairs, ou des normes ou instructions de consensus internationales, ou des réglementations nationales ou régionales. »

SH REF 02 § 5.5.1.2 & 5.5.1.3 :

« Dans le cas de l'utilisation de méthodes reconnues (méthode commercialisée en tant que DM-DIV donc marquée CE au titre de la directive 98/79/CE ou méthode faisant l'objet de publications internationales validées,...), la validation des méthodes utilisées par le LBM est réduite à une « vérification sur site » pour s'assurer que les performances attendues sont atteintes dans les conditions de travail du LBM. Le LBM peut dans ce cas revendiquer une portée flexible standard de type A. »

Le LBM qui souhaite adapter, à ses besoins, des méthodes reconnues ou développer ses propres méthodes doit procéder à leur validation. La validation des méthodes reconnues adaptées sera aussi étendue que les modifications apportées le nécessiteront. Le LBM doit dans ce cas revendiquer une portée flexible étendue de type B. »

SH REF 08 § 7.2.1 :

« Dans le cadre d'une portée de type A (flexible standard), le laboratoire est autorisé à réaliser des analyses selon un ensemble de techniques validées, à partir de méthodes définies, suivant le même principe, ou de leurs révisions dès lors qu'elles n'impliquent pas de nouvelles compétences. »

« Dans le cadre d'une portée de type B (flexible étendue), le laboratoire est de plus autorisé à réaliser des analyses selon un ensemble de techniques validées, à partir des méthodes définies qu'il pourra adapter, voire développer, suivant le même principe. »

Les LBM font un usage important de coffrets réactifs prêts à l'emploi et de systèmes commercialisés (DM-DIV). Les critères relatifs aux performances des méthodes (fidélité, justesse, exactitude, sensibilité, spécificité...) sont déterminés par le fabricant préalablement à leur mise sur le marché (dossier de marquage CE). Ce dossier n'engage que le fabricant et ne fait pas l'objet de contrôles *a priori* par des organismes notifiés que pour une liste limitée d'examens (directive européenne 98/79/CE). Si ces coffrets réactifs prêts à l'emploi et si ces systèmes sont utilisés strictement dans les conditions préconisées par le fabricant, les méthodes sont considérées comme des méthodes reconnues. Dans ce cas, **le laboratoire doit uniquement vérifier la mise en application dans son environnement propre** par rapport à des critères et des limites acceptables (spécifications<sup>2</sup>) qu'il a définis, pour correspondre aux besoins de ses clients (patients/prescripteurs). Il est important de démontrer que la méthode (généralement un couple analyseur/réactif) fonctionne correctement dans les conditions opératoires du laboratoire et qu'elle fournit des résultats sûrs et fiables pour les patients.

<sup>2</sup> Spécifications : correspondent aux limites d'acceptabilité ("seuils"), sont préalablement définies sur certains critères et doivent être remplies pour déclarer la méthode valide.

Il n'est pas demandé aux laboratoires d'effectuer de nouveau la caractérisation approfondie des méthodes ou des analyseurs. Des études ont déjà été réalisées par les fabricants qui annoncent les performances de leurs méthodes<sup>3</sup>. **Il est demandé aux laboratoires de procéder à une vérification indépendante avant la mise en application (cf. §5.5.1.2 de la norme NF EN ISO 15189), appelée vérification des performances sur site.**

En effet, de nombreux facteurs peuvent affecter les performances d'une méthode, comme par exemple :

- les changements de lot d'étalons et de réactifs, de consommables ou de fournisseurs d'accessoires,
- les conditions d'expédition et de stockage des réactifs,
- les conditions ambiantes locales (cas des déménagements, transferts, ...),
- la qualité de l'eau,
- la compétence (« habileté, dextérité ») de l'utilisateur (par ex : méthodes manuelles).

*Il appartient au biologiste de se référer à la documentation technique du fournisseur (notices, fiches techniques, références bibliographiques, ...). Il doit évaluer et apprécier ces informations à la lueur de recommandations ou de textes réglementaires, des attentes du prescripteur, des critères de performance proposés (SFBC, Ricos, GEHT, ...). Ce travail d'expertise est une partie intégrante du métier de biologiste médical. La vérification/validation proprement dite est ensuite effectuée. Le champ et la profondeur de cette évaluation dépendent des circonstances et de chaque cas particulier. Elle doit être initiale, puis se poursuivre dans le temps (changement de lots de réactifs [si effet de lot connu], extensions analytiques, maintenance lourde, changement de version de logiciel, ...).*

Dans certains cas, cette vérification est une simple confirmation, *a posteriori*, des performances d'une technique déjà en cours d'utilisation (par exemple dans le cas de laboratoires en démarche d'accréditation n'ayant pas procédé à une vérification/validation de méthode initiale, à l'installation).

D'une manière générale, la connaissance des performances de la méthode d'analyse utilisée est indispensable à la maîtrise de la fiabilité des résultats. Une méthode d'analyse présente plusieurs caractéristiques essentielles (fidélité, justesse, ...) que le laboratoire se doit de connaître. **La connaissance de ces critères peut être acquise par les données fournisseur, la bibliographie et/ou par l'expérimentation sur site (en portée de type B).**

## 7 PROCÉDURES ET ENREGISTREMENTS

### 7.1 Maîtrise de la documentation – méthodologie

L'élaboration de documents de vérification/validation est importante car si beaucoup d'informations et de résultats sont collectés, ceux-ci doivent faire l'objet d'une exploitation statistique des données et d'une synthèse dans un dossier cohérent et clair, avec une acceptation formelle par un responsable désigné de la validité opérationnelle de la technique.

<sup>3</sup> La nécessité de la validation des méthodes s'inscrit dans la mise en application de la directive européenne sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (directive européenne 98/79/CE du 27.10.1998) et de l'utilisation du marquage CE associé. Cette directive indique dans l'annexe I, exigences essentielles générales (A), point 3: "Les dispositifs doivent être conçus et fabriqués de manière qu'ils puissent être utilisés aux fins prévues à l'article 1er, paragraphe 2, point b), comme spécifié par le fabricant compte-tenu de l'état de la technique généralement reconnu" ("état de l'art").

Cette validation est de la responsabilité du fabricant et n'entre pas dans le champ de ce document.

Au préalable à cette déclaration d'aptitude, le laboratoire identifiera les informations suivantes :

- Besoins du laboratoire (utilisation prévue de l'examen)
- Processus simple/complexe
- Analyse des risques (pré, per, post-analytique)
- Documentation fournisseur
- Etude bibliographique
- Type de portée de la méthode choisie (A/B (modification/création))
- Critères de performance attendus définis (état de l'art, données Ricos, sociétés savantes, ...)
- Echantillothèque
- Existence de CIQ/EEQ – modalités de comparaison inter-laboratoires/intersites

Le dossier de vérification/validation (comprenant notamment les données sources, telles que les tickets analyseurs, les feuilles de paillasses de travail, documents d'enregistrement et/ou d'observation.) sera conservé pendant toute la durée d'utilisation de la méthode et sera archivé conformément aux exigences d'accréditation (cf. SH REF 02 §4.13).

Conformément à la procédure de vérification/validation (cf. [§7.2](#)), le dossier contient les items suivants :

- Présentation du processus analytique (étape(s), méthode(s), éléments à vérifier/valider),
- Maîtrise des risques,
- Détermination des critères de performances (paramètres) à vérifier (cf. [§9.6](#)),
- Détermination des spécifications ou limites acceptables (objectifs à atteindre) de ces critères (cf. [§9.6](#)),
- Vérification bibliographique,
- Plan d'expérience et mise en œuvre expérimentale dans le laboratoire (cf. [annexe 1](#)),
- Compilation et traitement statistique des données obtenues (cf. [annexe 3](#)),
- **Conclusion et décision** quant à la validation opérationnelle de la technique, au regard des spécifications (limites acceptables) initialement fixées.

Le formulaire présentant une synthèse de la vérification/validation sera demandé au laboratoire par le COFRAC pour établir l'expertise technique préalable à toute demande d'accréditation initiale, d'extension ou d'ajout. A cet effet, le document SH FORM 43 est mis à disposition des laboratoires sur le site internet du COFRAC. Si des documents de synthèse internes au laboratoire sont utilisés, ceux-ci devront comporter *a minima* les points abordés dans le document SH FORM 43.

## 7.2 Procédure de vérification / validation de méthodes

Pour respecter les exigences du § 5.5.1 des normes NF EN ISO 15189 & 22870 et § 5.4.1 de la norme NF EN ISO/CEI 17025, le laboratoire rédigera une procédure générale de vérification/validation des méthodes quantitatives et qualitatives précisant sa démarche et conservera les données expérimentales établies sur site dans le cas d'une portée de type A et/ou de type B. Cette procédure abordera les points suivants :

- 1) Modalités de description du processus analytique : le laboratoire décrira, du prélèvement au compte rendu, étape par étape, phase pré-analytique et prétraitement compris, les différentes étapes de la méthode (manuelle/automatique, processus simple/complexe, ...).

Le processus devra intégrer les notions d'expression des résultats (unités, résultat brut versus calcul ; cas de TQ/TP/INR), et de la disponibilité de la valeur des signaux mesurés (DO, RLU, ratio, ...) ;

- 2) Définition du mesurande : le laboratoire identifiera le triptyque analyte, matrice et unité. Attention, pour un analyte et plusieurs matrices, il sera nécessaire de procéder à une vérification/validation de méthode pour chaque matrice (urine, sang, LCR, ...) ;
- 3) Choix de la méthode : le choix devra tenir compte des performances analytiques de la méthode, qu'il faut décrire ;
- 4) Analyse de la bibliographie : afin de définir les critères attendus de performance, en rapport avec la pertinence clinique, et les limites d'acceptabilité. Préférer une bibliographie précise et étayée plutôt qu'une bibliographie très détaillée sans en extraire les éléments essentiels ;
- 5) Analyse des points critiques et maîtrise des risques : le laboratoire devra présenter sous forme de tableau, l'ensemble du processus, les risques encourus et les éléments de leur maîtrise. Tout risque non maîtrisé devra faire l'objet d'une vérification à rapporter dans le protocole de vérification/validation (cf. étape n°7) ;
- 6) Décision du type de portée flexible (A ou B) pour chaque méthode/étape/sous-processus (cf. SH REF 08) ;
- 7) Définition du protocole de vérification/validation sur site en fonction des critères définis à l'étape n°4 : Un plan d'expérience adapté et statistiquement valide est nécessaire. Le laboratoire définira les critères de performance à vérifier pour déclarer la mise en service de la méthode. C'est dans ce protocole que l'on trouvera toutes les justifications concernant les vérifications faites qui seront d'autant plus simples que le laboratoire suit *stricto sensu* les étapes préconisées par le fabricant ;
- 8) Exploitation statistique des données issues du protocole : c'est lors de cette étape que l'on doit retrouver, pour chaque critère de performance mesuré, sa conformité par rapport aux objectifs préalablement choisis (cf. étape n°4) ;
- 9) Concordance de méthode / d'analyseurs / de modules : lors du changement d'un analyseur, d'une méthode, d'un réactif, ..., le laboratoire devra comparer la nouvelle méthode à celle qu'il remplace.  
En cas d'analyseurs en miroir, back up, EBMD, ..., il est nécessaire d'établir une comparaison afin d'assurer la cohérence biologique des dossiers patients lorsque les mêmes examens sont traités par plusieurs analyseurs.
- 10) Prise en compte des transferts informatiques entre l'automate et le SIL et/ ou le middleware. Les preuves de cette validation doivent être conservées ;
- 11) Conclusion : une conclusion sur l'aptitude de la méthode doit être clairement établie par un biologiste avec date et signature. Des commentaires peuvent être faits si besoin pour améliorer la pertinence de ce document.

### 7.3 Procédure de gestion de portée flexible

De même, l'adoption de portée de type flexible, s'accompagne d'une procédure dite de « gestion de la portée flexible » (ou encore « gestion des changements techniques ») listant l'ensemble des opérations à réaliser pour maîtriser le processus lors d'un changement (de méthode, de réactif, d'analyseur, ...) pour une compétence déterminée (ou ligne de portée telle que décrite dans le document SH INF 50). Le laboratoire doit mettre en place une procédure spécifique destinée à maîtriser les changements de méthodes intégrant notamment la vérification/validation de méthodes, la formation et l'habilitation du personnel, les locaux, la gestion des équipements, les contrôles de qualité, ... Cette procédure décrit l'ensemble des étapes en partant du besoin initial du laboratoire (nouvel automate, évolution de méthodes, ...) jusqu'à la mise à jour de la liste détaillée des examens et la communication au COFRAC, avec les responsabilités associées à chacune des étapes (cf. document SH REF 08).

Cette procédure de gestion de la portée flexible est destinée à passer en revue les processus mis en jeu lors de toute modification. Elle peut se rapporter à la procédure de validation de méthode et renvoie à la maîtrise des éléments suivants :

- Achats (cahier des charges, ...),
- Processus pré-analytique (prélèvement, conditions de transport, tubes, ...),
- Revue des contrats de prestations,
- Processus analytique,
- Liste des méthodes analytiques employées,
- Formation/habilitation/réévaluation du personnel et responsabilités (notamment pour le processus de validation de méthodes),
- Conditions environnementales,
- CIQ, EEQ,
- Informatique (connexion et paramétrage),
- Processus post-analytique :
  - o Intervalle de référence et interprétations,
  - o Validation des résultats,
  - o Biothèque et rajouts d'examens
  - o Gestion du compte-rendu
- Intégration des processus suivants dans le programme d'audit interne et la revue de direction :
  - o Revue des méthodes révisées
  - o Confirmation et autorisation d'emploi des méthodes reconnues
  - o Ajout de méthodes dans la portée d'accréditation
  - o Adaptation et développement de méthodes
- Information aux clients et au COFRAC

## 8 GESTION DES RISQUES

Pour respecter les exigences normatives et en particulier celles du §4.14.6 de la norme NF EN ISO 15189, le laboratoire doit tout mettre en œuvre pour réduire et/ou éliminer les risques potentiels identifiés. Les risques potentiels dans un laboratoire de biologie médicale sont de fournir des résultats erronés, trop tardifs, inexacts ou accompagnés d'une interprétation inappropriée pouvant avoir un impact sur le diagnostic ou le traitement médical.

La gestion des risques de chaque processus comporte plusieurs étapes :

- l'identification des risques potentiels
- l'estimation du risque (gravité, fréquence et détectabilité)
- la maîtrise du risque

Les risques peuvent être identifiés à partir de l'étude de l'étendue des non-conformités et des réclamations. Les risques potentiels peuvent être identifiés soit à partir des analyses de tendance (contrôles de qualité interne, suivi métrologique, ...), soit à partir de l'étude minutieuse des processus en mettant en évidence les étapes sensibles lors de leur réalisation.

L'estimation du risque permet de hiérarchiser / prioriser les actions de maîtrise à mettre en place. Le laboratoire pourra ainsi établir une échelle de criticité tenant compte notamment de la fréquence et de la gravité des évènements indésirables afin de les maîtriser. Le laboratoire s'appuiera sur des actions préventives destinées à les réduire ou à les éliminer.

La maîtrise des risques dans le cadre de la vérification / validation de méthodes consistera à identifier les critères de qualité de la méthode et les étapes critiques de la phase analytique à maîtriser. La méthode des 5M pourra être utilisée en envisageant tous les points critiques concernant les locaux et conditions environnementales (agencement, température, ...), les réactifs (préparation, variations lot à lot et stabilité), les équipements (respect des modes opératoires et instructions fournisseur, maintenance, étalonnage, raccordement métrologique), le personnel (formation, évaluation des compétences), la méthode (critères de performance : fidélité, justesse, incertitudes, interférences...), sans négliger les critères de qualité des échantillons analysés.

## 9 VERIFICATION / VALIDATION SUR SITE DES PERFORMANCES D'UNE METHODE

Il existait deux formulaires différents et complémentaires pour présenter les données de vérification/validation de méthodes (SH FORM 43 et 44). Dans un objectif d'adaptation à l'**approche processus** de la version 2012 de la norme NF EN ISO 15189, il ne subsiste qu'un **formulaire unique** qui **synthétise** l'ensemble des items nécessaires.

Le nouveau formulaire SH FORM 43 est constitué de plusieurs feuillets :

- les folios 1 et 2 sont destinés à l'identification du ou des processus à vérifier/valider et à présenter le processus de vérification/validation,
- les folios suivants (3 à 8), reprennent les critères de performance que le laboratoire évaluera afin de réaliser sa vérification/validation de méthode.

Pour un processus complexe, ces folios seront dupliqués autant de fois que nécessaire pour aborder chacune des étapes constitutives du processus.

Le présent chapitre se propose d'illustrer les principales étapes définies dans le §[7.2](#).

## 9.1 Description du processus

Le laboratoire décrira l'examen réalisé en termes d'étape(s) (voir exemples en [annexe 2](#)). Les paragraphes 9.2, 9.3, 9.4 et 9.6 seront dupliqués en fonction des besoins, en cas d'étapes multiples pour un processus complexe.

## 9.2 Description de la méthode

DESCRIPTION DE LA METHODE	
<b>Analyte/Mesurande :</b>	cf. §7.2 du présent guide
<b>Principe de la Méthode :</b>	Cette information est retrouvée sous le terme de « principe général des techniques » dans le SH INF 50 (colonne « principe de la méthode »)
<b>Type d'échantillon primaire :</b>	Préciser la matrice : urine, sang total, sérum, plasma, ADN, tissu congelé/fixé ...
<b>Type de récipient, additifs :</b>	Préciser le type de contenant : tube/additif/presence ou non d'un séparateur, flacon/milieux de transport, écouvillon...
<b>Prétraitement de l'échantillon :</b>	Modalités de prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, acidification, alcalinisation, extraction ...):
<b>Unités :</b>	Mode d'expression du résultat (unités, ratio, ...)
<b>Critères d'interprétation<sup>4</sup> :</b>	Intervalles de référence : origine et définition par critères démographiques ; valeurs seuils, ...
<b>Marquage CE (Oui/Non) :</b>	Marquage CE (Oui/Non)
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe)<sup>5</sup> :</b>	Consulter le site de l'ANSM, pour <a href="#">l'année en cours</a> et pour <a href="#">les années précédentes</a>
<b>Equipement (instrument, analyseur, etc.) :</b>	marque modèle, référence
<b>Référence du réactif :</b>	référence fournisseur, version notice
<b>Matériau d'étalonnage (références) :</b>	Nature et raccordement métrologique
<b>Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :</b>	Type d'étalonnage (linéaire, non linéaire), préciser le nombre de niveaux et les valeurs des niveaux

## 9.3 Mise en œuvre

MISE EN ŒUVRE	
<b>Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :</b>	identité de(s) l'opérateur(s) du laboratoire
<b>Procédure de validation/mode opératoire :</b>	référence et version de la procédure utilisée
<b>Procédure de gestion de la portée flexible :</b>	référence et version de la procédure utilisée
<b>Période d'étude<sup>6</sup> :</b>	<b>Préciser Du :</b> xx/xx/xx au xx/Xx/xx Préciser si reprise des résultats antérieurs
<b>Date de 1e utilisation<sup>7</sup> :</b>	préciser xx/xx/xx (ex : mise en route de l'analyseur)

Rappel : pour les laboratoires accrédités, et dans le cadre de la portée flexible, la vérification/validation doit toujours précéder l'autorisation d'aptitude de la méthode.

## 9.4 Maîtrise des risques

Le tableau ci-dessous propose un modèle selon une analyse 5M et la méthode AMDEC. Le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé, certaines lignes devront être ajoutées et d'autres pourront être supprimées.

<sup>4</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

<sup>5</sup> Lorsque les tables de codage de l'ANSM ne mentionnent pas le réactif concerné, le laboratoire indiquera "non codé par l'ANSM".

<sup>6</sup> Certains résultats peuvent provenir de périodes antérieures dans le cas d'une méthode déjà utilisée (cf. § 5.5.1.2/5.5.1.3 SH REF 02). Dans ce cas, le laboratoire justifiera du maintien des performances de la méthode.

<sup>7</sup> La date de 1e utilisation peut être antérieure dans le cas d'une méthode déjà utilisée

MAITRISE DES RISQUES <b>(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)</b>				
5M	Points critiques	Echelle de criticité <sup>8</sup>	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
<b>Matière (échantillons)</b>	Identité		Formation et information du personnel	Procédure d'identitovigilance du laboratoire
	Préparation du patient		Information des patients et préleveurs	Instructions de prélèvement
	Type de contenants		Formation des préleveurs	Instructions de prélèvement, modalités de transport, ...
	Nature et volume de l'échantillon		Contrôle à réception	Critères d'acceptation/de refus
	Délai et température avant traitement analytique		Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	
	Interférences		Formation des préleveurs Contrôle à réception	
	...			
<b>Milieu</b>	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)		Métrologie/suivi des enceintes	Instructions de conservation Enregistrements métrologiques
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)			
	Exigences environnementales pour le matériel ou l'opérateur		Conditions environnementales (statiques et/ou dynamiques dans le temps) Lecture à la lumière du jour	Exigences / manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrements des conditions environnementales
	...			

<sup>8</sup> A définir pour chaque item, sur une base numérique ou qualitative. Le laboratoire identifiera et évaluera le niveau de criticité pour chaque étape du processus et adaptera son niveau de maîtrise en conséquence.

MAITRISE DES RISQUES <b>(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)</b>				
5M	Points critiques	Echelle de criticité <sup>8</sup>	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
<b>Matériel (équipements)</b>	Qualité de l'eau		Mesure de la résistivité / stérilité	Traçabilité des vérifications
	Surveillance des dérives		Périodicité des maintenances Maîtrise des équipements (suivi métrologique, raccordement, ...)	Enregistrements des maintenances Traçabilité métrologique, CIQ/EEQ
	Contamination		Respect des conditions opératoires du fournisseur	Bibliographie et/ou enregistrement de l'essai sur site
	Informatique embarquée		Paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données, ...	Enregistrements des jeux d'essai
	...			
<b>Matériel (réactifs)</b>	Conservation et conditions d'utilisation		Métrie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiches fournisseur Traçabilité métrologique
	Gestion des stocks		Acceptation à réception des réactifs Gestion des stocks	Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation à chaque livraison)
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles		Métrie des pipettes Respect du mode opératoire de reconstitution	Traçabilité métrologique Instructions de reconstitution
	...			
<b>Méthode</b>	Limites de la méthode (déttection, quantification, linéarité, interférences, ...)		Limite de détection, limite de quantification, linéarité, interférences, ... Sensibilité, spécificité	Voir § <a href="#">9.6.1.7</a>
	Incertitudes de mesure		Calcul des incertitudes de mesure (non quantifiable pour les méthodes qualitatives)	Voir § <a href="#">9.6.1.5</a>
	...			

MAITRISE DES RISQUES <b>(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)</b>				
5M	Points critiques	Echelle de criticité <sup>8</sup>	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		Formation et évaluation des compétences du personnel, plan de formation Disponibilité du personnel pour assurer le respect de la procédure (par exemple tests à lecture subjective)	Enregistrements des compétences du personnel Traçabilité de l'occupation des postes de travail
	...			

## 9.5 Identification des performances à évaluer

La trame du SH FORM 43 est destinée à répondre aux différents cas rencontrés en biologie médicale. Les laboratoires seront attentifs au choix des éléments pertinents à rapporter, sachant que l'ensemble des éléments présentés dans le tableau ci-dessous correspond à la totalité des critères qu'il est possible d'évaluer lors d'une vérification/validation de méthode.

**Tableau résumé des performances à évaluer lors d'une vérification/validation de méthode quantitative ou qualitative (selon NATA note n°17 – juin 2012) :**

CRITERES A EVALUER	Vérification (portée A)		Validation (portée B)	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
<b>Fidélité</b> (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai	Essai	Essai
<b>Justesse/exactitude</b> (approche)	Essai	Essai	Essai	Essai
<b>Incertitudes/facteurs de variabilité</b> et évaluation	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité
<b>Comparaison</b> avec méthode déjà utilisée au laboratoire ou autre méthode du laboratoire (appareil en miroir <sup>9</sup> , EBMD) et analyse des discordances <sup>10</sup>	Essai	Essai	Essai	Essai
Intervalle de mesure <b>(Limite de quantification et limites de linéarité)</b>	Bibliographie	/	Essai	/
<b>Interférences</b> (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments, ...)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Contamination</b> entre échantillons (s'il y a lieu)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Robustesse</b>	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Stabilité réactifs</b> (après ouverture, embarqués)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Intervalle de référence</b> (valeurs usuelles)	Bibliographie (fournisseur ou autre, s'assurer de la cohérence avec l'état de l'art)	Bibliographie	Essai	Essai
<b>Limite de détection</b>	/	Bibliographie	/	Essai
<b>Spécificité/sensibilité analytique</b>	/	Bibliographie	/	Essai
<b>Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude<sup>11</sup> de la méthode ou du système analytique.</b>				

<sup>9</sup> Appareils en miroir : privilégier les appareils utilisant des techniques de principes analytiques identiques sinon il est possible d'utiliser des codes examens différents pour le même paramètre ou d'utiliser un facteur de corrections (pour les techniques linéaires) **de manière transitoire**. Le laboratoire doit avoir une stratégie d'uniformisation des techniques pour un même paramètre.

<sup>10</sup> Pour les examens fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (absorbance par exemple), avec un effet de seuil (étude des faux positifs et des faux négatifs par exemple).

<sup>11</sup> En cas de dépassement des spécifications choisies *a priori* par le laboratoire, celui-ci justifie l'acceptation des écarts pour pouvoir conclure à l'aptitude de la méthode et l'enregistre.

Le dossier de vérification/validation peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement référencés et accessibles.

*Ce tableau récapitule les différents cas de figure. Il constitue une base de travail. Cependant, dans certaines situations, des essais pourront être ajoutés ou supprimés (ceci devant être argumenté).*

## 9.6 Vérification des critères de performances et méthodes de calcul

Le laboratoire établit les critères de performance de sa méthode. Il les compare aux données de référence dont il dispose (fournisseur, bibliographie, sociétés savantes, ...) et conclut quant à l'acceptabilité de sa méthode en fonction de ses besoins vis-à-vis du critère testé. Les échantillons utilisés devront être décrits. Toute discordance avec les performances annoncées par le fournisseur sera investiguée.

*Rappel : tous les éléments décrits ne sont pas nécessairement abordés, notamment dans le cadre de méthodes adoptées.*

### 9.6.1 Vérification/validation d'une méthode quantitative

#### 9.6.1.1 Evaluation de la répétabilité

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. L'évaluation de la répétabilité est indispensable lors de l'installation d'un nouvel analyseur afin de connaître les performances initiales.

Ce calcul est répété pour **chacune des matrices** (sérum, urine, LCR,...) soumises à analyse, en utilisant des échantillons biologiques ou des échantillons du contrôle interne de Qualité (CIQ). Pour un même analyseur, ce calcul doit être effectué pour **chaque analyte** à mesurer et à **plusieurs niveaux de concentration**.

Il peut être nécessaire de réitérer des essais de répétabilité pour vérifier le bon fonctionnement du système notamment après une intervention importante (panne, maintenance,...).

Les résultats obtenus sont comparés aux CV annoncés par le fournisseur et/ou à d'autres critères (sociétés savantes...).

REPETABILITE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>12</sup> )	Conclusion <sup>13</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, ...)		Niveaux testés					

Argumentaire de la conclusion :

<sup>12</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>13</sup> Conforme/non conforme

#### 9.6.1.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)

Il est souhaitable que les niveaux testés pour évaluer la fidélité intermédiaire soient identiques à ceux testés en répétabilité (établissement de la robustesse).

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 paramétriser les critères d'acceptation des antériorités en combinaison avec les variations biologiques notamment dans le cas de systèmes d'aides à la décision.

Lorsque les résultats obtenus sont supérieurs aux limites de conformité préétablies, le laboratoire vérifiera si les différences observées, compte tenu du nombre de valeurs et du niveau de concentration des échantillons, sont significatives et les confrontera aux exigences cliniques.

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournissoeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>10</sup> )	Conclusion <sup>11</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, ...)		Niveaux testés					

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.3 Justesse

La justesse est l'étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence (ou valeur vraie).

Dans les LBM, les matériaux de référence certifiés sont peu utilisés en pratique courante ; il est donc difficile de parler *stricto sensu* de « valeur vraie » et par là-même de justesse.

Une approche de la justesse peut être envisagée en comparant la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible, assimilée à la « valeur vraie ». L'écart observé correspond au biais. Le biais peut être évalué à partir des résultats obtenus avec des échantillons de contrôle titrés ou des valeurs observées dans des programmes de contrôle interne couplés à une comparaison inter-laboratoire (externalisation des CIQ).

La valeur assignée peut être biaisée, et devrait, idéalement, être déterminée grâce à une méthode de référence dont les résultats sont traçables au SI ou aux étalons internationaux.

La commutabilité des échantillons, c'est-à-dire leur capacité à se comporter comme des échantillons réels (échantillons de patient) quelle que soit la méthode utilisée, doit être prise en compte. En effet, les effets de matrice engendrés par les différents traitements subis par les échantillons de contrôle durant leur préparation (lyophilisation, congélation, ajout de conservateur, surcharge, mélange, ...) peuvent être à l'origine de biais qui ne sont pas retrouvés avec des échantillons patients.

La connaissance de la valeur vraie repose actuellement sur les valeurs assignées associées aux échantillons de contrôle. Ce sont des valeurs consensuelles (moyenne de l'ensemble des participants (si les seuils de décision pour l'examen concerné sont standardisés (HAS, consensus, ...)) ou moyenne par groupe de pairs en fonction des méthodes, des analyseurs ou des fournisseurs).

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) limite <sup>10</sup>	Conclusion <sup>11</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								
Echantillon CIQ niveau 2								

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.4 Exactitude

L'exactitude est définie comme l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie d'un mesurande. Comme la justesse, l'exactitude devrait être vérifiée à partir d'étalons primaires, de matériaux de référence certifiés (MRC) ou de méthodes de référence traçables au SI ou à des étalons internationaux. A ce jour, les laboratoires évaluent l'exactitude à partir des résultats des Evaluations Externes de la Qualité.

Une étude d'exactitude correspond à la comparaison du résultat **d'un seul dosage** d'un échantillon inconnu à une valeur cible consensuelle (cf. §6.1.3). **L'écart observé correspond à l'inexactitude (erreur d'exactitude).**

L'évaluation de l'exactitude est pertinente lorsque le nombre de participants à l'EEQ est suffisant (cf. SH REF 02 §4.6).

Il est rappelé qu'une analyse des résultats obtenus lors des campagnes d'EEQ est nécessaire à l'octroi ou au maintien de l'accréditation (cf. SH REF 02 §§5.6.4, 5.6.5 & 5.6.7).

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons <sup>14</sup>	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite <sup>10</sup>	Conclusion <sup>11</sup>

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.5 Incertitude de mesure

La norme NF EN ISO 15189 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).

<sup>14</sup> les échantillons testés correspondent aux EEQ/CNQ

La démarche est de définir le mesurande et d'analyser le processus de mesure :

- identifier les facteurs susceptibles d'influencer le résultat de mesure ;
- identifier, parmi ceux-ci, ceux dont l'influence est considérée comme non significative, en précisant les raisons de cette décision (preuve ou élément connu)
- apporter la preuve de la maîtrise des facteurs qui ont une influence significative sur les résultats.

Elle est à poursuivre, en application des directives d'EA, pour l'expression de l'incertitude pour les essais quantitatifs (document EA 4/16), en mettant en œuvre une méthode d'évaluation de l'incertitude en fonction des informations disponibles.

Le document SH GTA 14 a été rédigé pour aider les laboratoires à la détermination de l'incertitude de mesure.

L'incertitude doit faire l'objet d'une réévaluation régulière (une périodicité annuelle est recommandée).

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
<b>Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :</b>	Formule utilisée	Référence
<b>Quantification de l'incertitude (niveau 1) :</b>	Niveau 1 en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau 1 en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
<b>Quantification de l'incertitude (niveau 2) :</b>	Niveau 2 en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau 2 en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
<b>Quantification de l'incertitude (niveau xxx) :</b>	Niveau xxx en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau xxx en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) :

#### 9.6.1.6 Comparaison de méthodes

Dans le cadre d'appareils en miroir, la comparabilité des résultats doit être assurée, lors de la validation initiale, et de façon continue (cf. ISO 15189 § 5.6.4).

Un tableau ([annexe1 §8](#)) présente le cas de la comparaison de deux analyseurs. Dans le cas de la comparaison de plus de deux analyseurs, une analyse adaptée des résultats devra être effectuée (cf. [annexe 3](#)).

Si des différences significatives sont observées, le biologiste médical formalise la conduite à tenir :

- Adaptation des intervalles de référence,
- Information des cliniciens prescripteurs,
- Utilisation **transitoire et documentée** d'un facteur de correction (attention aux problèmes d'interprétation des résultats de comparaisons inter-laboratoires avec les EEQ ou les CIQ externalisés),
- Rejet de la méthode si elle ne correspond pas au cahier des charges initial.

Remarques :

- Après établissement du graphique des différences (différences observées en fonction du niveau de concentration), les valeurs discordantes éventuelles devront être exploitées par le laboratoire afin de mener une analyse des causes et une analyse d'impact sur les divergences constatées entre les 2 méthodes testées.
- Changement d'analyseur : en cas d'impossibilité d'évaluer le nouvel analyseur en parallèle avec le précédent (par exemple manque de place pour positionner les 2 analyseurs dans le laboratoire), le laboratoire établit dans sa procédure de gestion de portée flexible les opérations réalisées *a minima* avant d'effectuer des examens pour les patients.

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Références méthodes
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Appareils en miroir : préciser les références des appareils comparés
Nombre de mesures :	30
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Préciser les valeurs minimum et maximum de l'étendue des mesures
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres rectangles, moindres carrés, passing et bablok ...
Equation de la droite de régression :	$Y = ax + b$
Diagramme des différences et/ou des rapports :	Indiquer le nombre de déviants après les avoir vérifiés et documentés

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.7 Etendue de mesure

L'étendue de mesure comprend la limite de détection, la limite de quantification et la limite supérieure de linéarité.

Limite de détection : 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 (en chromatographie, la limite de détection peut être déterminée comme étant égale au triple de l'écart-type obtenu à partir du signal correspondant à la ligne de base mesuré 10 fois).

L'étude de la limite de détection est basée sur l'analyse statistique de la différence de signaux observés entre les blancs et les échantillons.

Pour les méthodes qualitatives, la limite de détection correspond au seuil de positivité.

Limite de quantification : 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.

#### Limite de linéarité

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 (s'assurer de l'adéquation du diluant nécessaire et des pipettes utilisées). La limite supérieure de linéarité et la limite de quantification permettent de définir le domaine de mesure de la méthode.

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Limite de détection :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite de quantification :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite supérieure de linéarité :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.8 Interférences et spécificité analytique

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.

Une étude expérimentale pertinente doit être effectuée dans le cas d'une portée de type B afin d'établir l'influence de substances présentes dans la matrice et potentiellement interférentes.

#### **INTERFÉRENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)**

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)

Applicable  ; non applicable

Hémolyse	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)
Turbidité	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)
Bilirubine, ictere	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)
Médicaments	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge
...	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.9 Contamination

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).

##### Contamination inter échantillons :

Une étude de contamination inter-échantillon est à effectuer pour tous les systèmes automatisés. Elle porte surtout sur les analytes qui peuvent être affectés par ce phénomène en raison des variations physiologiques observées en pratique courante ( $\beta$ -HCG, Antigène HBs, ...). Cette étude sera répétée en cas de doute sur le fonctionnement du système automatisé, et en particulier du système de lavage et/ou de décontamination.

Compte tenu de l'importance clinique de certains examens, le niveau de la contamination doit être proche de zéro ou susciter la définition de règles de vérification systématique à chaque fois qu'un échantillon présente une valeur susceptible de contaminer l'échantillon suivant et de produire un résultat erroné.

##### Contamination inter-réactifs :

Le phénomène de contamination inter-réactifs peut se produire sur un analyseur lorsque le système de distribution est commun à tous les réactifs.

#### **CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)**

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, $\beta$ HCG) :	Préciser les données fournisseur ou les résultats de l'essai de surcharge
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides) :	Préciser les données fournisseur ou les résultats de l'essai sur site

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.10 Robustesse et stabilité des réactifs

##### Robustesse

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

Ces variations, faibles, correspondent à l'écart d'un paramètre opératoire par rapport à sa valeur nominale définie dans la méthode. Certains paramètres peuvent avoir une influence comme par exemple :

- la température d'incubation : vérifier que l'incubateur atteint bien le point de consigne sans dépassement supérieur lors de la stabilisation,
- les effets de bords sur microplaques : vérifier l'influence éventuelle sur la qualité des résultats de la position de l'échantillon en différents emplacements de la plaque,
- la composition d'une phase mobile en CLHP (pH, teneur en solvant,...).

##### Stabilité des réactifs

Dans le cas de réactifs fabriqués par le laboratoire, celui-ci devra établir les conditions de stabilité (température, durée de conservation, ...). Pour les réactifs correspondants à des DM-DIV, le laboratoire notera les préconisations relatives à la stabilité des réactifs définies par le fournisseur (température et durée de conservation avant/après ouverture, conservation embarquée sur l'analyseur, ...).

<b>ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS</b> <b>(étude expérimentale indispensable en portée B)</b> <b>(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)</b>	
Eléments critiques testés (t°, pH, position sur un support, ...)	Préciser les données fournisseur ou essai sur site
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	Préciser les données fournisseur ou essai sur site

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.11 Intervalle de référence et/ou valeurs seuils

L'intervalle de référence et les seuils de décision médicale seront définies et documentées 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.

Dans le cas d'un examen en portée de type B, le laboratoire devra définir ses propres intervalles de référence ou les seuils de décision médicale correspondants.

<b>INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)</b>	
Valeurs de référence	Préciser les données fournisseur ou les résultats des essais pratiqués

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.1.12 Déclaration d'aptitude

Une conclusion argumentée, à partir des limites d'acceptation définies au préalable, doit finaliser l'acceptation de la méthode (par une personne compétente et habilitée à cet effet, cf. ISO 15189 §5.5.1.3).

DECLARATION d'APTITUDE	
Conclusion :	
Autorisée par :	
Signature	

*Rappel :*

*La confirmation des performances de la méthode est nécessaire dans la pratique quotidienne. Pour maîtriser pleinement une méthode, l'utilisation, la gestion et le suivi des contrôles internes de qualité (CIQ) et des évaluations externes de la qualité (EEQ) sont indispensables. Leur exploitation statistique permettra de vérifier et de confirmer notamment la fidélité et la justesse de la méthode (cf. SH GTA 06).*

#### 9.6.2 Vérification d'une méthode qualitative

Dans le cadre d'une technique qualitative, la vérification expérimentale sur site est plus réduite, et s'appuie fortement sur des études de risques (méthode des 5M), sur l'habilitation des opérateurs, ou sur l'étude des performances des Evaluations Externes de la Qualité.

Le laboratoire établit les critères de performance de la méthode utilisée. Il les compare aux données de référence dont il dispose (fournisseur, bibliographie, sociétés savantes, ...) et conclut quant à l'acceptabilité de sa méthode en fonction de ses besoins vis-à-vis du critère testé. Toute discordance avec les performances annoncées par le fournisseur ou avec les performances de la précédente méthode sera investiguée.

##### 9.6.2.1 Variabilité inter-opérateurs

La variabilité inter-opérateurs constitue un indicateur de la maîtrise de la réalisation des méthodes non automatisées (cf. annexe 3). Un moyen d'assurer cette maîtrise repose sur la vérification de la compétence des opérateurs (habilitation). Des critères objectifs pourront être établis, par exemple, par l'intermédiaire d'une analyse de la robustesse.

VARIABILITE INTER-OPERATEURS	
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Opérateur évalué 1	Essai sur site – résultats de la variabilité
Opérateur évalué 2	
...	

Argumentaire de la conclusion :

##### 9.6.2.2 Sensibilité, spécificité analytiques, justesse et fidélité

Les concepts de sensibilité et de spécificité sont utilisés pour les tests dichotomiques (oui/non, positif/négatif, etc.). La sensibilité et la spécificité d'un test donnent une appréciation de sa validité intrinsèque.

La valeur prédictive positive (VPP) est la probabilité que la maladie soit présente lorsque le test est positif. La valeur prédictive négative (VPN) est la probabilité que la maladie ne soit pas présente lorsque le test est négatif.

En microbiologie, en particulier pour les tests d'identification ou les tests de sensibilité aux antimicrobiens, la notion de concordance est préférable aux notions de sensibilité et de spécificité : concordance au genre et à l'espèce pour les identifications, concordance à la classe de catégorisation S (sensible) / I (intermédiaire) / R (résistant) pour les sensibilités aux antimicrobiens.

*Il est souvent très difficile pour les laboratoires d'obtenir des échantillons positifs (ou négatifs) en nombre suffisant pour vérifier la spécificité et la sensibilité diagnostique d'une méthode en raison d'un recrutement parfois insuffisant (techniques de RAI, de groupage, de sérologies, dépistage du paludisme, des parasitoses digestives, ...). La vérification bibliographique critique prend donc ici toute son importance.*

Selon NATA note technique n°17, à partir des VP, FP , VN et FN, il est possible de calculer une approche de la fidélité et de la justesse d'une méthode, lorsque le recrutement est suffisant et qu'une **méthode de référence / diagnostic définitif est disponible** :

$$\text{Fidélité (\%)} = \frac{VP}{VP + FP} \times 100$$

$$\text{Justesse (\%)} = \frac{VP + VN}{VP + VN + FP + FN} \times 100$$

Une méthode qualitative sera d'autant plus fidèle et juste que les valeurs obtenues seront proches de 100 lorsqu'elles sont exprimées en %.

<b>SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE</b> (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A)	
Vrais positifs	Spécificité, sensibilité, VPN, VPP
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.2.3 Incertitude de mesure

Dans le cas des méthodes qualitatives le laboratoire doit procéder à une analyse du processus, afin d'établir les éléments de variabilité du processus. Cette analyse doit être réalisée en prenant en compte l'intégralité du processus analytique, et elle consiste à :

- identifier et inventorier tous les facteurs susceptibles d'influencer le résultat, au même titre que dans le cas des méthodes quantitatives ;
- justifier l'influence jugée non significative de certains facteurs ;
- montrer comment sont maîtrisés les facteurs dont l'influence est significative, de manière à minimiser les risques et les erreurs.

A l'issue de cette analyse, une estimation des principales composantes d'incertitude sera conduite ainsi que leur impact sur les résultats. S'il persiste des facteurs d'influence significative ne pouvant être totalement maîtrisés, leur impact sur le résultat doit être évalué

et le cas échéant faire l'objet d'une information au prescripteur si elle est importante pour la validité des résultats (cf. SH GTA 14).

Voir tableau de performance en [§9.6.1.5.](#)

#### 9.6.2.4 Approche de la limite de détection

Le terme limite de détection est utilisé pour décrire la plus petite valeur de mesurande dont une procédure analytique peut indiquer la présence avec un niveau de confiance spécifié. Elle est également appelée «concentration détectable minimale».

<b>LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B)</b> <b>(étude expérimentale possible si pertinente en portée A)</b>	
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
<b>Limite de détection :</b>	LD trouvée ou référence bibliographique

Argumentaire de la conclusion :

#### 9.6.2.5 Comparaison de méthodes

Le laboratoire pourra comparer les résultats d'une méthode en cours de vérification, soit à la méthode précédemment utilisée, soit à la méthode automatisée (ex : recherche de sang dans les selles, cytologie urinaire, ...). Il évaluera alors l'impact des discordances éventuelles.

Lors de la mise en place d'une nouvelle méthode, le laboratoire pourra échanger des échantillons positifs/négatifs avec un autre laboratoire pour vérifier la concordance des résultats obtenus avec la méthode en cours de vérification/validation.

Voir tableau de performance en [§9.6.1.6.](#)

#### 9.6.2.6 Interférences

Le laboratoire effectuera *a minima* une étude bibliographique des interférences potentielles décrites dans la notice fournisseur. Des essais de surcharge pourront être réalisés.

Voir tableau de performance en [§9.6.1.8.](#)

#### 9.6.2.7 Contamination

Le laboratoire évaluera et maîtrisera les potentiels cas de contamination inter-échantillons et/ou inter-réactifs (ex : méthodes de biologie moléculaire).

Voir tableau de performance en [§9.6.1.9.](#)

#### 9.6.2.8 Robustesse

Voir tableau de performance en [§9.6.1.10.](#)

#### 9.6.2.9 Intervalle de référence et/ou valeurs seuils

L'intervalle de référence et les seuils de décision médicale seront définies et documentées 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. En outre, le laboratoire définira une conduite à tenir en cas de résultats « douteux » (ni positifs, ni négatifs).

Voir tableau de performance en [§9.6.1.11.](#)

#### 9.6.2.10 Déclaration d'aptitude

Une conclusion argumentée, à partir des limites d'acceptation définies au préalable, doit finaliser l'acceptation de la méthode.

##### DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion :

Autorisée par :

Signature

Rappel :

Comme pour les méthodes quantitatives, la confirmation des performances de la méthode est nécessaire dans la pratique quotidienne. Pour maîtriser pleinement une méthode, l'utilisation, la gestion et le suivi des contrôles internes de qualité (CIQ) et des évaluations externes de la qualité (EEQ) sont indispensables. Leur exploitation statistique permettra de vérifier et de confirmer notamment la fidélité et la justesse (ou exactitude) de la méthode (cf. SH GTA 06).

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FONCTION

## 10 ANNEXE 1 : METHODES DE CALCUL DES CRITERES DE PERFORMANCES

Cette annexe décrit des principes méthodologiques ou des recommandations permettant de vérifier les critères de performance essentiels d'une méthode :

- Répétabilité,
- Fidélité intermédiaire au laboratoire (Reproductibilité intra-laboratoire),
- Variabilité inter-opérateurs (pour les techniques manuelles), ...
- Justesse,
- Exactitude,
- Incertitude de mesure,
- Etendue de mesure : limite de détection, limite de quantification, limite de linéarité,
- Comparaison de méthodes,
- Interférences et spécificité analytique,
- Contamination inter-échantillons et inter-réactifs,
- Robustesse et stabilité des réactifs,
- Vérification des intervalles de référence,

**Le nombre de détermination à prévoir dépend de la cadence de l'analyseur à valider, du coût des réactifs, ... En général, l'effectif est de 30 pour une interprétation statistique optimale. Un nombre d'essais inférieur devra être argumenté en fonction de critères pertinents (rareté de la matrice, coûts des analyses, durée d'analyse, ...). La valeur statistique des résultats obtenus sera d'autant plus réduite que ces effectifs seront faibles (les calculs et tests employés devront tenir compte de ces effectifs).**

**NOTE 1 :** Après la présentation du mode de détermination de la fidélité (reproductibilité intra-laboratoire) et de la justesse des méthodes, il est indiqué en exemple d'application, une approche de l'estimation de l'incertitude de mesure. Les laboratoires peuvent s'en inspirer mais d'autres démarches sont possibles, elles devront être justifiées.

**NOTE 2 :** Ce dossier peut, dans certains cas, être constitué au cours du travail du laboratoire (lorsqu'il est impossible d'utiliser simultanément l'ancien et le nouveau système analytique). Dans ce cas la période doit être la plus courte possible, le rappel éventuel de résultats de patients doit être documenté. Il est souhaitable de prévoir une sérothèque (échantillothèque) adaptée à ces essais afin de pouvoir assurer un raccordement entre deux techniques successives. En cas de modification de technique ou d'un couple analyseur/technique il est souhaitable, dans la mesure du possible, de pouvoir disposer simultanément de la nouvelle et de l'ancienne technique pour pouvoir pratiquer des essais de comparaison en parallèle.

**NOTE 3 :** Dans le cadre de la constitution du dossier de demande d'accréditation, le laboratoire doit présenter au COFRAC, les éléments suivants :

- la procédure de vérification/validation de méthode décrivant les lignes directrices et les modalités du processus pour la vérification/validation des méthodes (cf. ce guide),  
- les dossiers de vérification/validation des méthodes proprement dites sont des enregistrements (dont les différentes versions doivent être générées) apportant des éléments de preuve, de bibliographie, des choix et spécifications, des données brutes, des calculs et des conclusions attestées par un biologiste médical quant à l'aptitude de la méthode.

**NOTE 4 :** Dans le cas de laboratoires en démarche d'accréditation n'ayant pas procédé à une vérification/validation de méthode initialement à l'installation, le dossier de vérification/validation peut reprendre des données accumulées par le laboratoire (CIQ, EEQ, ...), seuls les éléments manquants devront être complétés par une étude expérimentale.

## 10.1 Répétabilité

En pratique, il est recommandé d'utiliser au minimum 2 niveaux de concentration, en choisissant, si possible, un niveau proche de la (des) zone(s) décisionnelle(s). Ces niveaux sont choisis en fonction des valeurs physiopathologiques. Le nombre de détermination à prévoir dépend de la cadence de l'analyseur à valider, du coût des réactifs, ... En général, l'effectif est de 30 pour une interprétation statistique optimale. Un nombre d'essais inférieur devra être argumenté en fonction de critères pertinents (rareté de la matrice, coûts des analyses, durée d'analyse, ...). La valeur statistique des résultats obtenus sera d'autant plus réduite que ces effectifs seront faibles (les calculs et tests employés devront tenir compte de ces effectifs).

L'exploitation des résultats consiste à calculer la moyenne ( $m$ ), l'écart-type ( $s$ ) et le coefficient de variation (CV) des valeurs expérimentales de chaque série.

$$CV (\%) = \frac{(s)}{(m)} \times 100$$

Le CV calculé permet une évaluation de la répétabilité de la méthode exprimée en %. La définition et le mode d'expression de la fidélité figurent dans la norme ISO 5725-2. Lors de la vérification, le CV calculé est comparé au CV limite admissible, préalablement choisi (fournisseurs, sociétés savantes, ...).

## 10.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)

Classiquement, la fidélité intermédiaire est évaluée à l'aide des coefficients de variation calculés à partir des résultats des CIQ. L'essai est réalisé au cours de séries successives, en général 1 à 2 par jour, d'échantillons de Contrôle Interne de Qualité (CIQ) quotidiens. La fidélité intermédiaire est établie sur au moins 15 jours avec 30 déterminations et à deux niveaux minimum. Une autre stratégie pourra être employée, mais justifiée par le laboratoire sur le plan statistique.

Les modalités de calcul sont identiques à celles de la répétabilité, avec calcul de la moyenne ( $m$ ), de l'écart-type ( $s$ ) et du coefficient de variation (CV) sur les valeurs expérimentales de chaque série ; le CV calculé est comparé au CV limite admissible de fidélité intermédiaire choisi au préalable (Fournisseur, SFBC, RICOS dont les valeurs peuvent évoluer dans le temps et en fonction des pathologies, ...).

Note : la répétabilité et la fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) apparaissent donc comme deux évaluations différentes de la fidélité. Cela dépend des conditions spécifiées que l'on fait varier. Des résultats d'évaluations proches de ces 2 niveaux de fidélité constituent une manifestation de la robustesse de la méthode (cf. [§10.11](#)).

## 10.3 Variabilité inter-opérateurs

La variabilité inter-opérateurs constitue un indicateur de la maîtrise de la réalisation des méthodes non automatisées. Le laboratoire pourra utiliser la variabilité inter-opérateurs (CV) et la comparer à la variabilité intra-opérateur d'un référent. Un rapport proche de 1 montre la concordance obtenue pour n opérateurs (cf. robustesse - [§10.11](#)).

Une autre possibilité pour quantifier la variabilité inter-opérateurs sera l'analyse de variance appliquée aux résultats obtenus par les n opérateurs (cf. analyse de variance - [§12.5](#)).

## 10.4 Justesse

La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue ( $m$ ) lors de l'étude de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire), établie avec des échantillons de CIQ, à la valeur cible attendue (généralement la moyenne des participants et/ou du groupe de pairs, ou la valeur assignée), assimilée à la valeur « vraie » ( $v$ ) de l'échantillon testé.

Elle est exprimée en pourcentage de la valeur cible, selon le calcul suivant :

$$\text{Biais (\%)} = \frac{(m - v) \times 100}{v}$$

Le concept de justesse et les méthodes d'évaluation du biais sont développés dans la norme ISO 5725-4.

## 10.5 Exactitude

Le laboratoire pourra établir l'exactitude d'une méthode à partir des résultats des EEQ (analysés une seule fois) en comparant la valeur trouvée à la valeur cible attendue (généralement 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. L'évaluation de l'inexactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'échantillons d'EEQ est élevé.

L'inexactitude est exprimée en pourcentage de la valeur cible, selon le calcul suivant :

$$\text{Inexactitude (\%)} = \frac{(x - v) \times 100}{v}$$

Avec :  $x$  : valeur trouvée pour l'EEQ et  $v$  : valeur cible

Ces valeurs permettront un calcul d'une valeur moyenne et de sa dispersion nécessaire pour le calcul d'incertitude.

## 10.6 Incertitude de mesure

Le document SH GTA 14 a été rédigé pour aider les laboratoires à procéder à la détermination de l'incertitude de mesure des résultats.

La norme NF EN ISO 15189 précise en outre que « *le laboratoire doit définir les exigences de performances pour l'incertitude de mesure de chaque procédure de mesure* » (cf. §5.5.1.4).

L'incertitude doit être recalculée régulièrement (une périodicité annuelle est recommandée) et confrontée aux exigences de performance du laboratoire qui peuvent être calculées à partir de données de sociétés savantes ou de publications faisant autorité, et tenant compte des fidélités et biais limites.

Exemple : Ca dans le plasma

Fidélité intermédiaire souhaitable selon Ricos (2014) : 2,1%

Biais souhaitable selon Ricos (2014) : 1,8%

Soit une incertitude souhaitable =  $\pm 2 \times \sqrt{2,1^2 + 1,8^2} = \pm 2 \times 2,8 = \pm 5,6\%$

## 10.7 Etendue de mesure : limite de détection, limite de quantification, limite de linéarité

### Limite de détection :

Pour l'estimer, on peut effectuer 30 mesures répétées des blancs (matrice dépourvue de l'analyte à doser, « calibrateur » zéro, diluant) dans une même série, et on calcule l'écart-type ( $s_b$ ) exprimé en concentration de ces 30 mesures.

La limite de détection peut être calculée selon la formule suivante :

$$\text{Limite de détection} = 3 \times s_b$$

Pour les méthodes qualitatives, la limite de détection correspond au seuil de positivité.

### Limite de quantification :

La limite de quantification peut être calculée selon la formule suivante :

$$\text{Limite de quantification} = 10 \times s_b$$

La limite de quantification peut également être évaluée à l'aide de dilutions d'un étalon ou de l'échantillon de Contrôle Interne de Qualité le plus bas (différent de 0) avec le diluant, selon le schéma : 100 + 0 ; 90 + 10 ; ....10 + 90 ; 0 + 100 soit 11 échantillons mesurés chacun 10 fois dans une série unique.

On calcule, pour chaque série de mesures des différentes dilutions, l'écart-type ( $s$ ), le Coefficient de Variation (CV) et l'écart de la moyenne ( $m$ ) à la valeur théorique (réalisation d'un profil de « précision » ou profil de fidélité). A partir de la courbe des CV en fonction des concentrations (courbe d'Horwitz), est déterminée la concentration correspondant à un CV de 10 % et représentant la limite de quantification.

La limite de quantification est la plus petite valeur qui peut être fournie pour un échantillon de patient.

## 10.8 Comparaison de méthodes

Pour comparer les résultats d'une méthode Y (à tester) avec ceux d'une méthode X (utilisée au laboratoire ou prise comme référence), on analyse au moins 30 échantillons de patients couvrant de façon homogène l'étendue du domaine physiopathologique rencontré et répartis si possible selon les recommandations de l'article Vassault et col, 1999.

Ces échantillons, frais de préférence, sont analysés en simple par les 2 techniques, dans un délai le plus court possible. Les résultats sont examinés au fur et à mesure, et il est vérifié si les discordances (écart entre les deux méthodes) sont jugées supérieures aux limites préétablies calculées comme suit :

$$\text{Limites de suivi} = \pm \sqrt{(3\sigma_{FI \text{ technique testée}})^2 + (3\sigma_{FI \text{ technique de comparaison}})^2}$$

Avec  $\sigma_{FI}$  : écart-type de la fidélité intermédiaire (FI) obtenue à partir des CIQ.

Si  $\sigma_{FI \text{ technique testée}} = \sigma_{FI \text{ technique de comparaison}} = \sigma$

Alors Limites de suivi =  $\pm 4.24 \sigma$  pour chaque niveau de concentration (cf. figure 1)

Pour chacun des couples retenus  $x_i$  (méthode X) et  $y_i$  (méthode Y) :

- Calculer les différences  $x_i - y_i$
- Calculer les rapports  $y_i / x_i$

Etablir les graphiques des différences,  $(x_i - y_i)$  fonction de  $x_i$  et  $(y_i / x_i)$  fonction de  $x_i$ , et reporter les limites retenues en valeur absolue ou relative sur ces graphiques (cf. figures 1, 2 et 3).

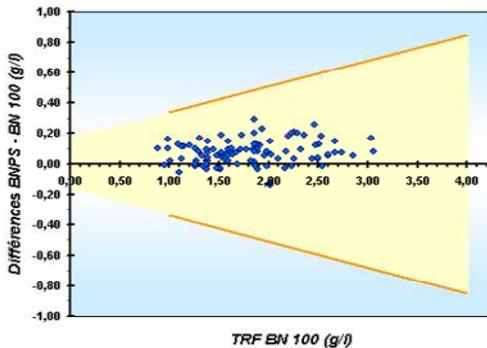


Figure 1

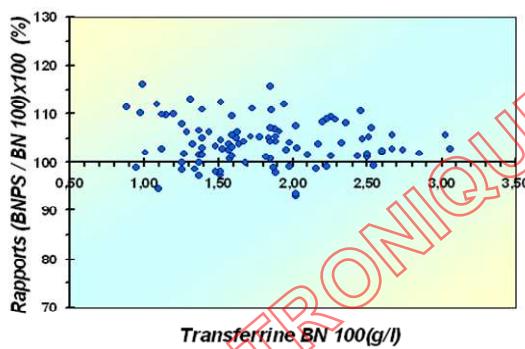


Figure 2

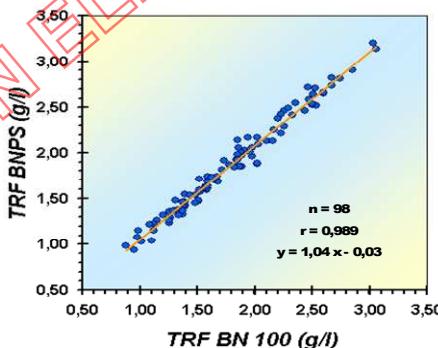


Figure 3

Noter le nombre d'échantillons discordants identifiés, et rechercher la cause de la discordance si elle subsiste après vérification (aspect, fibrine, hémolyse, ...).

Le calcul du coefficient de corrélation ne s'applique qu'à des variables indépendantes pour démontrer un lien entre deux variables x et y. Ce n'est pas le cas lors d'une comparaison de technique. **La valeur du coefficient de corrélation n'a donc pas d'intérêt pour la comparabilité des deux méthodes.** Les données pertinentes sont apportées par l'équation de la droite de régression dont la pente et l'ordonnée à l'origine exprimeront la similitude des méthodes comparées (similitude optimale avec pente égale à 1 et ordonnée à l'origine égale à 0). Il est possible de comparer la pente obtenue à 1 et l'ordonnée à l'origine à 0 à l'aide d'un calcul statistique (cf. annexe 3 §12.4).

## 10.9 Interférences et spécificité analytique

La présence dans les liquides biologiques de substances endogènes (bilirubine, hémoglobine, lipoprotéines, ...) ou exogènes (médicaments) peut être à l'origine d'interférences et conduire à des résultats erronés. L'influence de ces substances est variable en fonction des examens et des méthodes de mesure. Un protocole d'évaluation de ces influences est proposé par la SFBC.

Ce protocole consiste à évaluer l'influence de la substance interférente en surchargeant avec celle-ci un échantillon de concentration connue.

## 10.10 Contamination

### Contamination inter échantillons:

Une étude des contaminations inter-échantillons peut être effectuée de la façon suivante : Après rinçage de l'appareil, un échantillon à valeur élevée (ou positif fort) est analysé 3 fois consécutivement (H1, H2, H3, de moyenne mH) suivi d'un échantillon à valeur basse également analysé 3 fois (B1, B2, B3). Les séquences (H1, H2, H3, B1, B2, B3) peuvent être répétées plusieurs fois (5 fois) afin d'établir la moyenne des B1 (mB1) et la moyenne des B3 (mB3). La différence statistiquement significative entre les 2 moyennes pourra être établie à l'aide d'un test « t » de Student avant de procéder au calcul du pourcentage de contamination inter échantillons.

Remarque : en technique micro-plaque, assimilable à du quantitatif, il est préférable de disposer les échantillons positifs et négatifs en fonction de la structure du peigne de lavage.

Le pourcentage de contamination entre les échantillons est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Contamination (\%)} = \frac{(mB1 - mB3)}{(mH - mB3)} \times 100$$

Compte tenu de l'importance clinique de certains examens, le niveau de la contamination doit être proche de zéro ou entraîner des règles de « repassage » argumentées.

Remarque : Cette méthode de calcul ne peut pas s'appliquer à des techniques qualitatives. Dans ce cas, il est possible de vérifier, en alternant des échantillons positifs et négatifs, que les échantillons négatifs restent négatifs, il en est de même pour les échantillons positifs.

### Contamination inter réactifs:

Une étude de contamination inter-réactifs peut être effectuée de la façon suivante en biochimie (contamination lors de la mesure de l'activité de la LDH par des réactifs ALAT) :

Après rinçage de l'appareil, l'activité de la LDH est mesurée n fois (par ex n=10), en série sur un échantillon de serum. La valeur moyenne de la LDH (évaluée en série) est calculée. Dans une deuxième étape l'activité de la LDH est établie sur le même serum mais en alternance (ALAT, LDH, [n fois]). La valeur moyenne de la LDH (évaluée en alternance avec ALAT) est calculée. La différence statistiquement significative entre les 2 moyennes est établie à l'aide d'un test « t » (cf. [annexe 3](#)), mettant en évidence une contamination inter-réactifs.

## 10.11 Robustesse

L'évaluation de la robustesse nécessite d'identifier les paramètres (pH, température, ...) ayant un effet significatif sur la performance de la méthode. L'évaluation de la robustesse n'est indispensable que pour les tests développés en interne.

Pour évaluer la robustesse d'une procédure d'analyse, on applique celle-ci sur un échantillon homogène en faisant varier les paramètres retenus. La complexité de la procédure d'analyse augmente généralement le nombre de ces paramètres. Il faut utiliser la technique des plans factoriels pour faire varier plusieurs paramètres en même temps (protocole expérimental de Plackett-Burman). Ce procédé permet de diminuer le nombre d'essais et permet de plus l'étude des interactions entre paramètres. Les LBM pourront se reporter aux références bibliographiques pour exemples de calcul (Young, Eurachem, Plans d'expérience SFSTP).

Une alternative à l'évaluation de la robustesse peut être une mesure de la reproductibilité des résultats obtenus dans des conditions opératoires normales, entre laboratoires, entre opérateurs, ..., comparée à la répétabilité de cette même procédure d'analyse appliquée dans des conditions opératoires de type répétabilité (même opérateur, même série). Plus le rapport entre ces deux expressions de la fidélité est proche de 1, plus la méthode sera robuste.

### 10.12 Stabilité des réactifs

Dans le cadre d'une validation de méthode (portée B), une évaluation de la stabilité des réactifs est à réaliser. Elle consiste à évaluer par exemple la stabilité des réactifs « sensibles » ou « embarqués » à bords des analyseurs.

Dans ce cas, on peut analyser un étalon de niveau de concentration élevée en tant qu'échantillon inconnu à intervalle régulier entre J1 et Jn. Le nombre d'analyses entre ces deux dates est fonction de la durée de conservation attendue pour obtenir un minimum de 10 résultats.

Des limites de stabilité théoriques ( $Lst$  (en %), par exemple  $\pm 10\%$ ) adaptées à chaque analyte (en rapport avec limites acceptables pour le CIQ par exemple) sont établies.

Les valeurs correspondant à  $(+ Lst)$  en % du taux théorique de l'étalon utilisé sont calculées.

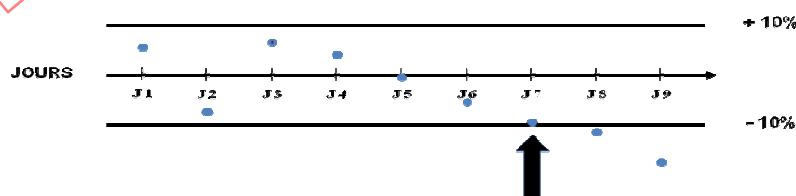
Chaque mesure de l'étalon  $v$  doit être comprise dans l'intervalle  $[v - Lst (\%); v + Lst (\%)]$ .

La limite de durée de stabilité est obtenue comme suit :

*La limite de durée de stabilité correspond à la dernière valeur de l'étalon comprise dans l'intervalle  $[v - Lst \%; v + Lst \%]$ .*

#### ETUDE DE LA STABILITE

**Pour évaluer la stabilité de réactifs sensibles**



### 10.13 Intervalles de référence et valeurs de décision clinique

Si la distribution de la population est gaussienne, le calcul peut se faire de la manière suivante :

- après une période d'utilisation permettant d'obtenir un nombre de valeurs significatif ( $n > 100$ ),
- à partir de patients exempts de pathologie (si possible),
- en écartant les valeurs aberrantes,
- en écartant toutes les valeurs  $> m + 2s$  et  $< m - 2s$ ,
- en recalculant la moyenne (moyenne tronquée)  $m_t$  et l'écart-type (écart-type tronqué)  $s_t$  à partir des valeurs ainsi retenues,

**Les valeurs de référence seront données par l'intervalle [  $m_t - 2s_t$  ;  $m_t + 2s_t$  ].**

Les valeurs de référence (ou intervalle de référence) peuvent également être déterminées par d'autres méthodes statistiques notamment non paramétriques (CLSI).

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

## 11 Annexe 2 : Exemples

Il est rappelé que cette annexe est constituée d'**exemples** de dossiers de vérification/validation de méthode dont pourront s'inspirer les LBM. Dans tous les cas, il appartient aux laboratoires de démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire pleinement aux exigences normatives, sur la base des éléments développés dans les exemples ci-après.

### 11.1 Processus simple – méthode quantitative : calcémie



#### Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE	
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : Calcium total	
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)	
DESCRIPTION DU PROCESSUS DE VÉRIFICATION / VALIDATION	
Etapes et éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation :
Calcium total  3 Niveaux / 30 passages 2CQ et un pool 2 Niveaux / 30 passages C1Q par niveau  C1Q externalisé (liquide ROCHE) Estimation sur 6 EEQ  Estimation sur 6 EEQ Fiches techniques fournisseur Sur 41 échantillons patients Fiches techniques fournisseur Fiches techniques fournisseur Fiches techniques fournisseur	<input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité
	<input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire
	<input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs
	<input checked="" type="checkbox"/> 4. Justesse
	<input type="checkbox"/> 5. Exactitude
	<input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique
	<input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes
	<input checked="" type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure
	<input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes
	<input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences
	<input checked="" type="checkbox"/> 11. Contamination
	<input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs
	<input checked="" type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

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

Argumentaire (le cas échéant) :



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 1 : calcium total

Portée A  ; Portée B  (à justifier)

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Meurande :	Calcium Total
Principe de la Méthode :	Spectrophotométrie NM-BAPTA
Type d'échantillon primaire :	Plasma/sérum
Type de récipient, additifs :	Héparinate de lithium
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation : 2000 g à 20°C 10minutes
Unités :	mmol/L
Critères d'interprétation <sup>1</sup> :	90 ans : 2,05 – 2,40 mmol/L 60 - 90 ans : 2,20 – 2,55 mmol/L 18 - 60 ans : 2,15 – 2,50 mmol/L 2 - 12 ans : 2,20 – 2,70 mmol/L 10j - 2ans : 2,25 – 2,75 mmol/L <10jours : 1,90 – 2,50 mmol/L
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	BT
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	COBAS 6000 N <sup>1</sup>
Référence du réactif :	CA205051482 190 2013-10 V 3.0 Français
Matériau d'étalonnage (références) :	C.t.a.s (2,74 mmol/L) lot 167252 ver.1 SRM 956 c niveau 2
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Linéaire en 2 points : H <sub>2</sub> O (blanc) et C.t.a.s (2,74 mmol/L)

### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	G.G ( technicien)
Procédure de validation/modus opératoire :	00ANAP01M001
Procédure de gestion de la portée flexible :	00ANAP02
Période d'étude :	22 mai au 10 juin 2014
Date de 1 <sup>re</sup> utilisation :	11 juin 2014

<sup>1</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité	5	Formation du personnel	Procédure d'identitovigilance du laboratoire 25PREP05M001
	Préparation du patient	1	Information des patients et préteurs	Instructions de prélèvement 00PREP01D003 (manuel de prélèvement)
	Type de contenants	2	Formation des préteurs Recommandé Héparinate de Li Acceptable sur tube sec ou gel. Non acceptable EDTA, oxalate, citrate	- Vérification à la réception 24SPREP04M001 (réception des échantillons) - Instructions de prélèvement 00PREP01D003 (fiche technique de prélèvement sanguin) Critères d'acceptation/de refus 25PREP01D001 v4 (Catalogue des analyses, Intranet de l'APHM) - 26GRHP01E002 (fiche de formation et d'habilitation des préteurs)
	Nature et volume de l'échantillon	1	Contrôle à réception sang	
	Délai et température avant traitement analytique	1	Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	
	Interférences	1	Formation des préteurs Contrôle à réception	
	Prétraitement : centrifugation, ...	3	Conditions de centrifugation : 2000 g à 20°C 10minutes	Critères de centrifugation 25GRMP02M005D001 Vérification annuelle par prestataire externe
Matériel (équipements)	Conditions de conservation des échantillons (T°, ...)	1	Métrologie/suivi des enceintes Sondes reliées au logiciel Thermocontrol (OceaSoft) (23°C +/- 5°C)	Instructions de conservation 25PREP01D001 v4 (Catalogue des analyses) Procédure de suivi des températures 25GRMP02M006 Métrologie des équipements 00GRMP03
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (T°, ...)	2		
	Exigences environnementales pour le matériel	1	Suivi des conditions environnementales	Exigences / manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrements des conditions environnementales
	Qualité de l'eau	5	Mesure de la résistivité / stérilité	Surveillance de la résistivité de l'eau (résistivité > 15 mΩ)
	Surveillance des dérives	5	CIQ/EEQ Maintenance/métrologie des équipements	Enregistrements des maintenances 00GRMP02M001 (utilisation et maintenance des équipements)
	Contamination	2	Respect des conditions opératoires du fournisseur Roche COBAS	Bibliographie
	Informatique embarquée	3	Jeux d'essais Stockage et transmission des données	Enregistrements des jeux d'essai Contrat de maintenance Intégrité des données/jeux d'essais 25GRMP04M001

<sup>2</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	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	3	Métrologie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiches fournisseur
	Gestion des stocks	3	Acceptation à réception des réactifs Gestion des stocks	Marquage CE Contrôles à la réception Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation) / Gestion des fournitures 00GRMP01
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	4	Métrologie des pipettes Respect du mode opératoire de reconstitution et gestion des stocks (y compris acceptation)	Instructions de reconstitution Maîtrise métrologique des pipettes 00GRMP03M002 Delai de reconstitution (Recommandations fournisseurs) Température de conservation (recommandations fournisseurs)
Méthode	Limites de la méthode (déttection, quantification, linéarité, interférences, ...)	2	Bibliographie et/ou essai sur site	Documents fournisseur, résultats des essais 00ANAP01 (vérif. Validation de méthode)
	Causes d'incertitude de mesure	2	Calculs	00ANAP05 (évaluation des incertitudes de mesure) Bibliographie (RICOS erreur totale)
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence maintien compétence personnel	2	Procédure formation/qualification du personnel, plan de formation	Enregistrements d'habilitation du personnel Gestion des ressources humaines LBM 00GHP01 Fiches d'habilitation des techniciens 25GRHP01E003 V 7

LA VERSION ELECTRONIQUE EST LA VERSION VALIDÉE



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	REPETABILITE		CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>3</sup> )	Conclusion <sup>4</sup>
				Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	CV (%) fournis		
Sérum PCC1	30	2.145	0.017	0.77	0.8	1.2 (SFBC)	conforme
Sérum PCC2	30	3.321	0.021	0.64	0.8	1.2 (SFBC)	conforme
Sérum Pool	30	1.777	0.018	1.01	0.8	1.2 (SFBC)	conforme

Argumentaire de la conclusion : conforme

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	FIDELITE INTERMEDIAIRE		CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	Conclusion <sup>5</sup>
				Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	CV (%) fournis		
Sérum PCC1	41	2.17	0.028	1.293	0.8	1.6 (SFBC)	conforme
Sérum PCC2	40	3.365	0.0376	1.118	0.9	1.6 (SFBC)	conforme

Argumentaire de la conclusion : conforme

Opérateur évalue 1	Opérateur évalue 2	VARIABILITE INTER-OPERATEURS	
		Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>	/
...			

Argumentaire de la conclusion : Analyseur automatique, aucune influence de l'opérateur

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) /groupe de pairs	JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)		Conclusion <sup>6</sup>
					Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	
Echantillon CIQ niveau 1	89	2,171	2,183	-0,50 %	/	-0,87 %	1,7 (SFBC) conforme
Echantillon CIQ niveau 2	90	3,349	3,384	-1,00 %	/	-0,92 %	1,7 (SFBC) conforme

Argumentaire de la conclusion : conforme

<sup>3</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>4</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EECQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite*	Conclusion*
Cycle 12 échantillon 1	2.09	2.16	2.13	-3.24	-1.88	2.3	Acceptable/toutes techniques
Cycle 12 échantillon 2	3.14	3.23	3.17	-2.79	-0.95	2.3	Acceptable/toutes techniques
Cycle 12 échantillon 3	4.03	4.12	4.02	-2.18	0.25	2.3 (SFBC)	conforme
Cycle 12 échantillon 4	1.43	1.46	1.45	-2.05	-1.38	2.3 (SFBC)	conforme
Cycle 12 échantillon 12	3,15	3,22	3,16	-2,17	-0,32	2,3 (SFBC)	conforme
Cycle 13 échantillon 1	3,1	3,11	3,08	-0,32	0,65	2,3 (SFBC)	conforme

Argumentaire de la conclusion : conforme /toutes techniques. Echantillons 1 & 2 > limite acceptable/ groupe de pairs mais écart faible sans impact clinique ( $\Delta < 0.09 \text{ mmol/L}$ )

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>	
Vrais positifs	/
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : technique quantitative

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitude calculée	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	Calculée à partir de la fidélité souhaitable et biais souhaitable (Ricos, 2014)	5,6%
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	$1.76 \pm 0.098 \text{ mmol/L}$ ou $1.76 \pm 5.587 \%$	
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	$3.365 \pm 0.130 \text{ mmol/L}$ ou $3.365 \pm 3.889 \%$	

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) : incertitude calculée > erreur souhaitable RICOS (2,55%). Incertitude de l'ordre de 5% sans impact sur l'interprétation des résultats.

Référence :

Validation of methods for routine biochemistry analytes at COBAS analyzer series module c501 Biochemistry medical, 2011, 21, 182-90 : erreur totale 6,3%

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>	
Limite de détection :	LD trouvée ou référence bibliographique

Argumentaire de la conclusion : portée A



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Données fournisseur
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	MODULAR 1 (ancien appareil du laboratoire) versus COBAS 6000 N°1
Nombre de mesures :	41
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	De 1.4 mmol/L à 4.1 mmol/L
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres rectangles
Equation de la droite de régression :	$y = 0.98x + 0,0 ; r=0.997$
Diagramme des différences et/ou des rapports :	<p>Diagramme des différences (normes de suivi SFBC)</p> <p>Diagramme des rapports</p>

Argumentaire de la conclusion : conforme

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Limite de détection :	NA
Limite de quantification :	Etude bibliographique (Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français) L.Q. = 0,20 mmol/L
Limite supérieure de linéarité :	Etude bibliographique (Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français) Limite de linéarité : 5,00 mmol/L

Argumentaire de la conclusion : convient aux besoins du laboratoire



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**INTERFÉRENCES** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Hémolyse	(Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français) Pas d'interférence si Indice H < 1000 soit 621 µmol/L d'hémoglobine
Turbidité	(Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français) Pas d'interférence si Indice L < 1000
Bilirubine, Ictère	(Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français) Pas d'interférence si Indice I < 60 soit 1026 µmol/L de bilirubine
Medicaments	(Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français) Pas d'interférence décrite

Argumentaire de la conclusion : convient aux besoins du laboratoire

**CONTAMINATION** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, BHCG, ...)	/
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phophate, lipase et triglycérides, ...)	/

Argumentaire de la conclusion : non pertinent pour le paramètre Ca

**ROUSTESSE et STABILITÉ des REACTIFS**  
(étude expérimentale indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (/ <sup>e</sup> , pH, position sur un support, ...)	/
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	/

Argumentaire de la conclusion : non indispensable en portée A

**INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
Applicable  ; non applicable

Valeurs de référence	Fiche technique ROCHE CA2 05061482 190 2013-10, V 3.0 Français (cf tableau description de la méthode)
----------------------	---

Argumentaire de la conclusion : convient aux besoins du laboratoire

### DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme répondant aux critères retenus par le laboratoire utilisée à partir du 11 juin 2014

Autorisée par : AML Biologiste responsable technique  
Signature :

## 11.2 Processus simple – méthode qualitative : détermination des groupes sanguins ABO et rhésus

En fonction du contexte clinique et du résultat du groupage, le processus analytique se poursuivra, sur le même échantillon, par exemple par d'autres examens (génotypage par PCR).



### Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE		
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : Groupage Sanguin ABO RH1 et RH KEL1		
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)		
DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Analyse réalisée à partir du tube de sang total centrifugé	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation :  <input type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude <input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences <input checked="" type="checkbox"/> 11. Contamination <input checked="" type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input checked="" type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence  Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, à minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, à minima. L'absence d'applicabilité de certains items est à justifier dans le corps du document.

Pour chaque étape, le laboratoire procèdera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 4 à 7 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un élément du processus lui semble critique, il devra valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique

#### Argumentaire de la conclusion :

Ce dossier représente un cas qui nécessite de connaître parfaitement la réaction du processus analytique en particulier dans les situations de double-populations, et d'autre part dans le cas de reprise sur des échantillons conservés 7 jours (soit ici au-delà de la préconisation du fournisseur). Le laboratoire a donc opté pour une portée de type A et vérifié certains paramètres supplémentaires développés dans le document.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**SOUS-PROCESSUS 1 : Groupage Sanguin ABO RH1 et RH KEL1**

Portée A  ; Portée B

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Groupage Sanguin ABO RH1 et RH KEL1(sang) - Reconnaissance d'antigène à la surface des globules rouges - Reconnaissance d'anticorps naturels dans le plasma
Principe de la Méthode :	Hémagglutination avec diffusion sur colonne de gel de filtration après centrifugation avec lecture automatisée des agglutinats par caméra
Type d'échantillon primaire :	Sang total
Type de récipient, additifs :	Tube EDTA
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation
Unités :	Lecture de l'intensité de l'agglutinat de « - » à « ++++ » et « ? » pour les résultats « non-interprétables » (double population antigène faible)
Intervalles de référence <sup>1</sup> :	L'affaiblissement de la réaction en intensité (< ou ===) oriente vers un antigène d'expression faible ou un antigène partiel à confirmer par analyse en biologie moléculaire
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	HEM
Equipement (Instrument, analyseur, etc.) :	Analyste : Semi automate composé de distributeur n° 377 et Lecteur - centrifugeur n° 1072  Intermédiaire : Centrifugeuse des échantillons primaires ISR n° 75004331 Encelentes thermostataées à 5 +/- 3°C pour stockage des réactifs Réfrigérateur 700 N°44003 pour les réactifs de réserve Réfrigérateur 400 pour les réactifs en cours n°42896 Encelente thermostataée à 5 +/- 3°C pour conservation des échantillons  Informatique : Logiciel Médico Technique du laboratoire : Labo v 5.6.2.7 Logiciel M V2.18
Référence du réactif :	Cartes gel B/D, Test combiné, Cartes ID ABO/Rh + épreuve sérique, sous-groupes RH-K : Réf : 1398 / 1046 / 2125 Diluant 2: Réf : 9260 Hémates tests ID-Dia ABO, A1 et B: Réf 3624
Matériau d'étalonnage (références) :	CQI ABO UPR
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	A RH:1,-2,3,4,-5 KEL:-1 A RH:-1,-2,-3,4,5 KEL:-1 B RH:1,2,-3,-4,5 KEL:-1 O RH:1,2,3,4,5 KEL:1

<sup>1</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Tableau des réactifs

	Désignation du produit	Référence fournisseur	Numéro de clones
Carte-ID "DiaClon ABO/Rh for patients" Anticorps monoclonaux	Anti-A	001045	A5
	Anti-B		G%
	Anti-AB		ES131 (ES-15), Birma-1, ES-4
	Anti-D		LMH 59/20 (LDM3), 175-2
	Anti-CDE		MS-24, MS-201, MS-26, MS-60
	Contrôle		
ID-Card "DiaClon Rh-subgroups + K" Anticorps monoclonaux	Anti-C	002125	MS-24
	Anti-c		MS-33
	Anti-E		MS-260
	Anti-e		MS-16
	Anti-K		MS-56
	Contrôle		
ID-DiaCell ABO Hématies tests pour groupage sériques		003615	
ID-Card "NaCl, enzym test and cold agglutinins"		005015	
ID-Diluant 2 LISS modifié pour suspension d'hématies		009280	

## MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Techniciens habilités du laboratoire : F B, V C, N D, C F, F P, F S
Procédure de validation/mode opératoire :	P-0345 : Procédure de validation de méthode et gestion de la portée flexible étendue B M-1056 : Qualification opérationnelle d'un automate ou semi automate d'IHE après Intervention préventive ou curative
Procédure de gestion de la portée flexible :	P-0345 : Procédure de validation de méthode et gestion de la portée flexible étendue B
Période d'étude :	DU 29/02/2012 AU 20/05/2012 ; DU 28/09/12 AU 03/10/12 ; DU 15/03/13 AU 16/03/13.
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	05/10/2012



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identitovigilance	5	Formation du personnel	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Procédure d'identitovigilance du laboratoire : MO - 1510
	Préparation du patient	3	Information des patients et prélieveurs	Instructions de prélèvement du manuel de prélèvement EN 1410
	Type de contenants	3	Formation des prélieveurs	Instructions de prélèvement dans Manuel de prélèvement MO 1410
	Nature et volume de l'échantillon	3	Contrôle à réception	PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Délai et température avant traitement analytique	4	Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	Critères d'acceptation/de refus : MO 1510 : le fabricant préconise une analyse dans les 48h. Il peut arriver d'avoir à reprendre des prélèvements de 7 jours. Une comparaison sera effectuée.
	Prétraitement : centrifugation, ...	1	Conditions de centrifugation Contrôle de conformité de l'échantillon après centrifugation (lactoscent, hémolyse, avec caillot...)	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Critères de centrifugation : MO 1425
	Etat de l'échantillon pour l'automate : alerte automate	2	Risque de bouchage et contamination	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621
	Conservation de l'échantillon (pour reprise)	4	Respect des délais et de la température	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621
	Interférences	2	Formation des prélieveurs Contrôle à réception	Instructions de prélèvement dans Manuel de prélèvement MO 1410 Critères d'acceptation/de refus : MO 1510

<sup>2</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t*, ...)	3	Métrieologie/suivi des enceintes	Instructions de conservation : Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621 Enregistrements métrologiques des enceintes réfrigérées : suivi par le logiciel de la GTC PR812 : qualification des matériels MO 1249 : Maintenance et entretien des enceintes réfrigérées
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t*, ...)	3		
	Exigences environnementales pour le matériel	1	Suivi des conditions environnementales	Exigences manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrements des conditions environnementales : GTC MO 1322 : métrologie des sondes des températures MO 1122 : Règles de maîtrise des CIQ
Matériel/équipements	Qualité de l'eau	2	Mesure de la résistivité / stérilité	Tracabilité des vérifications
	Surveillance des alertes automates	2	Respect des modes opératoires	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621
	Eviter les dysfonctionnements	2	Respect des modes opératoires	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621
	Surveillance des dérives de performances	2	CIQ/EEQ Maintenance/métrie des équipements	MO 1122 : Règles de maîtrise des CIQ Enregistrements des maintenances : EN 1242 PR812 : qualification des matériels
	Contamination	3	Respect des conditions opératoires du fournisseur	Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621 PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Informatique embarquée	5	Jeux d'essais des transferts automates vers Labo Serveur et de Labo Serveur vers le client	Enregistrements des jeux d'essai avec compte rendu EN 1212.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	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	3	Métrologie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiches fournisseur Enregistrements des conditions environnementales : GTC MO 1322 : métrologie des sondes des températures PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	3	Gestion des stocks	PR 1015 : Procédure de gestion des stocks MO 1912 : contrôle à de conformité à réception EN 1613 : inventaire des réactifs et suivi des lots
	Mise en utilisation des réactifs, étalons, contrôles	3	Métrologie des pipettes Décongélation des Contrôles	MO 1324 : métrologie des pipettes MO 1333 : utilisation des contrôles conservés au congélateur.
Méthode	Limites de la méthode (déttection, quantification, linéarité, interférences, ...)	5	Difficultés d'interprétation de l'automate en particulier en cas de doubles populations	Documents fournisseur, A évaluer en fonction des éléments apportés par le fournisseur, CAT en fonction des résultats des essais
	Discordance entre lecture automate et contrôle visuel	5	Contrôle visuel systématique + vérification de cohérence des résultats transférés et des résultats modifiés après lecture.	Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621 PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Risque d'erreur dans l'utilisation de la méthode	2	Respect des modes opératoires	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Algorithme décisionnel sur le choix des méthodes : EN 1002
	Validation du résultat d'examen	2	Respect des règles de validation des séries	MO 1122 : Règles de maîtrise des CIQ PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Validation biologique	2	Respect des modes opératoires en fonction du contexte clinique	PR : 415 : Formation habilitation du personnel
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	3	Procédure formation/habilitation du personnel, plan de formation	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Enregistrements d'habilitation du personnel : EN 1087

Il en ressort que :

- une vérification sera pratiquée sur des doubles populations
- une comparaison sera effectuée sur des prélèvements de 24 h et 7 jours pour la nécessité de mise en œuvre d'enquête transfusionnelle possible suite à accident ou incident transfusionnel



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

REPETABILITE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>3</sup> )	Conclusion <sup>4</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>5</sup> )	Conclusion <sup>6</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative

VARIABILITE INTER-OPERATEURS							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>							
Opérateur évalué 1	Essai sur site – résultats de la variabilité						
Opérateur évalué 2							
...							

Argumentaire de la conclusion : NA, méthode qualitative avec lecture automatisée et relecture des gels par le manipulateur formé et habilité à cette lecture, afin d'identifier les éventuelles double populations.

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paire)	Bias (%) /groupe de paire	Moyenne générale (toutes techniques)	Bias (%) / moyenne générale	Bias (%) limite3	Conclusion <sup>7</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative

<sup>3</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA...). Preciser la référence utilisée.

<sup>4</sup> Conforme/non conforme

<sup>5</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA...). Preciser la référence utilisée.

<sup>6</sup> Conforme/non conforme

<sup>7</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEO/CNQ)							
Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Blais (%) / groupe de pairs	Blais (%) / toute technique	Blais (%) <sup>8</sup> illimité	Conclusion <sup>9</sup>
6	/						conformes

Argumentaire de la conclusion : analyse qualitative réalisée sur les échantillons de l'UCIL. Les résultats sur 2012 et 2013 sont tous conformes aux attendus.

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible et pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>	
Spécificité	/
Sensibilité	/
Valeur prédictive négative	/
Valeur prédictive positive	/

Argumentaire de la conclusion :

L'anti-B ne reconnaît pas l'Ag B acquis.

Les hématies Ax sont reconnues dans les puits Anti-A et Anti-B.

La sensibilité de l'ID-System permet une détection directe du D faible.

L'Anti-D monoclonal dans la carte-ID "DiaClon ABO/Rh for patients" ne réagit pas avec les variantes D<sup>vI</sup>.

Le DiaClon Anti-C reconnaît aussi l'antigène C<sup>v</sup>.

Anti-A/ Anti-B/ anti-AB : 100% de sensibilité et de spécificité

Anti-DVI- : 997, 7% de sensibilité (Détection de 85% d'antigène testés avec RHW1 (D faible)) et 100% de spécificité

Anti-CDE : 100% de sensibilité et de spécificité

Conclusion : Au vu des éléments fournis, ces paramètres n'ont donc pas été vérifiés sur site.

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, Interprétation) Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input checked="" type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	/
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	/
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	/

Argumentaire de la conclusion : pas de calcul avec cette analyse qualitative, les risques résiduels sont écartés du fait des tests effectués pour cette validation de méthode.

<sup>8</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>9</sup> Conforme/non conforme, argumentaire de la conclusion



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale Indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinentes en portée A pour :

troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :	/
Limite de quantification :	/
Limite supérieure de linéarité :	/

Argumentaire de la conclusion : les limites déjà citées dans la partie « sensibilité spécificité » sont complétées par la vérification de la détection des doubles populations dont la validation finale revient à l'opérateur.

Etude des limites de la méthode : Etude du seuil de détection d'une gamme de double population pré-déterminée des différents antigènes étudiés (ABO et RH KEL). Les résultats de l'automate et les résultats lus par l'opérateur seront analysés parallèlement par des mélanges de 20/80, 30/70, 50/50, 70/30/80/20 en groupant A dans du O, B dans du O et RH1 dans RH-1. Il est nécessaire de détecter le mélange à au moins 50/50. Les doubles populations sont détectées pour des gammes de 30/70. Conclusion : lecture visuelle obligatoire.

### COMPARAISON DE METHODES :

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications, ...):	1. Delamare - Automatisation au laboratoire d'immuno-hématologie érythrocytaire, Transfusion Clinique et Biologique 12 (2005) 163-168 2. Documents fournisseurs (notices, manuels, fiches techniques)
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	1 - comparaison du même système sur des prélevements analysés à 24h et 8J. 2 - comparaison à un autre système automate Y utilisé en IH donneur sur des donneurs connus de répartition phénotypique standard
Nombre de mesures :	1- 15 2- 30
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Concordance totale attendue
Méthode d'exploitation des résultats :	Analyse des discordants
Equation de la droite de régression :	NA
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	Aucun discordants

Argumentaire de la conclusion : les deux comparaisons effectuées permettent de conclure que l'utilisation des échantillons lors de reprise à J7 est possible

La concordance obtenue sur les 30 prélevements permet de déclarer conforme cette étape particulièrement importante pour une technique qualitative.

### INTERFERENCES (étude expérimentale Indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinentes en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine,

médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Hémolyse	D'après la fiche technique, des échantillons fortement hémolysés ou présentant des particules en suspension peuvent interférer sur la lecture de la réaction
Lactescence	

Argumentaire de la conclusion : les critères d'acceptation et de refus tiennent compte de ces deux interférences.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**CONTAMINATION** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter-échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, HCG, ...):

Inter-réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):

Argumentaire de la conclusion :

Une contamination aurait conduit à une discordance Beth-Vincent/Simonin. L'analyse des résultats tout au long de la validation n'a mis en évidence aucun cas de discordance Beth-Vincent/Simonin.

Conclusion : Il n'y a donc pas de contamination Inter-échantillon ou Inter-réactant.

**ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS**  
(étude expérimentale indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (T°, pH, position sur un support, ...)

Stabilité des réactifs après ouverture, emballage, ...

Argumentaire de la conclusion : Les fiches techniques des réactifs (en particulier celle des hématies) indique les conditions de conservation (durée, température). Les réactifs sont utilisés selon les recommandations du fournisseur. Ces paramètres n'ont pas été vérifiés.

**INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils**  
(étude expérimentale indispensable en portée B en fonction des données démographiques)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Argumentaire de la conclusion : Il n'y a pas de valeur de référence dans le cadre de cette analyse qualitative. Les valeurs seuil de positivité sont celles établies par le fabricant.

### DECLARATION D'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 19/03/2013  
Autorisée par : GB

Signature : XXX

### 11.3 Processus simple – méthode qualitative : détermination des RAI



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE		
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens Recherche D'agglutinines irrégulières (RAI) Dépistage		
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)		
DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Etapes	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation :
		<input type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude <input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input type="checkbox"/> 10. Interférences <input checked="" type="checkbox"/> 11. Contamination <input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

Pour chaque étape, le laboratoire procèdera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 4 à 7 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un élément du processus lui semble critique, il devra valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique.

Argumentaire de la conclusion :



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 1 :

Portée A  ; Portée B

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Anticorps (Ac) circulants dirigés contre des antigènes érythrocytaires
Principe de la Méthode :	Hémagglutination en gel filtration (microfiltration) sur carte-gel en test indirect à l'antiglobuline. La technique d'hémagglutination en procédé de microfiltration associe le principe du test indirect à l'antiglobuline (TIA) et celui de la filtration sur gel : - dans un 1 <sup>er</sup> temps, incubation à 37°C de la carte-gel contenant les hématies du panel et le plasma du patient : sensibilisation des hématies-test en milieu de basse force ionique (ID-Diluant Z, LISS) par les Ac présents dans le plasma. L'anticorps, s'il est présent, reconnaît puis se fixe spécifiquement sur l'antigène correspondant présent sur l'hématie du panel de dépistage. - dans un 2 <sup>nd</sup> temps, révélation de cette sensibilisation par la centrifugation du support réactionnel. L'antiglobuline humaine présente dans le support agglutine les hématies sensibilisées ; le gel retient les hématies agglutinées en fonction de l'importance du complexe formé, alors que les hématies libres non agglutinées sédimentent dans le fond du support. L'automate Swing baby sécurise le filen échantillon – support réactionnel – résultat et assure la traçabilité des réactifs utilisés.
Type d'échantillon primaire :	Sang total
Type de récipient, additif :	Tubes contenant de l'EDTA. Echantillon de moins de 72h.
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation pour séparer les phases plasmatique et globulaire. En l'absence de recommandations du fournisseur, les paramètres de centrifugation permettant d'atteindre cet objectif sont ceux appliqués à toute centrifugation de prélevements pour analyses immuno-hématologiques (IH) au laboratoire.
Unité :	Pas d'unité : analyse qualitative résultat positif, exprimé en terme d'intensité de réaction sous la forme de croix (4+ à (+))
Intervalles de référence <sup>1</sup> :	NA
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	Appareil X (fournisseur A) semi automatique composé du Appareil X (N° série 226) et du lecteur Y (N° série 910). Le logiciel embarqué Z V 2.18 permet l'obtention du résultat qui est transféré au Logiciel médico technique Labo Z
Référence du réactif :	1*) Supports réactionnels (fournisseur A) : cartes ID « Liss/Coombs » : Réf 05761.93.10, 50531.62.41, 50531.64.52 2*) Panel d'hématies-tests humaines pour le dépistage en TIA : panels fournisseur A prêts à l'emploi : Réf S161, S193, S225, S257 3*) Solutions de lavage A et B diluées prêtes à l'emploi (fournisseur A)
Matériau d'étalonnage (références) :	- Etalon de référence : anti-RH1 humain à 20 ng/ml (INTS – CNRGS).

<sup>1</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

	Pour les CIQ : - Anti-RH1 humain à 20 ng/ml (INTS – CNRGS) - Sérum-test anti-FY1 (anti-Fya) de titre ≤ 4 (5050004Z) - Sérum-test anti-FY2 (anti-Fyb) de titre ≤ 4 (5060004Z)
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	4 contrôles : 1 étalon et 3 CIQ

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	EF, CN et VD
Procédure de validation/mode opératoire :	P-0274 associée à E-2103 protocole de validation de méthode.
Procédure de gestion de la portée flexible :	P 0273 associé à E-175 (compte rendu de qualification opérationnelle des automates et semi-automates).
Periode d'étude :	Novembre 2009
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	Validation entièrement réalisée en novembre 2009 Décembre 2009

LA VERSION ELECTRONIQUE EST LA VERSION VALIDÉE



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matière (échantillons)	Identitovigilance	5	Formation du personnel	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Procédure d'identitovigilance du laboratoire : MO - 1510
	Préparation du patient	3	Information des patients et préteurs	Instructions de prélèvement du manuel de prélèvement EN 1410
	Type de contenants	3	Formation des préteurs	Instructions de prélèvement dans Manuel de prélèvement MO 1410
	Nature et volume de l'échantillon	3	Contrôle à réception	PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Délai et température avant traitement analytique	4	Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	Critères d'acceptation/de refus : MO 1510, le fabricant précise : la détermination devrait se faire sur du matériel fraîchement prélevé ou conforme aux exigences du laboratoire
	Séparation des éléments cellulaires	1	Conditions de centrifugation Contrôle de conformité de l'échantillon après centrifugation (lactoscent, hémolyse, avec caillot...)	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Critères de centrifugation : MO 1425 Critères d'acceptation et de refus MO 1510
	Etat de l'échantillon pour l'automate : alerte automate	2	Risque de bouchage et contamination	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1821
	Interférences	2	Formation des préteurs Contrôle à réception	Instructions de prélèvement dans Manuel de prélèvement MO 1410 Critères d'acceptation/de refus : MO 1510
	Conservation des échantillons (pour reprise éventuelle dans le cadre d'une enquête transfusionnelle)	4	Connaitre les conditions de conservation en température et durée	PR : 415 Formation-habilitation du personnel Mode opératoire « conservation, reprise et transmission » MO 1920

<sup>2</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (1*, ...)	3	Métrologie/suivi des enceintes	Instructions de conservation ; Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621 Enregistrements métrologiques des enceintes réfrigérées : suivis par le logiciel Labgard ; PR812 : qualification des matériels MO 1249 : Maintenance et entretien des enceintes réfrigérées
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (1*, ...)	3		
	Exigences environnementales pour le matériel	1	Suivi des conditions environnementales	Exigences / manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrements des conditions environnementales : Labgard MO 1322 : métrologie des sondes des températures MO 1122 : Règles de maîtrise des CIQ
Matériels (équipements)	Qualité de l'eau	2	Mesure de la résistance / stérilité	Traçabilité des vérifications
	Surveillance des alertes automates	2	Respect des modes opératoires	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621
	Eviter les dysfonctionnements	2	Respect des modes opératoires	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621
	Surveillance des dérives de performances	3	CIQ/EEQ Maintenance/métrologie des équipements	MO 1122 : Règles de maîtrise des CIQ Enregistrements des maintenances : EN 1242 PR812 : qualification des matériels
	Contamination	3	Respect des conditions opératoires du fournisseur	Instruction d'utilisation de l'automate MO 1621 PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Informaticque embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données) Et des connexions jusqu'au client	5	Jeux d'essais des transferts automates vers Labo Serveur et de Labo Serveur vers le client	Enregistrements des jeux d'essai avec compte rendu EN 1212.
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation	3	Métrologie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiches fournisseur Enregistrements des conditions environnementales : GTC MO 1322 : métrologie des sondes des températures PR : 415 : Formation habilitation du personnel



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Méthode	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	3	Gestion des stocks	PR 1018 Procédure de gestion des stocks MO 1812 contrôle a de conformité à réception EN 1613 : Inventaire des réactifs et suivi des lots
	Mise en utilisation des réactifs, étalons, contrôles	3	Métrologie des pipettes Décongélation des Contrôles	MO 1324 : métrologie des pipettes MO 1333 : utilisation des contrôles conservés au congélateur.
	Limites de la méthode (de l'anti D étalon)	5	Détection des 20 ng anti D réglementaire	Document fourisseur. Au vu du peu d'information dans la documentation fourisseur une vérification sur site est réalisée pour une étude du seuil de détection des dilutions extemporanées d'un étalon de référence anti RH1 standard.
	Discordance entre lecture automatique et contrôle visuel	5	Contrôle visuel systématique + vérification de cohérence des résultats transférés et des résultats modifiés après lecture.	Instruction d'utilisation de l'automate MO 1821 PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Risque d'erreur dans l'utilisation de la méthode	2	Respect des modes opératoires	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Algorithme décisionnel \$sur le choix des méthodes : EN 1002
	Validation du résultat d'examen	2	Respect des règles de validation des séries	MO 1122 : Règles de maîtrise des CIQ PR : 415 : Formation habilitation du personnel
	Validation biologique	2	Respect des modes opératoires en fonction du contexte clinique	PR : 415 : Formation habilitation du personnel
Main d'œuvre (Personnel)	Causes d'incertitude mesurée	de	Calculs  Non : méthode qualitative	
	Compétence maintien compétence personnel	et de du	Procédure formation/habilitation du personnel, plan de formation	PR : 415 : Formation habilitation du personnel Enregistrements d'habilitation du personnel : EN 1087

Il en ressort que :

- Une vérification sera pratiquée sur la détection des 20 ng d'anti D réglementaire.
- Une comparaison sera effectuée sur des prélèvements de 24 h et 7 jours en cas de besoin d'enquête transfusionnelle.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

REPETABILITE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournissoeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>3</sup> )	Conclusion <sup>4</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournissoeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>5</sup> )	Conclusion <sup>6</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative

VARIABILITE INTER-OPERATEURS							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>							
Opérateur évalué 1	Opérateur évalué 2	...	Essai sur site – résultats de la variabilité				
Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative. Les opérateurs sont formés à relire les gels même en cas de méthode semi automatisée ou automatisée. Il n'y a pas lieu de comparer les résultats d'un opérateur à l'autre ici.							

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Bias (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Bias (%) / moyenne générale	Bias (%) limites3	Conclusion <sup>7</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative

<sup>3</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA,...). Préciser la référence utilisée.

<sup>4</sup> Conforme/non conforme

<sup>5</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA,...). Préciser la référence utilisée.

<sup>6</sup> Conforme/non conforme

<sup>7</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de paires)	Cible (toutes techniques)	Blaie (%) / groupe de paires	Blaie (%) / toute technique	Blaie (%) limite <sup>a</sup>	Conclusion <sup>b</sup>
6				A renseigner pour les contrôles quantitatifs			conforme

Argumentaire de la conclusion : NA analyse qualitative

Cependant les 6 échantillons de l'UCIL de 2012 et 2013 ont tous donné les résultats attendus.

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Spécificité	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (VP, FP, VN, FN) NA
Sensibilité	Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale	Etude expérimentale (VP, FP, VN, FN) Vérification de la détection de l'anti RH1 à 20 ng/ml
Valeur prédictive négative	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (VP, FP, VN, FN) NA
Valeur prédictive positive	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (VP, FP, VN, FN) NA

Argumentaire de la conclusion :

La R.A.I. a pour objectif d'assurer la sécurité transfusionnelle, de prévenir et de détecter les accidents d'allo-immunisation feto-maternelle. Elle a donc pour but de déceler non pas la totalité des anticorps anti-érythrocytaires mais ceux décrits en particulier comme ayant une incidence clinique : anti-RH, -KEL, -FY, -JK, -MNS, anti-publics naturels et immuns, etc., à l'aide de gammes d'hémato-tests de dépistage comportant au moins trois hémato-tests comme définis dans l'Arrêté du 26 avril 2002. Cet Arrêté du 26 avril 2002 prévoit que la sensibilité de la méthode permet la détection sur colonne de filtration ou en immuno-adhérence d'un anti-RH humain de concentration égale à 20 ng/ml. La limite de sensibilité de la méthode utilisée sera définie par une étude de dilution d'un standard anti-RH1.

Une gamme de dilution est pratiquée à partir de l'étalon de référence anti-RH1 avec les concentrations de 20, 10, 5 et 2,5 ng/ml. Les résultats lus par le lecteur et par le technicien montrent une détection de 2,5 ng/ml.

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interréférence résiduelle) <input checked="" type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) : NA	<input type="checkbox"/> CIQ + EEQ <input type="checkbox"/> CIQ externalisées <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> autre formule :
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	Niveau 1 en valeur absolue $\pm$ U ou Niveau 1 en valeur absolue $\pm$ U%
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	Niveau 2 en valeur absolue $\pm$ U ou Niveau 2 en valeur absolue $\pm$ U%
Quantification de l'incertitude (niveau xxx) :	Niveau xxx en valeur absolue $\pm$ U ou Niveau xxx en valeur absolue $\pm$ U%

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) : NA, pas de calcul pour cette méthode qualitative. Les éléments vérifiés lors de la validation de méthode montrent qu'il n'y a pas de risque résiduel.

<sup>a</sup> Sociétés savantes, publications (OFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>b</sup> Conforme/non conforme, argumentaire de la conclusion



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :

troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite de quantification :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite supérieure de linéarité :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)

Argumentaire de la conclusion : NA, méthode qualitative

### COMPARAISON DE METHODES :

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Fiche technique fournisseur
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Swing – Saxo comparé à Techno Twin du laboratoire de qualification biologique des dons
Nombre de mesures :	36
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Concordance total attendu car les réactifs sont identiques
Méthode d'exploitation des résultats :	NA
Equation de la droite de régression :	NA
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	

Argumentaire de la conclusion : aucune discordance entre les deux méthodes. Les 18 échantillons négatifs et les 18 échantillons positifs sont retrouvés tels qu'attendus.

Il a été aussi comparé les résultats chez 10 patients dont les prélèvements ont été conservés au réfrigérateur 7 jours. Les résultats sont identiques.

### INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine,

médicaments, ... à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Hémolyse	Fiche technique fournisseur	Les recommandations fournisseurs sont respectées à travers les critères d'acceptation et de refus.
----------	-----------------------------	--

Argumentaire de la conclusion : tenir compte de l'hémolyse, si elle existe, pour réaliser ou non l'analyse.

### CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon	Fiche fournisseur	Les aiguilles de prélèvements sont rinçées pour éviter les contaminations
Inter réactif	Fiche fournisseur	Les aiguilles de prélèvements sont rinçées pour éviter les contaminations

Argumentaire de la conclusion : tout au long du processus analytique lors de la comparaison des échantillons, l'alternance des échantillons négatifs et positifs n'a pas entraîné de contamination.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS

(étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...

Fiche technique fournisseur

Respect des exigences fournisseur

Argumentaire de la conclusion : pas d'étude particulière, respect des exigences du fournisseur.

### INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils

(étude expérimentale indispensable en portée B en fonction des données démographiques)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Preciser les sources et les valeurs retenues

Argumentaire de la conclusion : NA, analyse qualitative.

### DECLARATION D'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 30/11/2009

Autorisée par : FD

Signature

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

## 11.4 Processus complexe : Protéinogramme

En fonction du contexte clinique et du résultat du protéinogramme, le processus analytique se poursuivra, sur le même échantillon, par exemple par d'autres examens (dosage de protéines spécifiques, immunotypage...).



### Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE		
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : Electrophorèse des protéines sériques		
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ..)		
DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Sous-processus 1	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation: <input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude <input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences <input checked="" type="checkbox"/> 11. Contamination <input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

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

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

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

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



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 1 : électrophorèse des protéines sériques

Portée A  ; Portée B  (à justifier)

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Protéines sériques			
Principe de la Méthode :	Electrophorèse capillaire			
Type d'échantillon primaire :	Sérum			
Type de récipient, additif :	Tube sec			
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation 10 minutes à 4000 rpm			
Unités :	g/L			
Critères d'interprétation* :	Valeurs fournis par le fabricant			
	Albumine	36,9 à 47,2 g/L	B1	3,6 à 5,8 g/L
	a1	2,5 à 5,5 g/L	B1	1,5 à 5,6 g/L
	a2	4,5 à 8 g/L	T	6,1 à 12,6 g/L
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui			
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	GA			
Équipement (instrument, analyseur, etc.) :	VS Helena Bioscience			
Référence du réactif :	VS serum protein 6 band zoom kit (ref 800600)			
Matériau d'étalonnage (références) :	NA			
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA			

### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	CD, PD, SF
Procédure de validation/mode opératoire :	PGTEC004 Procédure de validation des méthodes et de gestion de la portée flexible
Procédure de gestion de la portée flexible :	
Période d'étude :	Avril mai 2012
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	16/04/2012

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



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>3</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) du système de management de la qualité
Matière (échantillons)	Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs : ...)	5	Sang total sans anticoagulant	PGECH001 procédure de prélèvement MOECH001 mode opératoire des prélèvements sanguins
	Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...):	3	Centrifugation	PGECH002 préparation / conservation des échantillons
Milieu	Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage, ...):	2	T° 15 à 30°C Specification Helena	Relevé de T° quotidien Thermomètre mini max
Matériel (équipements)	Surveillance des dérives	2	N° de série 5822184007	Contrat de maintenance avec le fournisseur HELENA BIOSCIENCE 1. Exigences métrologiques : aucunes 2. Contrôle du couple automate / réactif par passage de CIQ. 3. Exigences Informatiques : <ul style="list-style-type: none"><li>• maîtrise par les techniciens (Formation fournisseur)</li><li>• Vérification de connexion (validation par 300 dossiers test)</li></ul> Vérification de connexion régulière par les EEQ (4 / an)
	Informatique embarquée	2		
Matériel (réactifs)	Nature du réactif	2	V8 serum protein 6 band zoom kit (ref 800800)	Marquage CE
	Matériau de référence	3	Contrôles C'Etrol Serum Control d'Helena Biosciences (réf. 802400 et 802500)	Rythme de passage : 2 niveaux (normal + anormal) / capillaire / semaine – au total 8 capillaires
Méthode	Limites de la méthode	2	Bibliographie et/ou essai sur site	Documents fournisseur, résultats des essais ODANAP01 (vérif. Validation de méthode)
	Causes d'incertitude mesure	2	Calculs	Enregistrement de l'essai sur site (cf. SH GTA 14) ODANAP05 (éval. Des incertitudes de mesure)
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	5	Procédure formation/habilitation du personnel, plan de formation	PGPER001 procédure de formation ERPER030 grille de compétence : techniciens

<sup>3</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Preciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) :  
sérum du jour (conservation à température ambiante)

	Echantillons	Nombre de valeurs (N)	REPETABILITE					Conclusion <sup>5</sup>
			Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fourmeilleur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	
Albumine	Capillaire 1	28	57,612	0,32	0,6	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 2	28	57,706	0,295	0,5	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 3	28	57,583	0,370	0,6	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 4	28	57,793	0,283	0,5	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 5	28	57,382	0,330	0,6	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 6	28	57,765	0,309	0,5	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 7	28	57,532	0,322	0,6	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 8	28	57,619	0,292	0,5	0,8	3,1 (Ricos)	Conforme
$\alpha_1$ globuline	Capillaire 1	28	6,321	0,167	2,6	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 2	28	6,331	0,203	3,2	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 3	28	6,331	0,210	3,3	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 4	28	6,343	0,238	3,7	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 5	28	6,328	0,216	3,4	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 6	28	6,378	0,229	3,6	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 7	28	6,403	0,280	4,4	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 8	28	6,350	0,260	4,1	3,1	11,4 (Ricos)	Conforme
$\alpha_2$ globuline	Capillaire 1	28	8,897	0,203	2,3	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 2	28	8,830	0,240	2,7	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 3	28	8,805	0,233	2,6	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 4	28	8,838	0,286	3,2	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 5	28	8,836	0,256	2,9	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 6	28	8,717	0,260	3,0	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 7	28	8,830	0,317	3,6	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 8	28	8,732	0,300	3,4	2,9	10,3 (Ricos)	Conforme
$\gamma$ globuline	Capillaire 1	28	13,382	0,253	1,9	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 2	28	13,439	0,223	1,7	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 3	28	13,569	0,190	1,4	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 4	28	13,299	0,189	1,4	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 5	28	13,572	0,203	1,5	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 6	28	13,499	0,179	1,3	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 7	28	13,663	0,333	2,4	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 8	28	13,658	0,235	1,7	5,5	10,2 (Ricos)	Conforme

<sup>4</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Preciser la référence utilisée.

<sup>5</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

γ globuline	Capillaire 1	28	13,789	0,272	2,0	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 2	28	13,693	0,273	2,0	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 3	28	13,711	0,313	2,3	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 4	28	13,668	0,206	1,5	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 5	28	13,883	0,310	2,2	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 6	28	13,641	0,293	2,1	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 7	28	13,571	0,353	2,6	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme
	Capillaire 8	28	13,641	0,355	2,6	2,2	14,6 (Ricos)	Conforme

Argumentaire de la conclusion :

Les CV sont conformes aux recommandations du fournisseur pour albumine, β et γ globulines ; ils sont plus meilleurs que ceux obtenus en 2009 sur gel d'agarose (SAS-3). Toutes les valeurs de CV sont inférieures aux recommandations de Ricos et al.

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fourisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	Conclusion <sup>5</sup>
Albumine							
Echantillon niveau 1	16	60,527	0,402	0,7	0,69	1,6 (Ricos)	Conforme
Echantillon niveau 2	16	54,896	0,384	0,7	0,89	1,6 (Ricos)	Conforme
α1 globuline							
Echantillon niveau 1	16	6,883	0,108	1,6	4,81	5,7 (Ricos)	Conforme
Echantillon niveau 2	16	6,763	0,121	1,8	4,81	5,7 (Ricos)	Conforme
α2 globuline							
Echantillon niveau 1	16	7,834	0,161	2,1	3,89	5,2 (Ricos)	Conforme
Echantillon niveau 2	16	7,898	0,232	2,9	3,89	5,2 (Ricos)	Conforme
β1 globuline							
Echantillon niveau 1	16	7,614	0,250	3,3	3,2	5,1 (Ricos)	Conforme
Echantillon niveau 2	16	6,815	0,136	2,0	3,2	5,1 (Ricos)	Conforme
β2 globuline							
Echantillon niveau 1	16	4,323	0,052	1,2	3,2	5,1 (Ricos)	Conforme
Echantillon niveau 2	16	3,839	0,145	3,8	3,2	5,1 (Ricos)	Conforme
γ globuline							
Echantillon niveau 1	16	13,170	0,243	1,8	2,72	7,3 (Ricos)	Conforme
Echantillon niveau 2	16	19,788	0,145	0,6	2,72	7,3 (Ricos)	Conforme

Argumentaire de la conclusion :

La fidélité intermédiaire est conforme aux recommandations du fournisseur et meilleure qu'en gel d'agarose (SAS-3). Toutes les valeurs de CV sont inférieures aux recommandations de Ricos et al.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### VARIABILITE INTER-OPERATEURS

Applicable  ; non applicable

Opérateur évalué 1	Technicienne titulaire du poste PD
Opérateur évalué 2	Technicienne suppléante CAT
Confrontation lecture quantitative (n=100) et qualitative (n=66)	

Argumentaire de la conclusion :

100% de concordance sur la lecture quantitative et 95% de concordance sur la lecture qualitative

### JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paires)	Bias (%) / groupe de paires	Moyenne générale (toutes techniques)	Bias (%) / moyenne générale	Bias (%) Limite <sup>4</sup>	Conclusion <sup>5</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								
Echantillon CIQ niveau 2								

Argumentaire de la conclusion : absence de contrôles internes externalisés

### EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)

Contrôles quantitatifs  ; Contrôles qualitatifs

Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de paires)	Cible (toutes techniques)	Bias (%) / groupe de paires	Bias (%) / toute technique	Bias (%) Limite <sup>4</sup>	Conclusion <sup>5</sup>
Echantillon Albumine	57,7%	58,09%	58,23%	-0,671	-0,910	± 3,9 (Ricos)	Conforme
Echantillon α1globuline	6,7%	5,45%	3,92%	22,936	70,918	± 15,7 (Ricos)	Non conforme
Echantillon α2globuline	10,10%	10,50%	10,8%	-3,992	-6,481	± 12,5 (Ricos)	Conforme
Echantillon βglobuline	6,6%	7,03%	6,37%	-6,117	3,611	± 11,7 (Ricos)	Conforme
Echantillon γglobuline	15,2%	13,88%	13,37%	9,510	13,687	± 16,8 (Ricos)	Conforme

Argumentaire de la conclusion :

Résultats conformes aux objectifs souhaités (valeurs données par Ricos et al)

A surveiller les résultats de l'α1globuline (nombre de paires faible)

### SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE

(étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible et pertinente en portée A)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

/

Argumentaire de la conclusion : /



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :		
Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	Méthode CIQ EEQ	
	V8 capillaire	Gel d'agarose (oct 2011)
Quantification de l'incertitude Albumine :	2,6 %	8,3 %
Quantification de l'incertitude $\alpha_1$ globuline :	28,2 %	21,6 %
Quantification de l'incertitude $\alpha_2$ globuline :	12 %	18,4 %
Quantification de l'incertitude $\beta$ globuline :	15,4 %	24,9 %
Quantification de l'incertitude $\gamma$ globuline :	13,4 %	37,4 %

Argumentaire de la conclusion :

Meilleures performances analytiques avec la technique capillaire sur le V8 comparée au gel d'agarose (résultats obtenus en octobre 2011).

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A)		
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>		
Limite de détection :	Un sérum comportant une bande monoclonale gamma a été dilué au 1/50 <sup>o</sup> . Puis une gamme de dilution (1/50 à 1/3200 <sup>o</sup> ) a été réalisée par dilutions en cascade.	

Argumentaire de la conclusion : seuil de détection d'une gammaglobuline monoclonale à partir de 3mg/L

COMPARAISON DE METHODES :		
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Documentation fournisseur	
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Helena SAS 3 SAS 4	
Nombre de mesures :	66 patients passés en double (V8 et SAS3 SAS4)	
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Albumine	Min/ Max
	15,52	50,28
	2,88	6,43
	4,1	13,24
	5,16	16,01
	3,97	43,36
Méthode d'exploitation des résultats :	droite des moindres rectangles et Recherche de concordance sur la lecture visuelle : lecture en double aveugle des 66 profils sur chaque automate avec une confirmation d'une dysglobulinémie en immunofixation	
Equation de la droite de régression :	Albumine	$y=1,1679x - 3,855$
	$\alpha_1$ globuline	$y=0,7623x + 2,5619$
	$\alpha_2$ globuline	$y=0,7762x + 1,1403$
	$\beta$ globuline	$y=0,8035x + 0,3399$
	$\gamma$ globuline	$y=1,0528x - 3,1008$
Concordance catégorielle (présence ou absence de pic monoclonal)	15 discordances liées à une meilleure séparation par le capillaire par rapport au gel d'agarose (soit 77% de profils concordants)	

Argumentaire de la conclusion : Meilleure détection des pics monoclonaux par le V8



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale Indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :

troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :	Cf données fournisseur.
Limite de quantification :	Cf données fournisseur.
Limite supérieure de linéarité :	Cf données fournisseur.

Argumentaire de la conclusion : /

### INTERFERENCES (étude expérimentale Indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Hémolyse	risque de bande entre les fractions α2 et β
Evaporation	concentration des fractions

Argumentaire de la conclusion

1- la présence d'une bande liée à l'hémolyse peut être confirmé au vu de l'aspect du serum ou en confirmant l'absence de bande en réalisant une Immunofixation.

2- Pour éviter la concentration in vitro des fractions, conserver les tubes à prélèvements bouchés

### CONTAMINATION (étude expérimentale Indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, βHCG, ...):	1. Contamination croisée de l'aiguille (n=24) 2. Accumulation dans le capillaire (n=15) 3. Interférence du fibrinogène (n=8)
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):	NA

Argumentaire de la conclusion :

1. Plc γglobuline et eau physiologique. Passage en alternance selon le protocole du fournisseur Helena Biosciences.
2. Eau physiologique, hypoglobulinémie, hyperglobulinémie. Passage en alternance selon le protocole du fournisseur Helena Biosciences
3. Passage de d'échantillons de plasma (n=6)

### ROUSTESSE et STABILITE des REACTIFS

(étude expérimentale Indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	Cf données fournisseur
Stabilité des réactifs après ouverture, embarquées, ...	Cf données fournisseur

Argumentaire de la conclusion : /

### INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale Indispensable en portée B)

Applicable  ; non applicable

Valeurs de référence	Cf données fournisseur
Argumentaire de la conclusion : /	



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 16/04/2012

Sur le plan des performances de répétabilité et de fidélité intermédiaire, les coefficients de variation obtenus sont très en deçà des recommandations de Ricos et collaborateurs.

Comparativement aux recommandations de la société Helena Biosciences en matière de reproductibilité, nous trouvons des valeurs conformes à celles de la fiche technique. Par contre pour la répétabilité, nous observons des CV un peu plus élevé que ceux du fournisseur pour les fractions α1globuline et en moindre mesure pour l'α2globuline.

Aucune contamination n'a pu être mise en évidence, que ce soit à cause de l'aiguille échantillon ou par accumulation de protéines dans le capillaire. Le V8 possède un système de rinçage par nettoyage performant, n'entrant pas la cadence de travail.

La corrélation réalisée sur 66 patients, entre le SAS-3 utilisant le gel d'agarose et le V8 a montré de très bonnes performances du capillaire. Quelques discordances sur le plan quantitatif (35 % des échantillons) sont apparues.

Néanmoins, un net avantage revient au V8 qui de par sa meilleure séparation des protéines s'est montré plus précis dans l'identification des fractions.

Le V8 nous permet :

- 1- Meilleures performances analytiques par rapport au gel d'agarose,
- 2- Gain de temps dans les manipulations techniques,
- 3- Rendu des résultats plus rapide avec la réalisation de plusieurs séries dans la journée,
- 4- Nette diminution de l'élimination des déchets (colorants),
- 5- Facilité d'utilisation par les techniciens : prise en main en 2 jours environ

Autorisée par : MH

Signature

## 11.5 Processus complexe : Hémogramme

Les constantes érythrocytaires calculées ne font pas partie de la vérification technique mais leur calcul doit être vérifié dans le cadre de la qualification de l'analyseur.



### Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE			
<b>Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens)</b> Numération Formule sanguine 1- examen multi-méthodes automatisé 2- examen microscopique de frottis colorés au MGG			
Processus simple <input type="checkbox"/> ; Processus complexe <input checked="" type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : 2)			
DESCRIPTION DU PROCESSUS DE VERIFICATION / VALIDATION			
	Etapes et éléments à vérifier (argumentation)	Essai Biblio NA	Modalités de vérification/validation <sup>1</sup> :
Sous-processus 1	3 Niveaux / 30 passages CIQ par niv.	E	<input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité
	3 Niveaux / 30 passages CIQ par niv.	E	<input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire
	Cf. formule sanguine manuelle	NA	<input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs
	Absence de CIQ externalisé	NA	<input type="checkbox"/> 4. Justesse
	Estimation sur 1 EEQ	E	<input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude
	Fiches techniques fournisseurs	B	<input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique
	Estimation sur 1 EEQ	E	<input type="checkbox"/> 7. Incertitudes
	Fiches techniques fournisseurs	B	<input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure
	Sur 50 échantillons patients	E	<input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes
	Fiches techniques fournisseurs	B	<input type="checkbox"/> 10. Interférences
	Fiches techniques fournisseurs	B	<input type="checkbox"/> 11. Contamination
	Fiches techniques fournisseurs	B	<input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs
	Recommandation HAS (ANAES 2003)	B	<input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence
Sous-processus 2	Peu pertinent	NA	<input type="checkbox"/> 1. Répétabilité
	Peu pertinent	NA	<input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire
	Comparaisons Interlecteurs	E	<input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs
	Discordance vs ref (automate ou EEQ)	E	<input checked="" type="checkbox"/> 4. Justesse
	Cf ci-dessus	E	<input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude
	Cf commentaires à l'item correspondant	NA	<input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique
	Cf ci-dessus + tableau de maîtrise des risques)	E	<input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes
	Cf commentaires à l'item correspondant	NA	<input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure
	Cf ci-dessus	E	<input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes
	Cf commentaires à l'item correspondant	B	<input type="checkbox"/> 10. Interférences
Cf commentaires à l'item correspondant	B	<input type="checkbox"/> 11. Contamination	
Cf commentaires à l'item correspondant	B	<input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs	
Cf dossier quantitatif	B	<input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence	

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

Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, à minima.

Le type de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer

L'absence d'applicabilité de certains items (NA) est à justifier dans le corps du document



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

Argumentaire (le cas échéant) :

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 1 : examen multi-méthodes automatisé

Portée A  ; Portée B

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Numération Globules rouges, Globules blancs, Plaquettes Dosage Hémoglobine Identification et comptage relatif population leucocytaires Calcul des constantes érythrocytaires			
Principe de la Méthode :	Impédancemétrie automatisée (numération globulaire) Spectrophotométrie (dosage hémoglobine) Diffraction laser / Spectrophotométrie (formule sanguine) Calcul (constantes érythrocytaires)			
Type d'échantillon primaire :	Sang total EDTA K3			
Type de récipient, additifs :	EDTA K3			
Prétraitement de l'échantillon :	Homogénéisation (automate ou par retour/trempe lents 2 minutes)			
Unités :	GB	G/L	Hb	g/dl
	GR	g/L	Ht	
	Pt	G/L	VGM	fL
	Formule	%	TCMH	pg
		G/L	CCMH	%
Intervalles de référence <sup>a</sup> :	Valeurs fournisseur et Valeurs seuils HAS (cf Infra)			
Marquage CE (Oui/Non)	Oui			
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	XY			
Équipement (Instrument, analyseur, etc.)	120 DX et 120 DY en miroir			
Référence du réactif :	diluant isotonique (isoton), réactif de lyse pour la numération (lysebio), réactif de lyse pour leucocytes (lyseb), réactif de lyse spécifique pour basophiles (basolyse), Réactif de nettoyage des tubulures (cleaner), Réactif de décontamination / détersion circuit fluidique (minoclair)			
Matériau d'étalonnage (références) :	Etalonnage par fournisseur			
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	3 à 5 niveaux de cellularité (effectué par le fournisseur)			

### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	C. F. et F. D. (formation externe par Horiba) S. G. (formation interne)
Procédure de validation/mode opératoire :	PG...v02 Procédure de validation des méthodes INS...v01 réalisation des essais de validation
Procédure de gestion de la portée flexible :	PG...v03 Procédure de gestion de la portée flexible
Période d'étude :	Avril mai 2010 (tests sur site + reprise résultats CQ ant.)
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	16/04/10

<sup>a</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>3</sup>	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identitovigilance	4	Vérification systématique (accueil, prélevement, biologistes) Formation du personnel	MO...v03 Accueil d'un dossier SIL INS...v02 Vérification prescriptions ENR...v03 Critères à réception PG....v01 procédure de formation
	Préparation/Information du patient	2	Information des patients et préleveurs	MO...v05 Instructions de prélevement Mémento du préleveur v11 ENR.... « préparez-vous »
	Type de contenants Anticoagulant non préconisé	3	Formation des préleveurs	MO...v05 Instructions de prélevement Mémento du préleveur v11
	Nature et volume de l'échantillon	3	Contrôle à réception	ENR...v03 Critères à réception PG...v05 Gestion des NC
	Délai et température avant traitement analytique	2	Gestion préleveurs externes Gestion de la logistique (circuits, enceintes)	PG....v06 Tournées Internes PG...v03 Métrologie
	Sang coagulé ou caillot	4	Formation des préleveurs Contrôle à réception	
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (T°, ...)	2	Méthodologie/suivi des enceintes	DX... à DX... Fiches réactifs ENR...v08 Relevé de T° quotidien Enregistrement de la température
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (T°, ...)	3		
	Exigences environnementales pour le matériel	2		DX...v02 Manuel d'utilisation du fournisseur DX... Rapport d'Installation ENR... v08 Relevé de T° quotidien Enregistrement de la température
Matériel (équipements)	Surveillance des dérives	3	CIQ externalisé  EEQ + CNQ Calcul Incertitudes (GTA 14) Comparabilité automates  Maintenances internes Maintenances externes	CIQ 3 niveaux alternés en début et fin de série quotidienne (et sur mode ouvert en cas de besoin) EEQ 6 campagnes par an PG....v04 Incertitudes de mesures Corrélation initiales, suivi des CQ, analyse mensuelle des tendances Enregistrements des maintenances
	Contamination	1	Respect des conditions opératoires du fournisseur Maintenances internes et externes	DX...v02 Manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrement des maintenances
	Informatique embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données)	4	Paramétrage du middleware Vérification règles  Vérification Connections, calculs, arrondis, troncatures  Redondance code barre annuelle	Dossier paramétrage middleware Dossier vérification middleware  Dossier des jeux d'essai middleware EEQ traitées comme patients Reprise manuelles quotidiennes  Purge de la base des résultats automatique trimestrielle

<sup>3</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>3</sup>	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	2	Métreologie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	DX... à DX... Fiches réactifs Horiba ENR...v08 Relevé de T° quotidien Enregistrement de la température
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	2	Gestion des stocks	PG...v06 Gestion des stocks
Méthode	Limites de la méthode (déttection, quantification, linéarité, interférences, ...)	2	Bibliographie fournisseur	DX... à DX... Fiches réactifs DX...v02 Manuel d'utilisation du fournisseur
	Causes d'incertitude de mesure	2	Calculs	ENR...v08 Tableur Performances Méthodes
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	4	Personnel formé et habilité	PG...v01 procédure de formation ENR...v03 grille de compétences et habilitation techniciens Dossiers personnels

LA VERSION ELECTRONIQUE EST LA VERSION OFFICIELLE



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	REPETABILITE					Conclusion <sup>4</sup>
		Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fourisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	
Voir tableau ci-dessous							

ANALYTE	Valeurs acceptables		120 DX		12DF	
	Fournisseur	Résultats Tests	Critères retenus		Résultats Tests	Critères retenus
			CV	CV		
GB	2,0	1,18	OK	1,18	OK	OK
GR	2,0	0,80	OK	1,19	OK	OK
HT	1,0	1,18	KO	0,98	OK	OK
Hb	2,0	0,55	OK	0,51	OK	OK
VGM	1,0	0,54	OK	0,96	OK	OK
PLA	5,0	2,91	OK	3,70	OK	OK
Lympho	5,0	3,59	OK	4,46	OK	OK
Mono	10,0	8,65	OK	12,70	KO	OK
Neutro	3,0	1,91	OK	2,84	OK	OK
Eosino	20,0	10,50	OK	11,50	OK	OK
Baso	30,0	10,90	OK	12,40	OK	OK

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants (n=30) pour la majorité des paramètres. Les deux résultats > aux critères d'acceptabilité n'ont pas de significativité clinique, et la fidélité intermédiaire est conforme aux exigences fournisseur.

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	FIDELITE INTERMEDIAIRE					Conclusion <sup>5</sup>
		Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fourisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	
Voir tableau ci-dessous							

<sup>4</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Preciser la référence utilisée.

<sup>5</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

ANALYTE	Niveaux*	Valeurs acceptables		120 DX		12 DF					
		Fournisseur	Ricos	Résultats Tests		Critères retenus		Résultats Tests		Critères retenus	
				CV	CV	CV	Fourn.	Ricos	CV	Fourn.	Ricos
GB	1	5,00	8,10	2,26	OK	OK	1,98	OK	OK	OK	OK
	2	4,00	5,50	2,99	OK	OK	1,58	OK	OK	OK	OK
	3	3,00	2,70	1,75	OK	OK	1,58	OK	OK	OK	OK
GR	1	3,00	2,40	1,32	OK	OK	1,09	OK	OK	OK	OK
	2	2,00	1,60	1,03	OK	OK	0,21	OK	OK	OK	OK
	3	2,00	0,80	0,77	OK	OK	1,39	OK	KO	OK	OK
HT	1	3,00	2,10	1,80	OK	OK	0,93	OK	OK	OK	OK
	2	2,00	1,40	1,54	OK	KO	0,74	OK	KO	OK	OK
	3	2,00	0,70	1,42	OK	KO	0,67	OK	KO	OK	OK
Hb	1	4,00	2,10	1,20	OK	OK	1,58	OK	OK	OK	OK
	2	4,00	1,40	1,14	OK	OK	1,35	OK	OK	OK	OK
	3	3,00	0,70	1,12	OK	KO	1,08	OK	KO	OK	OK
VGM	1	3,00	1,00	1,02	OK	KO	0,84	OK	OK	OK	OK
	2	3,00	0,70	1,27	OK	KO	0,64	OK	OK	OK	OK
	3	2,00	0,30	1,02	OK	KO	1,84	OK	KO	OK	OK
PLA	1	15,00	6,80	7,25	OK	KO	2,40	OK	OK	OK	OK
	2	8,00	4,60	2,41	OK	OK	4,88	OK	KO	OK	OK
	3	6,00	2,30	2,11	OK	OK	2,35	OK	KO	OK	OK

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants (bornes fournisseur).

VARIABILITE INTER-OPERATEURS Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>	
Opérateur évalué 1	Essai sur site – résultats de la variabilité
Opérateur évalué 2	
...	

Argumentaire de la conclusion : cet item est abordé sous forme d'essais comparatifs entre opérateurs dans la vérification des formules manuelles (cf sous-processus 2).

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à Justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paires)	Bias (%) / groupe de paires	Moyenne générale (toutes techniques)	Bias (%) / moyenne générale	Bias (%) Limite <sup>a</sup>	Conclusion <sup>b</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								
Echantillon CIQ niveau 2								

Argumentaire de la conclusion : absence de CIQ externalisé

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)							
Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de paires)	Cible (toutes techniques)	Bias (%) / groupe de paires	Bias (%) / toute technique	Bias (%) Limite <sup>a</sup>	Conclusion <sup>b</sup>
GR	3,6	3,5	3,7	2,85%	-2,7%	5%	Conforme
GB	11,4	11,2	11,6	1,8%	-1,7%	10%	Conforme
Pt	450	435	460	3,4%	-2,2%	10%	Conforme

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants (les échantillons testés correspondent aux résultats de l'EEQ 20100301)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

Vrais positifs	/
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : Cf. fiches techniques fournisseur

**INCERTITUDE DE MESURE** (niveaux, choix du mode de calcul, Interprétation) :  
 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle)  ; calcul

	Incertitudes calculées	Exigence de performances																														
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	EEQ + CIQ																															
Quantification de l'incertitude :	<table border="1"> <tr> <td>GB</td><td>5,6 %</td><td>PNN</td><td>9,3 %</td><td>Hb</td><td>2,88 %</td></tr> <tr> <td>GR</td><td>1,88 %</td><td>PNE</td><td>35 %</td><td>Ht</td><td>28,9 %</td></tr> <tr> <td>PII</td><td>5,7 %</td><td>PNB</td><td>30 %</td><td>VGM</td><td>4,8 %</td></tr> <tr> <td></td><td></td><td>Mo</td><td>52 %</td><td>TCMH</td><td>2,7 %</td></tr> <tr> <td></td><td></td><td>LY</td><td>21 %</td><td>CCMH</td><td>78 %</td></tr> </table>	GB	5,6 %	PNN	9,3 %	Hb	2,88 %	GR	1,88 %	PNE	35 %	Ht	28,9 %	PII	5,7 %	PNB	30 %	VGM	4,8 %			Mo	52 %	TCMH	2,7 %			LY	21 %	CCMH	78 %	
GB	5,6 %	PNN	9,3 %	Hb	2,88 %																											
GR	1,88 %	PNE	35 %	Ht	28,9 %																											
PII	5,7 %	PNB	30 %	VGM	4,8 %																											
		Mo	52 %	TCMH	2,7 %																											
		LY	21 %	CCMH	78 %																											

Argumentaire de la conclusion (Impact sur la zone décisionnelle ?) : calcul effectué sur une seule valeur d'EEQ à suivre au long cours avec les résultats de CIQ externalisé (mise en place prochaine). Résultats pour la formule sanguine peu pertinents (à confronter à l'évaluation des résultats de la formule manuelle).

**LIMITE DE DETECTION** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A)  
 Applicable  ; non applicable

Limite de detection :	LD trouvée ou référence bibliographique
-----------------------	---

Argumentaire de la conclusion :

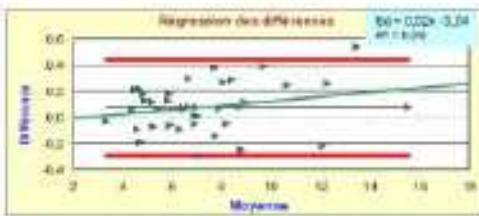
**COMPARAISON DE METHODES** :  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètre : GB	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications, ...)	Impédancemétrie automatisée Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthode comparée : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adapté à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 3,32 – max : 15,60
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 1,01x - 0,03$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs hautes (pas d'impact clinique)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

--



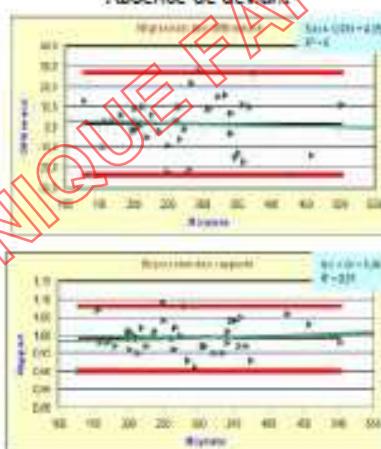
Tableur disponible au laboratoire

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : GR	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Impédancemétrie automatisée Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adapté à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 3,18 – max : 5,60
Méthode d'exploitation des résultats	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression	$Y = 0,98x + 0,02$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	2 déviants dans les valeurs moyennes (pas d'impact clinique)

Tableur disponible au laboratoire



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

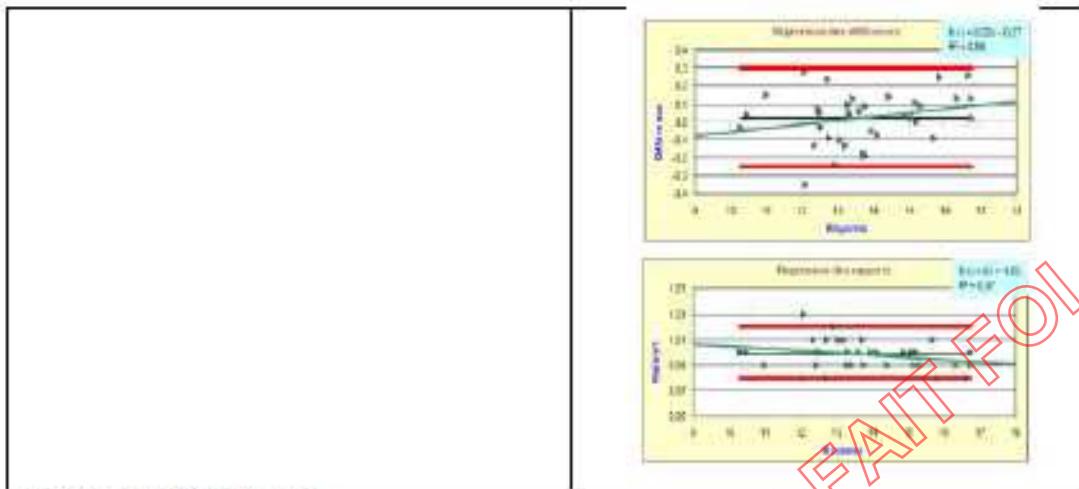
COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : PLT	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Impédancemétrie automatisée Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 135 – max : 508
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 0,98x + 6,98$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	Absence de déviant 

Tableur disponible au laboratoire.

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : HB	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Spectrophotométrie automatisée Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 10,3 – max : 16,8
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 1,02x - 0,23$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs moyennes (pas d'impact clinique)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale



Tableur disponible au laboratoire

COMPARAISON DE MÉTHODES	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> : non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : HT	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthode comparée : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 31,2 – max : 49,8
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 0,99x - 0,56$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs moyennes (pas d'impact clinique)

Tableur disponible au laboratoire



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : VGM	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Calcul automatisé Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 74 – max : 107
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 0,92x + 5,75$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs moyennes (pas d'impact clinique)

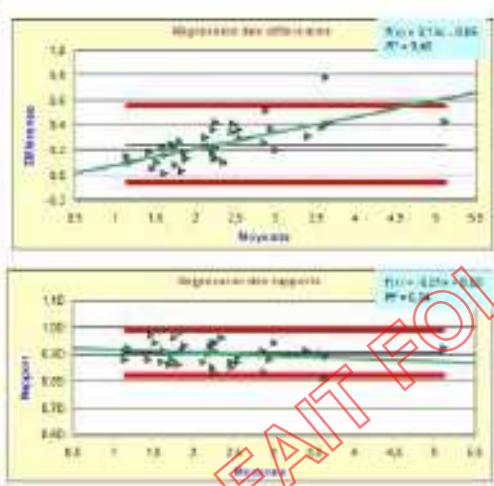
Tableur disponible au laboratoire

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : Ly	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Diffraction Laser / Spectrophotométrie Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 1,21 – max : 5,33
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 1,13x - 0,03$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs moyennes (pas d'impact clinique)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

--



Tableur disponible au laboratoire

COMPARAISON DE MÉTHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : Mono	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Diffracteur Laser / Spectrophotométrie Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 0,21 – max : 0,99
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 0,61x + 0$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs basses (pas d'impact clinique)

Tableur disponible au laboratoire



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

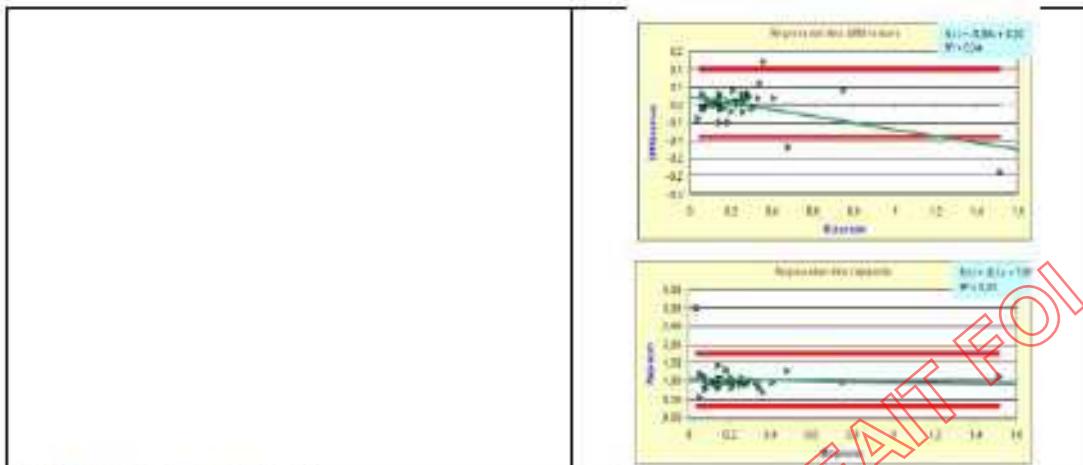
COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : Neut	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Diffraction Laser / Spectrophotométrie Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 1,53 – max : 12,32
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 1,03x + 0,03$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	2 déviants dans les valeurs Ht > Bas (pas d'impact clinique) 

Tableur disponible au laboratoire

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : Eos	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Diffraction Laser / Spectrophotométrie Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 0,02 – max : 1,42
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = 0,90x + 0,03$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs basses (pas d'impact clinique)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale



Tableur disponible au laboratoire

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : Baso	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Diffracteur Laser / Spectrophotométrie Méthodes identiques et conception identique des deux appareils en miroir. A priori pas de différences.
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Appareils en miroir : 120 DX et 120 DY
Nombre de mesures :	40
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Min : 0,01 – max : 0,14
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres carrés
Equation de la droite de régression :	$Y = -0,05x + 0,06$ : nombre de basophiles trop faible, calcul non pertinent
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	1 déviant dans les valeurs moyennes (pas d'impact clinique)

Tableur disponible au laboratoire

Argumentaire de la conclusion : la corrélation entre les deux automates en miroir est satisfaisante et permet de passer de manière aléatoire les patients sur les deux appareils. La comparabilité des résultats devra être vérifiée périodiquement.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :

troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :	/
Limite de quantification :	/
Limite supérieure de linéarité :	/

Argumentaire de la conclusion : cf. fiches techniques fournisseur

### INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubins, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

/	/
---	---

Argumentaire de la conclusion : cf. fiches techniques fournisseur

### CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, $\beta$ HCG, ...)	/
--	---

Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...)	/
---	---

Argumentaire de la conclusion : cf. fiches techniques fournisseur

### ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS

(étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	/
--	---

Stabilité des réactifs après ouverture, embarquées, ...	/
---	---

Argumentaire de la conclusion : cf. fiches techniques fournisseur

### INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)

Applicable  ; non applicable



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### Valeurs normales selon l'âge chez l'enfant

#### Numération globulaire et paramètres erythrocytaires

	GR (T/l)	Hb (g/dl)	Ht (%)	VGM (fl)	Leuco. (G/l)	Paq. (G/l)
1ère semaine	5,0 à 6,0	14,5 à 22,5	44 à 58	100 à 120	10,0 à 30,0	150 à 400
8 j à 3 mois	3,8 à 4,8	10,0 à 16,0	38 à 44	85 à 96	6,0 à 18,0	150 à 400
3 mois à 3 ans	3,6 à 5,2	10,5 à 13,5	38 à 44	70 à 86	6,0 à 15,0	150 à 400
3 à 6 ans	4,1 à 5,3	10,5 à 13,5	38 à 44	73 à 89	5,0 à 13,0	150 à 400
6 à 15 ans	4,0 à 5,4	11,5 à 14,5	37 à 45	77 à 91	5,0 à 11,0	150 à 400

#### Formule leucocytaire

	PNN (G/l)	PNE (G/l)	PNB (G/l)	Lympho. (G/l)	Mono. (G/l)
1ère semaine	6,0 à 26,0	0,2 à 0,85	0,0 à 0,64	2,0 à 11,0	0,4 à 3,1
8 j à 3 mois	1,5 à 8,5	0,2 à 1,2	0,0 à 0,2	2,0 à 11,0	0,05 à 1,1
3 mois à 3 ans	1,5 à 8,5	0,05 à 0,7	0,0 à 0,2	4,0 à 10,5	0,0 à 0,8
3 à 6 ans	1,5 à 8,5	0,02 à 0,65	0,0 à 0,2	2,0 à 8,0	0,0 à 0,6
6 à 15 ans	1,8 à 8,0	0,0 à 0,8	0,0 à 0,2	1,5 à 6,5	0,0 à 0,8

#### Références :

G SCHAISON et col. Valeurs de référence en hématologie pédiatrique, Hématologie de l'enfant. Flammarion Médecine-Sciences.

NB: les normes du tableau ci-dessus ne sont utilisées que pour la tranche < 4 ans.

A partir de 4 ans, ce sont les normes de l'ANAES (HAS) qui s'appliquent (cf. tableaux pages suivantes)

Lecture critique de l'hémogramme : valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non physiologiques.

Adulte > 18

Tableau 2A. Valeurs de référence définies par Swanson et al pour une population de plus de 15 ans (3). ANS

Age (ans)	Hommes	Femmes
Hémoglobine (g/dL)	14,00-17,57	12,10-16,40
Globules rouges ( $10^9/L$ )	4,60-6,00	4,00-5,40
> 50	4,40-5,80	4,00-5,60
VGM (fl)	25	87-98
CCMH (%)	15	30,6-33,8
Leucocytes ( $10^9/L$ )	15-49	4 000-10 500
> 50	4 000-11 000	4 000-10 000
Neutrophiles ( $10^9/L$ )	15-19	1 400-6 400
20-49	1 700-6 700	1 700-6 000
> 50	1 700-6 700	1 700-6 000
Eosinophiles ( $10^9/L$ )	> 15	40-100
Basophiles ( $10^9/L$ )	> 15	20-110
Lymphocytes ( $10^9/L$ )	> 15	1 100-5 300
Monocytes ( $10^9/L$ )	> 15	150-580
Plaquettes ( $10^9/L$ )	> 15	160 000-350 000

Argumentaire de la conclusion : les valeurs ci-dessus sont retenues comme valeurs seuils d'interprétation, et intégrées au SIL pour apparaître sur les comptes rendus à partir du 16/04/2010.

### DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : après confrontation des critères de performance obtenus avec les limites d'acceptabilité retenues par le laboratoire, le responsable technique conclut à une aptitude de la méthode d'analyse utilisée à partir du 16/04/2010.

Autorisée par : Dr JPA Responsable Technique Hématologie  
Signature



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 2 : examen microscopique de frottis colorés au MGG

Portée A  ; Portée B  (à justifier)

#### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Identification et comptage relatif population leucocytaires		
Principe de la Méthode :	Lecture au microscope après coloration MGG		
Type d'échantillon primaire :	Sang total EDTA K3		
Type de récipient, additifs :	EDTA K3		
Prétraitement de l'échantillon :	Homogénéisation (automate ou par retournements lents 2 minutes)		
Unités :	Formule	% G/L	Fractions relatives Par rapport à la numération automatisée
Critères d'interprétation <sup>6</sup> :	Valeurs seuils HAS (cf. dossier MPP quantitatif)		
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI (réactif de coloration)		
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	NA		
Équipement (instrument, analyseur, etc.) :	Microscope ES 500, lames de verres, lecture manuelle		
Référence du réactif :	MGG Prolabo n° lot 142578A		
Matériau d'étalonnage (références) :	NA		
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA		

#### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	C. F. - F. D. - A. T. - JP. A. - B. B. - PH. C - JP. G. (formations externes diverses cf. dossier personnel) S. G. - F. T. - P. H. - FH. U. - JP. K. (formation interne)
Procédure de validation/mode opératoire :	PG...v02 Procédure de validation des méthodes INS...v01 réalisation des essais de validation
Procédure de gestion de la portée flexible :	PG...v03 Procédure de gestion de la portée flexible
Période d'étude :	Avril mai 2010 (tests sur site + reprise résultats EEQ ant.)
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	16/04/10

<sup>6</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>7</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identitovigilance	4	Vérification systématique (accueil, prélèvement, biologistes) Formation du personnel	MO...v03 Accueil d'un dossier SIL INS...v02 Vérification prescriptions ENR...v03 Critères à réception (cf main d'œuvre)
	Préparation/information du patient	2	Information des patients et préteurs	MO...v05 Instructions de prélèvement Mémento du préteur v11 ENR.... « préparez-vous »
	Type de contenants Anticoagulant non préconisé	3	Formation des préteurs	MO...v05 Instructions de prélèvement Mémento du préteur v11
	Nature et volume de l'échantillon	3	Contrôle à réception	ENR...v03 Critères à réception PG...v05 Gestion des NC
	Délai et température avant traitement analytique	2	Gestion préteurs extrêmes Gestion de la logistique (circuits, enceintes)	PG....v06 Tournées Intersites PG...v03 Métrologie
	Interférences : sang coagulé ou caillot	4	Formation des préteurs Contrôle à réception	
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	2	Méthodologie des enceintes	DX.... à DX.... Fiches réactifs ENR...v08 Relevé de T° quotidien Enregistrement des températures
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)	3		
	Exigences environnementales pour le matériel	2	Bon état du microscope	DX...v05 Manuel d'utilisation du microscope ES 500 Méthodologie des enceintes
Matériel (équipements)	Surveillance des dérives	3	EEQ + CNQ Comparabilité inter-lecteurs et versus automate pour les « lames normales »	EEQ 6 campagnes par an Analyse des discordances interlecteurs et des discordances sur les EEQ
	Information embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données)	4	Paramétrage du middleware Vérification règles  Vérification saisies manuelles par autre opérateur	Dossier paramétrage middleware Dossier vérification middleware Dossier des jeux d'essai middleware  EEQ traitées comme patients Reprise manuelles quotidiennes Saisie et validation résultats par deux opérateurs différents

<sup>7</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>7</sup>	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	2	Métrieologie des enceintes de stockage (cartographie et suivi des températures)  Absence de dépôts ou de cristallisation des colorants Filtration réactifs avant utilisation (hebdomadaire)	DX... à DX.... Fiches réactifs ENR...v08 Relevé de T° quotidien Enregistrement des températures  ENR...v02 Enregistrement des Filtrations hebdomadaires
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	2	Gestion des stocks	PG...v06 Gestion des stocks
Méthode	Limites de la méthode (déttection, quantification, linéarité, interférences, ...)	2	Comparatifs interlecteurs	DX... à DX.... Fiches réactifs fournisseur DX...v02 Manuel d'utilisation du fournisseur
	Causes d'incertitude de mesure	2	Mauvais étalement Mauvaise coloration Variabilité interlecteurs	ENR....v03 comparaisons interlecteurs Formation du personnel effecteur Dossiers de formations e-FMC par opérateur
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	4	Formation et vérification des compétences du personnel	PG....v01 procédure de formation ENR...v05 grille de compétences et habilitation techniciens à la lecture des lames Dossiers de formations e-FMC par opérateur

LA VERSION ELECTRONIQUE EST LA VERSION VALIDÉE



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	REPETABILITE					
		Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fourmeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>3</sup> )	Conclusion <sup>4</sup>
Voir tableau ci-dessous							

ANALYTE	Valeurs acceptables		120 DX		12 DF	
	Fournisseur	Résultats Tests	Critères retenus		Résultats Tests	Critères retenus
			CV	CV		
GB	2,0	1,18	OK	1,18	OK	OK
GR	2,0	0,80	OK	1,18	OK	OK
HT	1,0	1,18	KO	0,98	OK	OK
Hb	2,0	0,55	OK	0,51	OK	OK
VGM	1,0	0,54	OK	0,96	OK	OK
PLA	5,0	2,91	OK	3,70	OK	OK
Lympho	5,0	3,59	OK	4,46	OK	OK
Mono	10,0	8,82	OK	12,70	KO	OK
Neutro	3,0	1,31	OK	2,04	OK	OK
Eosine	20,0	12,50	OK	11,50	OK	OK
Baso	30,0	10,90	OK	12,40	OK	OK

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants (n=30) pour la majorité des paramètres. Les deux résultats > aux critères d'acceptabilité n'ont pas de significativité clinique, et la fidélité intermédiaire est conforme aux exigences fournisseur.

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	FIDELITE INTERMEDIAIRE					
		Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fourmeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>3</sup> )	Conclusion <sup>4</sup>
Voir tableau ci-dessous							

<sup>3</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA...). Preciser la référence utilisée.

<sup>4</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

ANALYTE	Niveaux*	valeurs acceptables		120 DX		12 DF					
		Fournisseur	Ricos	Résultats Tests		Critères retenus		Résultats Tests		Critères retenus	
				CV	CV	Fourn.	Ricos	CV	Fourn.	Ricos	
GB	1	5,00	8,10	2,26	OK	OK	1,98	OK	OK		
	2	4,00	5,50	2,99	OK	OK	1,58	OK	OK		
	3	3,00	2,70	1,75	OK	OK	1,58	OK	OK		
GR	1	3,00	2,40	1,32	OK	OK	1,09	OK	OK		
	2	2,00	1,60	1,03	OK	OK	0,27	OK	OK		
	3	2,00	0,80	0,77	OK	OK	1,39	OK	KO		
HT	1	3,00	2,10	1,86	OK	OK	0,93	OK	OK		
	2	2,00	1,40	1,54	OK	KO	0,74	OK	KO		
	3	2,00	0,70	1,42	OK	KO	0,67	OK	KO		
Hb	1	4,00	2,10	1,26	OK	OK	1,58	OK	OK		
	2	4,00	1,40	1,14	OK	OK	1,35	OK	OK		
	3	3,00	0,70	1,12	OK	KO	1,08	OK	KO		
VGM	1	3,00	1,00	1,02	OK	KO	0,88	OK	OK		
	2	3,00	0,70	1,27	OK	KO	0,64	OK	OK		
	3	2,00	0,30	1,02	OK	KO	0,84	OK	KO		
PLA	1	15,00	6,80	7,25	OK	KO	2,40	OK	OK		
	2	8,00	4,60	2,41	OK	OK	4,88	OK	KO		
	3	6,00	2,30	2,11	OK	OK	2,35	OK	KO		

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants (bornes fournisseur)

VARIABILITE INTER-OPERATEURS	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> non-applicable <input type="checkbox"/>	
« justesse » Interopérateurs	
Opérateur évalué 1	Z = 1,3
Opérateur évalué 2	Z= - 0,8
Variabilité Interopérateurs :	
CV global PNN = 18% CV global Ly = 26% CV global Mono = 43%	
Reco. types cellulaires	
Opérateur 1 Opérateur 2 ...	OK OK ...

Argumentaire de la conclusion : les 12 opérateurs prévus satisfont aux critères de lecture de lame.

La variabilité statistique effectuée à l'aide des lames normales en inter-lecteurs et versus automate montre une bonne homogénéité des lecteurs concernant les cellules normales (Z-Scores et CV calculés). Ces indicateurs ne sont considérés pertinents que pour les PNN, Ly, et Mo, les autres types cellulaires étant en proportion trop faibles dans les frottis normaux.

Les lecteurs de frottis en méthode manuelle sont validés et autorisés à effectuer les frottis de contrôle en cas d'alarmes automates (cf. dossiers personnels et matrice de compétence).



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Exemple de fichier de résultats par opérateur ci-dessous (les autres tableurs sont disponibles au plateau technique dans le répertoire C:\AQ\Valmeth\Hemato\ du PC n° QUA\_PTA\_02):

Fichier de résultat du Opérateur 1

Opérateur Labo	Cible	Luminosité	Moyenne	Blais (%) / Groupe de pairs	Blais (%) / toutes techniques	Blais (%) / moyenne générale	Blais (%) / limite
ME0100001	Valeur Attendue	-29	-30	-21	-1	-1	0
ME0100001	Valeur Attendue	-29	-30	-29	-2	-3	0
29	Moyenne du Groupe	-27,31	-24	-35,21	-1,59	-0,21	0,67
Lame N°	Ecart Type	5,80	3,80	8,27	1,25	0,41	0,39
ME0100001	Z-score V. Attendue	-1,00	-0,02	0,88	0,88	0,23	0,09
	Z-score Groupe	-1,01	-0,15	0,31	1,04	0,92	-0,19
	Résultat attendu	25	0	58	1	1	0
ME0100001	Valeur Attendue	-29	-30	-29	-1	-3	0
28	Moyenne du Groupe	-21,28	-2,39	-40,07	6,48	-5,18	0,60
Lame N°	Ecart Type	3,95	1,20	8,35	0,51	0,39	0,50
ME0100001	Z-score V. Attendue	-1,57	-0,98	0,62	0,24	0,01	0,07
	Z-score Groupe	-0,98	-0,12	0,71	1,28	0,41	-0,09
	Résultat attendu	-30,00	0,00	-53,00	6,23	0,00	0,00
ME0100001	Valeur Attendue	-31,00	-2,89	-34,98	5,38	-1,22	0,00
29	Moyenne du Groupe	-37,21	4,15	-32,74	0,18	-0,11	0,00
Lame N°	Ecart Type	4,09	7,50	4,52	0,51	0,34	0,00
ME0100001	Z-score V. Attendue	-0,76	-0,85	0,81	0,73	-0,01	0,07
	Z-score Groupe	-0,52	-0,48	0,11	0,78	0,41	-0,07
	Résultat attendu	-14,00	0,00	-50,00	2,01	0,00	0,00
ME0100001	Valeur Attendue	-15,95	-2,29	-71,26	5,38	-2,75	0,60
29	Moyenne du Groupe	-18,79	8,81	-44,52	2,47	-8,70	0,60
Lame N°	Ecart Type	3,85	2,88	5,13	1,24	-0,47	0,30
ME0100001	Z-score V. Attendue	-0,22	-0,09	0,55	0,51	-0,51	0,07
	Z-score Groupe	-0,90	-0,23	1,28	-0,71	-0,71	-0,07
	Résultat attendu	-38,00	0,00	-97,00	1,00	0,00	0,00
ME0100001	Valeur Attendue	-29,70	-1,39	-51,00	0,11	-0,99	0,00
29	Moyenne du Groupe	-52,25	4,12	-30,00	-2,11	-0,29	0,00
Lame N°	Ecart Type	8,12	2,15	1,98	0,91	0,00	0,00
ME0100001	Z-score V. Attendue	0,90	0,47	0,61	0,50	-0,40	0,07
	Z-score Groupe	-2,00	-0,89	0,21	-1,20	-0,80	-0,25
	Résultat attendu	-55,00	0,00	-72,00	1,01	0,00	0,00
ME0100001	Valeur Attendue	-29,50	-0,49	-51,00	2,08	-2,39	0,60
29	Moyenne du Groupe	-50,75	4,26	-35,00	2,21	-0,11	0,10
Lame N°	Ecart Type	5,98	2,80	6,70	1,40	0,37	0,45
ME0100001	Z-score V. Attendue	-0,69	-0,41	-1,20	-0,92	-0,62	0,00
	Z-score Groupe	-0,26	-0,21	0,31	0,81	0,21	-0,22
	Résultat attendu	-29,00	0,00	-51,00	1,01	0,00	0,00
ME0100001	Valeur Attendue	-29,70	-1,39	-51,00	0,11	-0,99	0,00
29	Moyenne du Groupe	-52,25	4,12	-30,00	-2,11	-0,29	0,00
Lame N°	Ecart Type	8,12	2,15	1,98	0,91	0,00	0,00
ME0100001	Z-score V. Attendue	0,90	0,47	0,61	0,50	-0,40	0,07
	Z-score Groupe	-2,00	-0,89	0,21	-1,20	-0,80	-0,25
	Résultat attendu	-55,00	0,00	-72,00	1,01	0,00	0,00
ME0100001	Valeur Attendue	-15,00	-5,30	-27,70	1,29	-0,30	0,00
29	Moyenne du Groupe	-10,21	1,58	-78,00	1,04	-0,21	0,43
Lame N°	Ecart Type	3,64	1,98	0,92	1,01	0,81	0,00
ME0100001	Z-score V. Attendue	-0,20	-1,05	1,17	-0,91	-0,70	0,00
	Z-score Groupe	-0,01	-0,35	1,01	-0,31	-0,31	-0,27

### JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paires)	Blais (%) / groupe de paires	Moyenne générale (toutes techniques)	Blais (%) / moyenne générale	Blais (%) / limite	Conclusion*
/	/	/	/	/	/	/	/	/

Argumentaire de la conclusion : absence de CIQ externalisés

### EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)

Contrôles quantitatifs  ; Contrôles qualitatifs

Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de paires)	Cible (toutes techniques)	Blais (%) / groupe de paires	Blais (%) / toute technique	Blais (%) / limite	Conclusion*
GR	3,6	3,5	3,7	2,85%	-2,7%	5%	Conforme
GB	11,4	11,2	11,5	1,6%	-1,7%	10%	Conforme
Pit	450	435	450	3,4%	-2,2%	10%	Conforme

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants (les échantillons testés correspondent aux résultats de l'EEQ 20100301)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

Vrais positifs	/
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : cf. fiches techniques fournisseur

**INCERTITUDE DE MESURE** (niveaux, choix du mode de calcul, Interprétation) :  
 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle)  ; calcul

	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	/	

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) : les comparaisons interlecteurs et lecteurs versus automate (sur formules « normales ») donnent une indication, mais le calcul d'IM n'est pas pertinent => cf. maîtrise des risques + formation du personnel et maîtrise de la formation continue.

**LIMITE DE DETECTION** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible et pertinente en portée A)  
 Applicable  ; non applicable

Limites de détection :	LD trouvée ou référence bibliographique
------------------------	---

Argumentaire de la conclusion : voir étendue de mesure

**COMPARAISON DE METHODES** :  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Méthode automatisée (120 DF et DX) Diffraction Laser / Spectrophotométrie
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Automate ou EEQ versus opérateur au microscope
Nombre de mesures :	10 lames normales et EEQ + Dossiers e-FMC (cf. fichiers opérateur 1 ci-dessous)
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Frottis sanguins normaux et pathologiques
Méthode d'exploitation des résultats :	Analyse des discordances
Équation de la droite de régression :	NA
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	Résultats OK : Absence de discordances significatives sur lames normales (cf tableau de comparaison Interlecteurs) Bonne reconnaissance des éléments cellulaires « pathologiques » sur EEQ et e-FMC: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Myélemie : méta, myélo, promyélo</li> <li>- Blastes : reconnaissance cellules d'aspect blastique sans précision supplémentaires</li> <li>- Myéloidysplasies : reconnaissance des principaux signes évocateurs et des principales variations morphologiques</li> <li>- Erythroblastes : reconnaissance et comptage des différents éléments de la lignée</li> </ul> Cellules parasitées (plasmodium)

Argumentaire de la conclusion : lecteurs de lames validés (cf. dossiers personnels).



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :

troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :

/

Limite de quantification :

/

Limite supérieure de linéarité :

/

Argumentaire de la conclusion : lecture microscopique => adaptation des étalements et du temps passé en fonction de la cellularité et du « type de lame » (« normale » ou « patho »).

### INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

/

Argumentaire de la conclusion : coloration de frottis minces => cf. procédure de réalisation des frottis et des colorations en hématologie cellulaire.

### CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, βHCG, ...)

/

Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycerides, ...)

/

Argumentaire de la conclusion : cf. ci-dessus

### ROBUSTESSE ET STABILITÉ DES REACTIFS

(étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (T°, pH, position sur un support, ...)

/

Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...

/

Argumentaire de la conclusion : cf. ci-dessus

### INTERVALLES DE REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)

Applicable  ; non applicable

Valeurs de référence

Cf. formulaire de vérification de la NFP automatisée

Argumentaire de la conclusion : concernant les cellules anormales, quelle que soit la pathologie potentiellement associée, le laboratoire n'indique pas d'intervalle de référence sur les comptes rendus en regard des valeurs rendues. L'interprétation et la signification clinico-biologique est établie sous forme de commentaires et de prestation de conseil post analytique.

### DECLARATION D'APTITUDE

Conclusion : après confrontation des critères de performance obtenus avec les limites d'acceptabilité retenues par le laboratoire, le responsable technique conclut à une aptitude de la méthode d'analyse utilisée à partir du 16/04/2010.

Autorisée par : Dr JPA Responsable Technique Hématologie  
Signature

## Processus complexe : diagnostic biologique d'une infection urinaire supposée bactérienne (ECBU)



### Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE			
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) :			
Examen Cytobactériologique des urines			
Portée A <input checked="" type="checkbox"/> ; Portée B <input type="checkbox"/>			
Processus simple <input type="checkbox"/> ; Processus complexe <input checked="" type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : 4)			

DESCRIPTION DU PROCESSUS			
Sous-processus	Éléments à vérifier (argumentation)	Essai Biblio NA	Modalités de vérification/validation <sup>†</sup> :
Sous-processus 1 : cytologie	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Répétabilité
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Fidélité intermédiaire
	Non pertinent	NA	<input type="checkbox"/> Variabilité inter-opérateurs
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Justesse
	Non pertinent	E	<input checked="" type="checkbox"/> Exactitude
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif + tableau de maîtrise des risques	E	<input type="checkbox"/> Sensibilité et spécificité analytique
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/> Incertitudes
	Cf dossier quantitatif	E	<input type="checkbox"/> Etendue de mesure
	Non pertinent portée A	NA	<input checked="" type="checkbox"/> Comparaison de méthodes
	Cf dossier quantitatif	E	<input type="checkbox"/> Interférences
	Non pertinent portée A	NA	<input checked="" type="checkbox"/> Contamination
	Cf dossier quantitatif	E	<input type="checkbox"/> Robustesse et fiabilité des réactifs
Sous-processus 2 : ensemencement et culture	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/> Intervalle de référence
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Répétabilité
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Fidélité intermédiaire
	Non pertinent	NA	<input type="checkbox"/> Variabilité inter-opérateurs
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Justesse
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Exactitude
	Non pertinent	B	<input type="checkbox"/> Sensibilité et spécificité analytique
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif + tableau de maîtrise des risques	E	<input checked="" type="checkbox"/> Incertitudes
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/> Etendue de mesure
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Comparaison de méthodes
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/> Interférences
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/> Contamination
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/> Robustesse et fiabilité des réactifs
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/> Intervalle de référence

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

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

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



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Sous-processus 3 : identification	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Répétabilité
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Fidélité intermédiaire
	Non pertinent	NA	<input type="checkbox"/>	Variabilité inter-opérateurs
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input type="checkbox"/>	Justesse
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Exactitude
	Non pertinent	B	<input checked="" type="checkbox"/>	Sensibilité et spécificité analytique
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif + tableau de maîtrise des risques)	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Incertitudes
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Etendue de mesure
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Comparaison de méthodes
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Interférences
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Contamination
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Robustesse et fiabilité des réactifs
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Intervalle de référence
Sous-processus 4 : antibiogramme	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Répétabilité
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Fidélité intermédiaire
	Non pertinent	NA	<input type="checkbox"/>	Variabilité inter-opérateurs
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input type="checkbox"/>	Justesse
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Exactitude
	Non pertinent	B	<input checked="" type="checkbox"/>	Sensibilité et spécificité analytique
	Discordance vs ref (automate ou EEQ) Cf dossier quantitatif + tableau de maîtrise des risques)	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Incertitudes
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Etendue de mesure
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Comparaison de méthodes
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Interférences
	Cf dossier quantitatif	E	<input checked="" type="checkbox"/>	Contamination
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Robustesse et fiabilité des réactifs
	Non pertinent portée A	NA	<input type="checkbox"/>	Intervalle de référence

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

Argumentaire (le cas échéant) :



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 1 : Cytologie

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte / Mesurande :	Identification et comptage relatif population leucocytaires érythrocytaire et. Cellules épithéliales urinaires Cristaux urinaires Identification et numération de bactéries responsables d'infection du tractus urinaires.
Principe de la Méthode :	Cytométrie en flux. Toutes les particules sont caractérisées non seulement par leurs propriétés physiques mais également chimiques après que des fluorochromes aient marqué différentes molécules intracellulaires et organelles comme les acides nucléiques et les mitochondries et les structures cellulaires comme les membranes.
Type d'échantillon primaire :	Urine
Type de recipient, additif :	Pas d'additif pour la cytologie, Borate pour la culture
Prétraitement de l'échantillon :	Homogénéisation ; Remise en suspension avant analyse manuelle et Automate
Unités :	Cell/ $\mu$ L
Intervalles de référence <sup>2</sup> :	GB : < 20.000 / mL / Cristaux: 10/ $\mu$ L Culture : absence de croissance en 16 à 24 h
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	BAC
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	UF 500
Référence du réactif :	UFII SHAETH (liquide Sheath), référence 29526, fournisseur BIOMERIEUX UFII SEARCH-SED (colorant), référence 29529, fournisseur BIOMERIEUX UFII SEARCH-BAC (colorant), référence 29530, fournisseur BIOMERIEUX UFII PACK-SED (diluant), référence 29527, fournisseur BIOMERIEUX UFII PACK-BAC (diluant), référence 28528, fournisseur BIOMERIEUX UFII CONTROLE (échantillon de contrôle, UTH-100 et UTL-100), référence 29531, fournisseur BIOMERIEUX LAME KOVA DE 10 CELLULES ref KOVA fournisseur GREINER BIO-ONE
Materiel d'étalonnage (références) :	Calibrant SYMEX <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Alignement de la boîte optique :           <ul style="list-style-type: none"> <li>o LATEX 4207A (REF : CX4-7267-8) : Falsoeau droit transmis par les Sédiments (7<math>\mu</math>m)</li> <li>o LATEX DUKE 4010A (REF : 521-2357-2) : Falsoeau droit transmis par les Bactéries (1 <math>\mu</math>m)</li> <li>o LATEX AT7312 (REF : 416351) : Falsoeau fluorescent diffracté (2.5 <math>\mu</math>m)</li> </ul> </li> <li>&gt; Alignement des voies de mesure :</li> <li>UF II CALIBRATOR (REF : 29532) : Alignement électronique des signaux servant à générer les Scattergrammes (mélange de billes de latex)</li> <li>&gt; Comptage des particules :           <ul style="list-style-type: none"> <li>o UF II CALIBRATOR (Ref. : 29532) : Calibration du comptage des SED et BAC sur une prise d'échantillon.</li> </ul> </li> </ul> <p>Souche bactérienne calibrée type « E POWER »</p>

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



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Cytométrie : 2 niveaux <ul style="list-style-type: none"><li>○ UF II CALIBRATOR (REF. : 29532) : Alignement électronique des signaux servant à générer les Scattergrammes (mélange de billes de latex)</li><li>○ UF II CALIBRATOR (REF. : 29532) : Calibration du comptage des SED et BAC sur une prise</li></ul> Numération bactérienne : Dilution de raison 2 des inocula calibrés
---	--

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	technicien bactériologie habilité (A.A.)
Procédure de validation/mode opératoire :	A-D4-PR-002 : Validation d'une méthode quantitative
Procédure de gestion de la portée flexible :	A-D3-PR-005 : Gestion des portées d'accréditation
Période d'étude :	Février 2013 – Mai 2013
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	03 juin 2013

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAÎTRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>3</sup>	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Maîtrise (échantillons)	Identovigilance	3	Procédure diffusée connue et appliquée Recommandation sur l'état du patient au prélèvement Renseignement clinique	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Préparation du patient	3	Information du patient sur les préconisations avant le prélèvement	Fiche de préconisation
	Désinfection du site de prélèvement	2	Procédure diffusée connue et appliquée	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Méthode de prélèvement	2		
	Délai de transport en interne	2		
	Délais de transport en externe	3		
	Milieu de transport	3	Selection et évaluation des fournisseurs	MU-K1-PR-002-04 Sélection et évaluation des fournisseurs, sous-traitants et laboratoire en contrat de collaboration
	Type de contenants	3	Procédure diffusée connue et appliquée Recommandation sur l'état du patient au prélèvement Renseignement clinique	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Nature et volume de l'échantillon	3	Contrôle à réception	MU-C3-INS-005-03 Conservation pré-analytique des échantillons
	Délai et température avant traitement analytique	2	Gestion prélevateurs externes Gestion de la logistique (circuits, enceintes)	MU-C3-INS-006-01 Collage des échantillons
	Prétraitement : centrifugation, ...	2	Formation des prélevateurs Contrôle à réception	MU-C3-INS-009-03 Réception sur les plateaux techniques des échantillons transmis par les sites périphériques
	Concentration de l'échantillon	2	Dilution de l'échantillon	A-D4-INS-014-04 « Examen Bactériologique des urines »
	Homogénéité de l'échantillon	2	Vortexer l'échantillon avant analyse	A-D4-INS-014-04 « Examen Bactériologique des urines »
	Qualité de l'échantillon : urine fraîche	3	Utilisation de tube avec conservateur pour les urines provenant des tournées	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Quantité de l'échantillon	2	Manuel de prélèvement	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Qualité de l'échantillon : viscosité, présence de levures	2	Dilution de l'échantillon, contrôle microscopique	A-D4-INS-014-04 « Examen Bactériologique des urines »

<sup>3</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple : 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>1</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	1	Utilisation de sonde de température	MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)	3		
	Conditions de culture	3	Utilisation de sonde de température et CO <sub>2</sub> et indicateur	MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
Matériel	Exigences environnementales pour le matériel	2	Bon état du microscope*	DX...V05 Manuel d'utilisation du microscope ES 500 Métinguances annuelles
	Condition de conservation des archives	2	Supports sauvegardes et lieux de stockages adaptés	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système Informatique » MU -K2-MO-001 « surveillance des températures et zones de stockage »
	Surveillance des dérives	3	CIQ	Note de service: Maintenance et passage des CIQ sur l'UF 500 A-D1-ENR-053-01 Conduite à tenir en cas de contrôles hors normes sur l'UF 500 A-D4-INS-041-0 Instruction de calibration de la conductivité de l'UF 500 A-D4-DX-122-01
	Fonctionnement du microscope Intégra	3	Maintenance	MU -J2-PR-002 « Gestion des Equipements »
	Contamination	2	Rinçage cf. essai de validation	A-D4-PR-001- « Validation/Vérification de méthode » Paramétrage des rinçages : Manuel Fournisseur UF 500A-J1-DX-027-02
	Maintenance des automates SAV, automates internes	3	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -J2-PR-002 « Gestion des Equipements »
	SIL, moyens de transmission des résultats informatique embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données)	3	Vérifications des connexions	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système Informatique » A-I1-INS-057 « Contrôle des connexions automates et clinique »



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/valide)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>3</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
<b>Matiériel (réactifs)</b>	Conservation et conditions d'utilisation	2	Métrieologie des enceintes de stockage (cartographie et suivi des températures)	Surveillance des températures des zones de stockage» MU-K2-MD-002-07 Cartographie et utilisation des enceintes thermiques MU-K2-INS-001-01
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	2	Gestion des stocks	Achat et stockage des réactifs et produits consommables MU-K2-PR-001-05
<b>Méthode</b>	Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, ...)	2	Comparatifs inter lecteurs	A-D4-ENR-103-03 Comparaison de lecture des culots urinaires
	Pertinence des modes opératoires	3	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Disponibilités des modes opératoires	3	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Saisie des résultats	2	Paramétrage du SIL et logiciel d'interface	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système MU -I1-INS-045 « Utilisation du ScanRésu »
	validation biologique transmission des comptes rendus	2	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -E1-PR-001 « validation biologique » MU -E2-PR-001 « Transmission des comptes rendus d'analyses »
<b>Main d'œuvre (Personnel)</b>	Technicien Biologiste Secrétaire	2	Personnel formé et habilité Formation continue	MU -G1-PR-001 « Gestion du personnel »



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...): Les tests de répétabilité ont été effectuées sur urines poolées par niveaux, les tests de reproductibilité ont été effectuées sur les CIQ

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	REPETABILITE		CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source)	Conclusion <sup>5</sup>
				Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	CV (%) fourmeisseur		
Globules Rouges B	15	3,5	1,2	23,8*	10 %	7,5%	Non Conforme *
Globules Rouges M	15	34,9	3,25	7,94	10 %	7,5%	Conforme
Globules Rouges H	15	167,5	6,93	2	10 %	7,5%	Conforme
Globules blancs B	15	56	4,5	9,0*	10 %	7,5%	Non Conforme *
Globules blancs M	15	678,4	17,7	2,6	10 %	7,5%	Conforme
Globules blancs H	15	800	19,19	2,40	10 %	7,5%	Conforme
Cellules épithéliales B	15	2,1	0,5	25,1	22,5%	22,5%	Non Conforme *
Cellules épithéliales M	15	150,7	17,3	11,5	22,5%	22,5%	Conforme
Cellules épithéliales H	15	3,9	0,7	16,7	22,5%	22,5%	Conforme
Cristaux B	15	0,2	0,2	86	30%	30%	Non Conforme *
Cristaux M	15	6,3	1,1	17,8	30%	30%	Conforme
Cristaux H	15	54,3	9,2	17	30%	30%	Conforme
Bactéries B en UFC/ml <sup>a</sup>	15	1000	247	25	50%	50%	Conforme
Bactéries M en UFC/ml <sup>a</sup>	15	100 000	18750	19	50%	50%	Conforme
Bactéries H en UFC/ml <sup>a</sup>	15	10 000 000	1482000	15	50%	50%	Conforme

Argumentaire de la conclusion : "Les valeurs basse sont « défavorisées » par le calcul du CV, ces variations n'ont pas d'effet sur l'interprétation ou la prise en charge thérapeutique. La reproductibilité est conforme aux exigences fournisseur.

\* La numération bactérienne (compte de KASS) est réalisée par la technique de culture

<sup>4</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>5</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournis	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>6</sup> )	Conclusion <sup>7</sup>
Globules rouges B	19	41,27	2,34	5,7	10	10	Conforme
Globules rouges H	17	185,7	5,93	3,2	10	10	Conforme
Globules blancs B	19	41,08	2,22	5,4	10	10	Conforme
Globules blancs H	17	797,25	10,84	1,4	10	10	Conforme
Cellules épithéliales B	19	10,02	1,20	12	30	30	Conforme
Cellules épithéliales H	17	83,13	3,75	4,5	30	30	Conforme
Cristaux B	19	5,13	1,56	30,4	40	40	Conforme
Cristaux H	17	18	1,41	7,8	40	40	Conforme
Bactéries B <sup>a</sup>	12	1000	29	29	50%	50%	Conforme
Bactéries M <sup>a</sup>	12	100 000	16 880	17	50%	50%	Conforme
Bactéries H <sup>a</sup>	12	10 000 000	1 448 000	15	50%	50%	Conforme

Argumentaire de la conclusion : la fidélité intermédiaire est conforme aux exigences fournis.

▪ La numération bactérienne (compte de KASS) est réalisée par la technique de culture

VARIABILITE INTER-OOPERATEURS							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>							
Opérateur évalué 1	Opérateur évalué 2	...	Essai sur site – résultats de la variabilité				

Argumentaire de la conclusion : méthode quantitative

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paires)	Blais (%) /groupe de paires	Moyenne générale (toutes techniques)	Blais (%) / moyenne générale	Blais (%) Ilmte4	Conclusion <sup>8</sup>
Echantillon CIQ niveau								

Argumentaire de la conclusion : absence de CIQ externalisés

<sup>6</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>7</sup> Conforme/non conforme

<sup>8</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) illimité <sup>10</sup>	Conclusion <sup>10</sup>
UAA1-01 (rouge H)	239,8	277,62	NA	-13,62%	NA	20 %	conforme
UAA1-02 (rouge B)	0,3	0,96	NA	-68,75%	NA	50 %	Non conforme*
UAA1-01 (Blancs H)	197,2	226	NA	-12,74%	NA	20 %	conforme
UAA1-02 (Blancs B)	0	0,26	NA	100,00%	NA	50 %	Non conforme*
UAA1-01 (Cellules épithéliales H)	197,2	226	NA	-12,74%	NA	20 %	conforme
UAA1-02 (cellules épithéliales B)	0	0,26	NA	100,00%	NA	50 %	Non conforme*
UAA1-01 (cristaux)	0	0	NA	0	NA	20 %	conforme
UAA1-02 (cristaux)	0	0	NA	0	NA	50 %	Non conforme*

Argumentaire de la conclusion : résultats satisfaisants, les échantillons testés correspondent aux résultats de l'EEQ 2012)

EEQ pour le dénombrement des bactéries : participations à l'étude pilote ECBU du CTCB 2014 :							
Echantillons*	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) illimité <sup>11</sup>	Conclusion
CTCB 14	10000	20000	20000	51%	51%	81%	conforme

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

Spécificité	62,1%	*Bibliographie
Sensibilité	98,2 %	*Bibliographie
Valeur prédictive négative	98,7%	*Bibliographie
Valeur prédictive positive	53,7%	*Bibliographie

Argumentaire de la conclusion : Les études bibliographiques prennent la culture des urines comme technique de référence \*Barbara Pieretti,\* Pietro Birnati, Beatrice Plini, Carlo Colzani,Pierluigi Congedo, Marco Rocchi, and Riccardo Terramocci,\* "Diagnosis of bacteruria and leukocyturia by automated Flow cytometry with urine culture". JCM Nov 2010 p3990 à 3995

<sup>10</sup> Sociétés savantes, publications (GFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Preciser la référence utilisée.

<sup>11</sup> Conforme/non conforme, argumentaire de la conclusion

<sup>11</sup> Données constructeurs



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, Interprétation) Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	<input checked="" type="checkbox"/> CIQ + EEQ <input type="checkbox"/> CIQ externalisés <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> autre formule :
Quantification de l'incertitude (niveau 1) : Globules rouges	45.0 ± 24.8 cell/µl
Quantification de l'incertitude (niveau 2) : Globules rouges	190.0 ± 29.8 cell/µl
Quantification de l'incertitude (niveau 1) : Globules blancs	45.0 ± 21.4 cell/µl
Quantification de l'incertitude (niveau 2) : Globules blancs	800.0 ± 30.1 cell/µl
Quantification de l'incertitude : Bactéries en UFC	10.000 ± 5000 UFC/ml

Argumentaire de la conclusion (Impact sur la zone décisionnelle ?) : les comparaisons entre lecteurs et lecteurs versus automate (sur urines « normales » et « pathologique ») ne sont pas interprétables  
Mais les catégorisations de chacune des méthodes à partir d'abaques spécifiques restent identiques ou ne varient pas de plus d'une catégorie.

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible et pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)			
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>			
Limite de détection : globules rouges	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	1/µl	
Limite de détection : globules blancs	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	1/µl	
Limite de détection cellules épithéliales	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	1/µl	
Limite de détection : bactéries culture	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	10 à 100 UFC/ml	
Limite de quantification : plage d'analyse GR	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	1 à 5000 / µl	
Limite de quantification : plage d'analyse GB	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	1 à 5000 / µl	
Linéarité GB	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	3 à 2500 / µl	
Limite de quantification : plage d'analyse Cellules épithéliales	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	1 à 200 / µl	
Limite de quantification : plage d'analyse Cristaux	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	10 à 30 / µl	

Argumentaire de la conclusion : voir bibliographie

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Paramètre : Globules Rouges	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications, ...)	NA
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	UF 50
Nombre de mesures :	120
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	GR : 1000 à 25 000 000 cellules/µL



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Méthode d'exploitation des résultats :	Diagramme des différences/Diagramme des rapports et comparaison des interprétations
Equation de la droite de régression :	Niveau bas : $y = 0,6619x + 1,9869 ; R^2 = 0,5376$ Niveau moyen : $y = 0,8365x + 6,2929 ; R^2 = 0,9286$ Niveau haut : $y = 0,8455x + 83,358 ; R^2 = 0,4448$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	Modification des valeurs de référence  Corrélation de la cytologie primaire des globules rouges Diagramme des différences niveau moyen UF 50 - UF 500 - UF 5000    Corrélation pour la cytologie primaire des globules rouges Diagramme des rapports UF 50 - UF 500 - UF 5000    Paramètres : Globules Blancs
Données bibliographiques (fournisseurs, publications, ...):	
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	UF 50
Nombre de mesures :	120
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	GB : 1000 à 10 000 000 cellules/ $\mu$ L
Méthode d'exploitation des résultats :	Diagramme des différences/Diagramme des rapports et comparaison des interprétations
Equation de la droite de régression :	Niveau bas : $y = 1,1148x + 2,1429 ; R^2 = 0,7052$ Niveau moyen : $y = 0,7764x + 20,334 ; R^2 = 0,446$ Niveau haut : $y = 0,9944x + 130,37 ; R^2 = 0,8784$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	Comparaison conforme entre les deux méthodes



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

	<p><b>Corrélation de la cytologie urinaire des globules blancs</b> Diagramme des différences UF 50-UF 50-UF 50</p> <p><b>Corrélation de la cytologie urinaire des globules blancs</b> Diagramme des différences UF 50-UF 50-UF 50</p>
<b>Paramètre : Cellules épithéliales</b>	
<b>Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :</b>	NA
<b>Méthodes comparées</b> méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	UF 50
<b>Nombre de mesures</b>	120
<b>Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :</b>	EC : 1000 à 80 000 /ml Cristaux : 1000 à 80 000 /ml
<b>Méthode d'exploitation des résultats :</b>	Les résultats du paramètre « cellules épithéliales » sont rendus sous forme semi quantitative: (Absence, rare, quelque, assez nombreux, très nombreux) les deux méthodes ne varient pas de plus d'une catégorisation : Niveau bas concordance : 100% Niveau moyen : concordance : 95% Niveau haut concordance : 77 %
<b>Equation de la droite de régression :</b>	NA
<b>Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :</b>	Comparaison conforme entre les deux méthodes

Argumentaire de la conclusion : Pour ce paramètre La différence de compte n'affecte pas la catégorisation en classe semi quantitative des examens



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**INTERFÉRENCES** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Bactéries / Globules rouges	Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the Diagnosis of the Urine tract infection J. WANG Am J Clin Pathol 2010: 133 577-582 (épreuve de surcharge )	Bacterial Interference With the RBC Count <sup>1</sup>
		Concentration of interfering Bacteria
		Exptl Concentration of RBCs (µL) 1×10 <sup>6</sup> /µL 1×10 <sup>7</sup> /µL 1×10 <sup>8</sup> /µL 1×10 <sup>9</sup> /µL
		94 98.9 93.9 98.2 97.5
		487.2 424.4 393.9 481.1 470.4
		192.1 192.1 184.3 191.5 185.9
		91.8 101.4 96.6 95.9 97.7
		32.2 45.9 46.7 47.1 49.2
		18.1 20.2 21.4 23.7 22.4

Levures / Globules rouges	Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the Diagnosis of the Urine tract infection J. WANG Am J Clin Pathol 2010: 133 577-582 (épreuve de surcharge )	Etude expérimentale (essai de surcharge) Interference of Yeast- like fungi With the RBC Count <sup>1</sup>
		Concentration of Yeast- like fungi (µL)
		Exptl Concentration of RBCs (µL) 9 18 36 48
		1.002 1.014 1.007 1.017 1.025
		540.8 521.8 526.8 572.8 600.0
		210.7 212.8 226.3 247.1 297.0
		100.2 113.1 121.9 142.5 168
		54.2 68 71 90.4 129
		24.9 34.6 46.3 58.3 101

Argumentaire de la conclusion : L'étude bibliographique permet de préciser les limites de la méthode : les bactéries n'ont pas d'influence sur la numération des rouges, en revanche la présence de levures dès 50/µL peut modifier la numération des globules rouges (ceci aspect est pris en compte, cf. analyse de risque qualité de l'échantillon).



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**CONTAMINATION** (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
 Applicable  ; non applicable (à Justifier)

Inter échantillon pour les paramètres : Globules Rouges	Etude expérimentale limite : 2.8 CV de reproductibilité : 16 %	0.74 % conforme
Inter échantillon pour les paramètres : Globules Blanches	Etude expérimentale limite : 2.8 CV de reproductibilité : 67 %	0.42% conforme
Inter échantillon pour les paramètres : Cellules épithéliales	Etude expérimentale limite : 2.8 CV de reproductibilité : 60 %	30 % conforme
Inter échantillon pour les paramètres : cristaux	Etude expérimentale limite : 2.8 CV de reproductibilité : 241%	1% conforme
Inter échantillon pour les paramètres : bactéries par cultures	Non pertinent : tubes spécifiques : embout jetables	

Argumentaire de la conclusion :

Prevı Isola	Analyse de risque Previ isola (automate ensemencement)
	données CIQ, voir planning CIQ bactério A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
	Données EEQ, Participation au CTCB et ABP
	Voir dossier de validation spécifique aux galeries
Galerie Phoenix	données CIQ, voir planning CIQ bactério A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
	Données EEQ, Participation au CTCB et ABP
	Voir dossier de validation spécifique au spectromètre de masse
	données CIQ, voir planning CIQ bactério A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
Spectromètre de masse	Données EEQ, Participation au CTCB et ABP
	Voir dossier de validation spécifique au spectromètre de masse
	données CIQ, voir planning CIQ bactério A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
	Données EEQ, Participation au CTCB et ABP

**ROUSTESSE et STABILITE des REACTIFS**  
 (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
 Applicable  ; non applicable (à Justifier)

Réactifs embarqués : stabilité après ouverture	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	60 jours entre 2 et 35°
Contrôles : stabilité après ouverture	Guide de qualification UF-500I Bio Mérieux	30 jours entre 2 et 10°

Argumentaire de la conclusion : période très inférieure au temps d'utilisation des unités de stockage



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils  
(étude expérimentale indispensable en portée B en fonction des données démographiques)  
Applicable  : non applicable (à justifier)

Bibliographie : « J'apprends à lire des scattergramme » Formation Biomérieux 2011

Aide à l'interprétation  
UF-J

Paramètres	Résultats (U)	Conclusions
RBC	<25	Négatif
	≥25 et <50	Hématurie légère
	≥50 et <150	Hématurie moyenne
	≥150	Hématurie importante
WBC	WBC <20 et Bact<100	Négatif sous réserve de culture
	WBC>20 et Bact<100	Douteux → culture
	WBC<20 et Bact>100	Positif → culture
	WBC >20 et Bact>100	Positif → culture (UTI)
CAST	<10 et Path CAST <5	Absence
Path. CAST	CAST≥10 et Path. CAST <5	Présence de cylindres à moins de 2 noyaux
	CAST ≥10 et Path. CAST ≥5	Présence de cylindres hématuriques, granuleux ...
XTAL	<15	Absence
	≥15 et <50	Quelques cristaux
	≥50 et >80	Assez nombreux
	≥80	Nombreux
EC	<20	Rares
	≥20 et <50	Quelques
	≥50 et <80	Assez nombreuses
	≥80	Nombreuses

Argumentaire de la conclusion : Pour les cristaux et les cylindres les alarmes automates sont vérifiées par les techniciens en microscope optique.

### DECLARATION D'APTITUDE

Conclusion : Après confrontation des critères de performance obtenus avec les limites d'acceptabilité retenues par le laboratoire, le responsable technique conclut à une aptitude de la méthode d'analyse utilisée à partir du 03/06/2013

Autorisée par : Biologiste responsable secteur Microbiologie  
Signature



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 2 : Ensemencement et culture

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte / Mesurande :	Identification et numération de bactéries responsables d'infection du tractus urinaires.
Principe de la Méthode :	Culture avec Identification bactérienne et étude de la sensibilité aux antibiotiques
Type d'échantillon primaire :	Urine
Type de récipient, additifs :	Borate pour la culture
Prétraitement de l'échantillon :	Homogénéisation ; Remise en suspension avant analyse manuelle et automate
Unités :	UFC/ml
Intervalles de référence <sup>12</sup> :	Urine Stérile Physiologiquement
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	Previl Isola/
Référence du réactif :	/
Matériau d'étalonnage (références) :	Souche bactérienne calibrée type « E POWER »
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(e) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	technicien bactériologie habilité B.B.
Procédure de validation/mode opératoire :	A-D4-PR-002 : Validation d'une méthode quantitative
Procédure de gestion de la portée flexible :	A-D3-PR-005 : Gestion des portées d'accréditation
Période d'étude :	Février 2013 – Mai 2013
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	03 Juin 2013

<sup>12</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/valide)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>13</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matière (échantillon)	Identtovigilance	3	Procédure diffusée connue et appliquée Recommandation sur l'état du patient au prélèvement Renseignement clinique	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Préparation du patient	3	Information du patient sur les préconisations avant le prélèvement	Fiche de préconisation
	Désinfection du site de prélèvement	2	Procédure diffusée connue et appliquée	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Méthode de prélèvement	2		
	Délai de transport en Interne	2		
	Délais de transport en externe	3		
	Millieu de transport	3	Sélection et évaluation des fournisseurs	MU-K1-PR-002-04 Sélection et évaluation des fournisseurs, sous-traitants et laboratoire en contrat de collaboration
	Type de contenants	3	Procédure diffusée connue et appliquée Recommandation sur l'état du patient au prélèvement Renseignement clinique	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »  A-C3-PR-005-03 Tri, préparation et centrifugation des échantillons MU-C3-INS-005-03 Conservation pré-analytique des échantillons
	Nature et volume de l'échantillon	3	Contrôle à réception	MU-C3-INS-006-01 Collage des échantillons MU-C3-INS-009-03 Reception sur les plateaux techniques des échantillons transmis par les sites périphériques
	Délai et température avant traitement analytique	2	Gestion prélevateurs externes Gestion de la logistique (circuits, enceintes)	
	Prétraitement : centrifugation, ...	2	Formation des prélevateurs Contrôle à réception	
	Volume de l'échantillon	2	Respect des proportions Borate / l'échantillon	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Homogénéité de l'échantillon	2	Vortexer l'échantillon avant analyse	A-D4-INS-014-04 « Examen Bactériologique des urines »
	Qualité de l'échantillon : urine fraîche	3	Utilisation de tube avec conservateur pour les urines provenant des tournées	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Quantité de l'échantillon	2	Manuel de prélèvement	MU-C2-MAQ-001 « Manuel de prélèvement »
	Qualité de l'échantillon : viscosité de l'échantillon	2	Dilution de l'échantillon	A-D4-INS-014-04 « Examen Bactériologique des urines »

<sup>13</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>13</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t*, ...)	1	Utilisation de sonde de température	MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t*, ...)	3		
	Conditions de culture	3	Utilisation de sonde de température et CO2 et indicateur	MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
Matériel (équipements)	Condition de conservation des archives	2	Supports sauvegardes et lieux de stockages adaptés	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système informatique » MU -K2-MO-001 « surveillance des températures et zones de stockage »
	Surveillance des dérives	3	Gestion des CQ	A-D1-INS-001-01 Gestion des contrôles Qualité du PREVIISOLA
	Surveillance des dérives	3	Gestion des EEQ	A-D3-PR-001 « Gestion des Contrôles de Qualité nationaux et des évaluations externes de la qualité »
	Maintenance des automates SAV, automates internes	3	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -J2-PR-002 « Gestion des Equipements » A-D3-INS-051-01 Maintenance du PREVIISOLA
	Utilisation du prévl isolat.	3	Gestion documentaire	A-J1-DX-026-01 Manuel Fournisseur PREVIISOLA A-D3-PR-002-01 Utilisation du PREVIISOLA
	Choix des milieux de cultures	3	choix des silos des géloses en fonction des prélèvements	A-D3-ENR-044-02 Prélèvements ensemencés par le PREVIISOLA A-D4-ENR-049-02 Liste des panels de boites PREVIISOLA
	SIL Moyens de transmission des résultats	3	Vérifications des connexions	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système informatique » A-D4-ENR-082-01 Tables de correspondances code SIL PREVIISOLA
	Informatique embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage données)	3	Maîtrise du SIL Vérification des connexions	MU -I1-PR-001 « Maîtrise du système informatique » A-I1-INS-057 « Contrôle des connexions automates et clinique »



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>13</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation	2	Métrieologie des enceintes de stockage (cartographie et suivi des températures)	Surveillance des températures des zones de stockage MU-K2-MO-002-07 Cartographie et utilisation des enceintes thermiques MU-K2-INS-001-01
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	2	Gestion des stocks	Achat et stockage des réactifs et produits consommables MU-K2-PR-001-05
	Utilisation du prévit Isola choix des silos des géloses en fonction des prélevements.	3	Gestion documentaire	AJT-DK-026-01 Manuel Fournisseur PREVIISOLA A-D3-PR-002-01 Utilisation du PREVIISOLA
Méthode	Pertinence des modes opératoires	3	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Disponibilités des modes opératoires	3	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Saisie des résultats	2	Paramétrage du SIL et logiciel d'interface	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système MU -I1-INS-045 « Utilisation du ScanRésu »
	validation biologique transmission des comptes rendus	2	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -E1-PR-001 « validation biologique » MU -E2-PR-001 « Transmission des comptes rendus d'analyses »
Main d'œuvre (personnel)	Technicien Biologiste Secrétaire	2	Personnel formé et habilité Formation continue	MU -G1-PR-001 « Gestion du personnel »



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

REPETABILITE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>14</sup> )	Conclusion <sup>15</sup>
Bactéries B en UFC/ml	15	1000	247	25	ND	50%	Conforme
Bactéries M en UFC/ml	15	100 000	18750	19	ND	50%	Conforme
Bactéries H en UFC/ml	15	10 000 000	1482000	15	ND	50%	Conforme

Argumentaire de la conclusion : les valeurs basse sont « défavorisées » par le calcul du CV, ces variations n'ont pas d'effet sur l'interprétation ou la prise en charge thérapeutique

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>16</sup> )	Conclusion <sup>17</sup>
Bactéries B	12	1000	29	29	ND	50%	Conforme
Bactéries M	12	100 000	16880	17	ND	50%	Conforme
Bactéries H	12	10 000 000	1 448 000	15	ND	50%	Conforme

Argumentaire de la conclusion : les valeurs basse sont « défavorisées » par le calcul du CV, ces variations n'ont pas d'effet sur l'interprétation ou la prise en charge thérapeutique. la fidélité intermédiaire est conforme aux exigences fournisseur.

VARIABILITE INTER-OPERATEURS							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>							
Opérateur évalue 1	Opérateur évalue 2	...	Essai sur site – résultats de la variabilité				
Argumentaire de la conclusion : les lecteurs sont contrôlés en fonction des CIQ							

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Blais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Blais (%) / moyenne générale	Blais (%) limite <sup>4</sup>	Conclusion <sup>18</sup>

Argumentaire de la conclusion : absence de CIQ externalisées

<sup>14</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>15</sup> Conforme/non conforme

<sup>16</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>17</sup> Conforme/non conforme

<sup>18</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**EXACTITUDE** (à partir des contrôles externes ponctuels : EEEQ/CNQ)  
 Contrôles quantitatifs  ; Contrôles qualitatifs

Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de paires)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de paires	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite <sup>19</sup>	Conclusion <sup>20</sup>
CTCB 14	10000	20000	20000	51%	51%	81%	conforme

Argumentaire de la conclusion : EQ pour le dénombrement des bactéries : participations à l'étude pilote ECBU du CTCB 2014

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

Spécificité		NA
Sensibilité		NA
Valeur prédictive négative		NA
Valeur prédictive positive		NA

La culture est la technique de référence pour le diagnostic biologique des infections urinaires.

**INCERTITUDES** (niveaux, choix du mode de calcul, Interprétation)  
 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle)  ; calcul

Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	<input checked="" type="checkbox"/> CIQ + EEEQ <input type="checkbox"/> CIQ externalisées <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> autre formule :
Quantification de l'incertitude : Bactéries en UFC	10.000 ± 5000 UFC/ml

Au niveau exploré par l'EEEQ, l'incertitude n'a pas d'impact sur le diagnostic de 5000 à 15000 UFC/ml l'urine étant toujours considérée comme positive, l'évaluation de l'incertitude devra être complétée pour des valeurs proche du seuil (généralement 1000 UFC pour les Ur pathogènes stricts).

**ETENDUE DE MESURE** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :  
 troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection : bactéries	10 UFC/ml	/
Limite de quantification : plage d'analyse : bactéries	100.000.000 UFC/ml	/
Limite supérieure de linéarité :	100.000.000 UFC/ml	/

Exprimé en log : Au-delà de 8 log ( 10 puissance 8 UFC/ml ) pour une prise d'essai standard environ 10 µl le dernier cadran d'une boîte de 90 mm présente des colonies confluentes .

<sup>19</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOB, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>20</sup> Conformément non conforme, argumentaire de la conclusion



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	NA
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Méthode Manuelle /Méthode automatisée PREVI ISOLA
Nombre de mesures :	50
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	De 0 à 10.000.000 UFC en log de 10 (10 <sup>-1</sup> )
Méthode d'exploitation des résultats :	Tableau de concordance sur 50 valeurs une seule présente une différence de plus de un LOG ; Il s'agit d'une Urine positive à P.aeruginosa Après transformation en log (ex 1000 ufc = 3) : Diagrammes de BLAND ALTMAN et Infra
Equation de la droite de régression :	$y = -1,0272x + 0,1122$ $R^2 = 0,8834$
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	<p style="text-align: center;"><b>Diagramme des rapports</b></p> <p style="text-align: center;"><b>DIAGRAMME DES DIFFÉRENCES</b></p>

Argumentaire de la conclusion : Les concordances des techniques manuelle et automatisées montrent une comparabilité acceptable / critère 2.8 CV de répétabilité



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**INTERFÉRENCES** (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Nature	Bibliographie : REMIC
Source de faux Positif	Contamination par la flore de proximité Multiplication bactérienne post prélevement
Source de faux négatif	Antibiothérapie Sensibilité au borate (volume non adéquat) Milieu de culture non adapté

Argumentaire de la conclusion : Les sources de faux positifs et négatifs ont été décrites dans la littérature et prises en compte dans l'analyse de risques ; les recommandations effectuées dans le manuel de prélevement et les critères d'acceptation des échantillons permettent de s'assurer que les risques sont maîtrisés.

**CONTAMINATION** (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

/		
---	--	--

Argumentaire de la conclusion : non pertinent : cônes de pipette et étameurs à usage unique.

**ROBUSTESSE et STABILITÉ des REACTIFS**  
(étude expérimentale Indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

Réactifs embarqués : stabilité après ouverture	
Contrôles : stabilité après ouverture	

Argumentaire de la conclusion : les géloses ne sont pas stockées à bord de l'automate, mais conservées à 4 ° C jusqu'à 30 minutes avant leur utilisation.

**INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils**  
(étude expérimentale Indispensable en portée B en fonction des données démographiques)  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

REMIC 10<sup>3</sup> UFC/ml

Argumentaire de la conclusion :

### DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 03/06/2011

Autorisée par : JLG, responsable du secteur microbiologie  
Signature :



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 3 : Identification

#### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Identification de microorganisme
Principe de la Méthode :	Spectrométrie de masse MALDI-TOF : comparaison d'un spectre protéique à une banque de données
Type d'échantillon primaire :	Souche de microorganisme pure
Type de récipient, additifs :	NA
Prétraitement de l'échantillon :	NA
Unités :	NA
Intervalles de référence <sup>21</sup> :	Oui
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	IVD Matrix HCCA-porténoïd (appelé « IVD HCCA ») (HCCA = Acide α-cyano-4-hydroxycinnamique), (# 290200, Bruker Daltonik GmbH -IVD Bacterial Test Standard (appelé « IVD BTS ») (# 290190, Bruker Daltonik GmbH)
Référence du réactif :	NA
Matériau d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	BTS

#### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	technicien bactériologie B et C
Procédure de validation/mode opératoire :	A-04-PR-002 : Validation d'une méthode quantitative
Procédure de gestion de la portée flexible :	A-D3-PR-005 : Gestion des portées d'accréditation
Période d'étude :	01.12.2012 au 30.04.213
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	mai 2013

<sup>21</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>22</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matière (échantillons)	colonies isolées en Q suffisante	2	repiquage et boîte d'enrichissement, peu de matière nécessaire	A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
	âge de la culture	1	Les identifications peuvent se faire sur des colonies de plusieurs jours si conservées à 4°C	A-D4-INS-203-01 Réalisation des extractions pour l'identification des microorganismes par la solution spectrométrique VITEK MALDI Biotyper
	Pureté de la souche	3	Boîte de pureté systématique sur le bouillon : Id et ATB réalisé en même temps	
	Viability de la souche	3	Choix des milieux adaptés	D-INS-014-03 Examen Bactériologique des urines
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	1	Utilisation de sonde de température et CO <sub>2</sub> et indicateur	MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)	3		
	Spectromètre de masse	2	Température 16°C à 30°C	Climatisation et sonde d'ambiance MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
	Condition de conservation des archives	2	Supports sauvegardes et lieux de stockages adaptés	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système informatique » MU -K2-MO-001 « surveillance des températures et zones de stockage »
Matériel (équipements)	Surveillance des dérives	3	Gestion des CIQ	A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
	Surveillance des dérives		Gestion des EEQ	A-D3-PR-001 « Gestion des Contrôles de Qualité nationaux et des évaluations extérieures de la qualité »
	Maintenance des automates SAV	3	Gestion documentaire	MU -J2-PR-002 « Gestion des équipements »
	Utilisation du Spectromètre de masse	3	Maintenance externe et interne	A-D1-DX-829-01 Protocoles et procédures de calibration du spectromètre MALDI A-D4-DX-107-0 Manuel d'utilisation du spectromètre MALDI TOF : Protocole et Procédure de calibration
	Connexions	3	Vérifications des connexions	A-H1-ENR-021-01 Note de Service : utilisation des étiquettes pour l'EPICENTER

<sup>22</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>22</sup>	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matériel (réactifs)	SIL Moyens de transmission des résultats	3	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système informatique »
	SIR logiciel I2A	3	Maîtrise du SIL Vérification des connexions	Mode opératoire logiciel SIR A-D3-MO-012-04 Utilisation du SIR
	informatique embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données)	3	Métrieologie des enceintes de stockage (cartographie et suivi des températures)	MU -I1-PR-001 « Maîtrise du système informatique » A-G1-INS-057 « Contrôle des connexions automates et clinique »
	Conservation et conditions d'utilisation Galène NMIC 93 Bouillon ID et bouillon AST	2	Gestion des stocks Conservation à température ambiante : 15°C à 25°C	Surveillance des températures des zones de stockage» MU-K2-MO-002-07 Cartographie et utilisation des enceintes thermiques MU-K2-INS-001-01
Méthode	Solution Indicateur Bleu Alamar	2	Peut rester sur l'appareil 5 jours, changée tous les 2 jours	Mode Opératoire Phénix AP A-D3-INS-052-01 Maintenance du Phoenix AP
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	2	NA et gestion des stocks (y compris acceptation)	Achat et stockage des réactifs et produits consommables MU-K2-PR-001-05
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	2	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Limites de la méthode (détecteur, quantification, linéarité, interférences, ...)	2	Instructions diffusées et appliquées Utilisation de recommandation des sociétés savantes	D4-ENR-200 « Arbre décisionnel pour la validation des résultats pour l'identification des microorganismes par la solution IVD MALDI Biotyper. »
	Pertinence des modes opératoires	3	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
Main d'œuvre (Personnel)	Disponibilités des modes opératoires	3	Paramétrage du SIL et logiciel d'interface	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Saisie des résultats	2	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -H1-INS-045 « Utilisation du ScanRésu »
	validation biologique transmission des comptes rendus	2	Personnel formé et habilité Formation continue	MU -E1-PR-001 « validation biologique » MU -E2-PR-001 « Transmission des comptes rendus d'analyses »
Main d'œuvre (Personnel)	Technicien Biologiste	2	Personnel formé et habilité Formation continue	A-G1-ENR-121-01 Critères d'habilitation à l'utilisation du spectromètre de masse A-G1-ENR-135-02 Critères d'habilitation à l'interprétation du spectromètre de masse



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...): Souche bactérienne pure de moins de 48H

REPETABILITE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>23</sup> )	Conclusion <sup>24</sup>
PYO ATCC 27853	15	2,420	0,051	2,1 %	/	/	conforme

Argumentaire de la conclusion :

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>25</sup> )	Conclusion <sup>26</sup>
référence BTS (bacterial test standard) (E.coli ATCC25922)	145	2,271	0,223	9,82	/	/	100% d'identité conforme
Staphylococcus aureus ATCC 25923	64	2,036	0,241	11,83	/	/	100% d'identité conforme
Enterococcus faecalis ATCC 29212	66	2,065	0,226	10,94	/	/	100% d'identité conforme
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	49	2,216	0,326	14,70	/	/	100% d'identité conforme

Argumentaire de la conclusion : sur données des CIQ - Période décembre 2012 à Avril 2013, passage quotidien de 4 souches de microorganismes. Pour chaque souche, les scores ont été reportés sur un diagramme de LEWEY JENNING.

La fidélité intermédiaire pour les souches testées est satisfaisante.

<sup>23</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

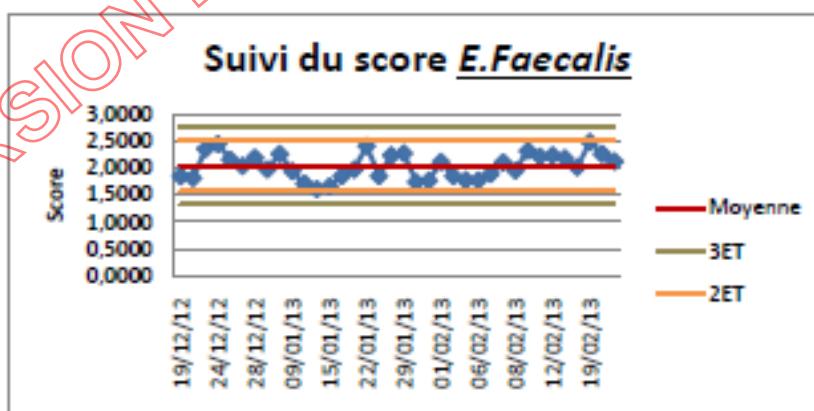
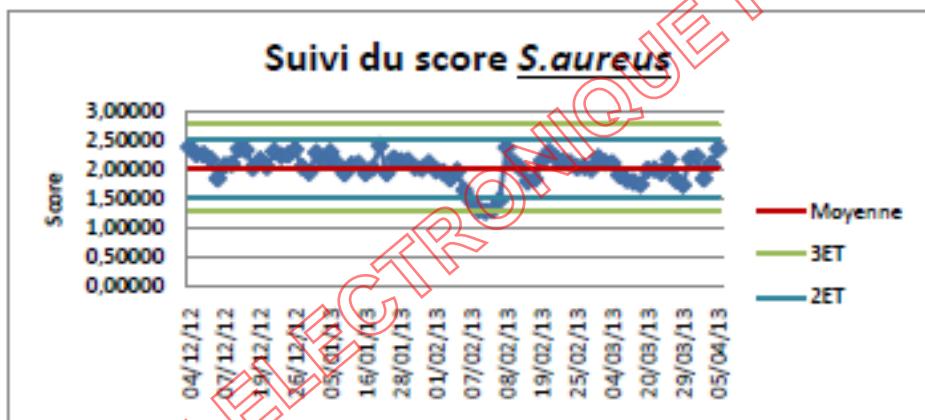
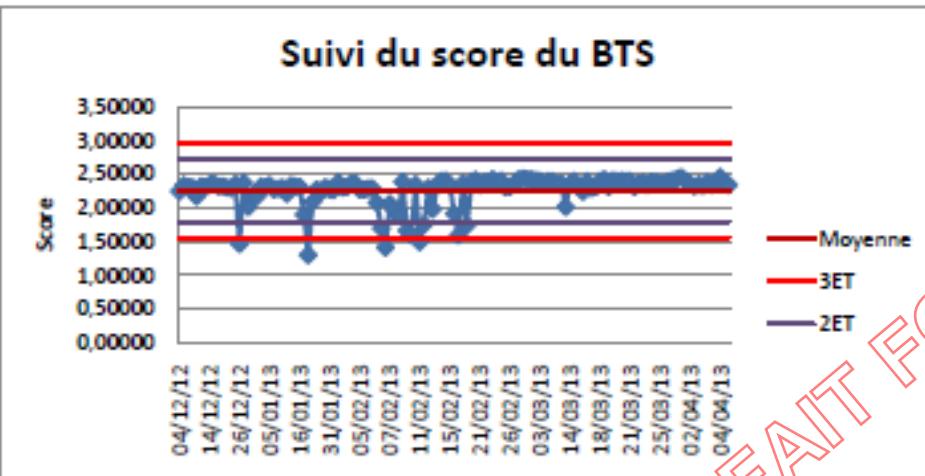
<sup>24</sup> Conforme/non conforme

<sup>25</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>26</sup> Conforme/non conforme



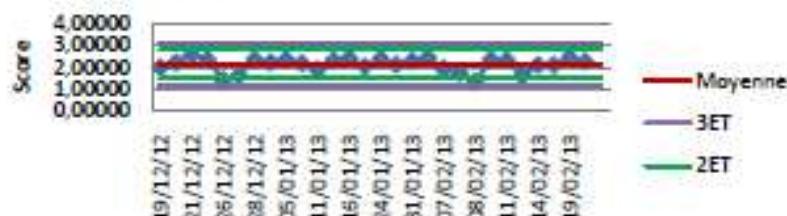
## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale





## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### Suivi du score *P.aeruginosa*



### VARIABILITE INTER-OPERATEURS

Applicable  ; non applicable

Opérateur évalué 1	Test qualitatif
Opérateur évalué 2	

L'ensemble des opérateurs ont été habilités : à la manipulation et à l'interprétation : Les critères formels d'habilitation étaient :

- 10 tirs sur 10 donnent des spectres interprétables
- 10 interprétations sur 10 des spectres sont conformes à l'algorithme défini.

Le maintien de l'habilitation est effectué grâce au passage au spectromètre des souches ATCC de CIQ Hebdomadaire.

La variabilité inter opérateur est maîtrisée grâce à la gestion des compétences. (cf analyse de risque)

### JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Bias (%) / groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Bias (%) / moyenne générale	Bias (%) Ilmte4	Conclusion <sup>27</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								

Argumentaire de la conclusion : Absence de CIQ externalisés.

### EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)

Contrôles quantitatifs  ; Contrôles qualitatifs

N	Performance labo Genre	Limite	Performance labo Espèce	Limite	Conclusion <sup>28</sup>
58	93 %	90%	91%	63%	conforme

Argumentaire de la conclusion : Pour déterminer l'exactitude, le laboratoire a testé des souches de référence (ATCC) de contrôles de qualité extrême (CTCB ; ABP), souches de CIL (CCLIN) et nationaux (AFSSAPS). L'identification a été faite avec le spectromètre de masse et exprimée en concordance au genre et à l'espèce (n=58).

Résultats conformes aux références bibliographiques (cf. infra).

<sup>27</sup> Conforme/non conforme

<sup>28</sup> Conforme/non conforme, argumentaire de la conclusion



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

Titre	Auteur	Sources	Identification	SENSIBILITE	SPECIFICITE
Performance of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Bacterial Strains Routinely Isolated in a Clinical Microbiology Laboratory	A. Bizzini et al.	JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, May 2010, p. 1549-1554 Vol. 48, No. 5 0095-1137/10/\$12.00 doi:10.1128/JCM.01794-09	93,2 % d'identification correcte au niveau espèce	NA	NA
Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry	P.Seng et al	Clin Infect Dis. 2009 Aug 15;49(4):543-51	95,4 % au genre 84,1 % correct à l'espèce	NA	NA
Comparison of Direct Colony Method versus Extraction Method for Identification of Gram-Positive Cocci by Use of Bruker Biolyper Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry	A Adnan	JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Aug. 2011, p. 2868-2873	95 % au genre 69 % à l'espèce	NA	NA
MALDI Biolyper, experience In the routine of a University hospital	E Besseude	Clin Microbiol Infect. 2011 Apr;17(4):533-8	82,6 % à l'espèce		
Manuel utilisateur LABORATOIRE	Bruker	Performance	90 %		
	Critère d'acceptation		90 %	NA	NA

Le laboratoire a établi ses exigences à partir de la bibliographie : constructeur et publication en choisissant des articles en relation avec son activité.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input checked="" type="checkbox"/> : calcul <input type="checkbox"/>	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	<input type="checkbox"/> CIQ + EEQ <input type="checkbox"/> CIQ externalisés <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> autre formule :
Quantification de l'incertitude	Méthode qualitative étude de l'incertitude par l'analyse de risque

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
La base de données contient 8000 spectres de références A-D4-DX-108-01 Liste des organismes identifiables par le spectromètre de masse	
Argumentaire de la conclusion : la base de données recouvre l'ensemble des espèces rencontrées en routine au laboratoire de microbiologie.	

COMPARAISON DE MÉTHODES : Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Voir ci-dessous
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	BD Phoenix
Nombre de mesures :	135
Intervalle de comparaison adapté à l'étendue des mesures du laboratoire :	NA
Méthode d'exploitation des résultats :	Concordance espèce Concordance genre
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Voir ci-dessous
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou pack-up, EBMD, ...	BD Phoenix

Argumentaire de la conclusion : Résultats conformes aux références

### 1. Sources bibliographique

Publication	Identification correcte au genre	Identification correcte à l'espèce
RYAN T Saffert C JM : Janvier 2011	93,20%	89,80%
Pathol Biol (Paris). 2010 Feb;58(1):55-7.		73,00%
J Clin Microbiol. 2010 May;48(5):1549-54.	94,50%	91,70%
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2010, p. 1169-1175		93,60%
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Mar. 2010, p. 900-907	98,80%	92,20%
Exigence laboratoire établi à partir de la bibliographie	96%	88%



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### 2 Comparaison au laboratoire.

Groupe bactérien	N	Genre	Limite	Spécie	Limite	Conclusion
Non fermentant	20	100%	96%	100%	88%	conforme
Entérobactéries	51	96%	96%	92%	88%	conforme
Staphylocoques	26	100%	96%	96%	88%	conforme
Haemophilus	10	100%	96%	70%	88%	conforme
Divers	9	100%	96%	89%	88%	conforme
Streptocoque	9	100%	96%	76%	88%	conforme
Entéocoques	12	100%	96%	100%	88%	conforme
Total	135	99%	96%	90%	88%	conforme

### INTERFÉRENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Hémolyse	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (essai de surcharge)
Turbidité	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (essai de surcharge)
Bilirubine, Ictère	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (essai de surcharge)
Médicaments	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (essai de surcharge)
...	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (essai de surcharge)

Argumentaire de la conclusion : l'objet de l'essai est uniquement des souches bactériennes pures.

### CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible et pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, IgG, ...)	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides...)	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)

Argumentaire de la conclusion : absence de contamination

Les différentes souches ont été déposées sur la plaque selon le schéma suivant : Souche déposée : Souche détectée : score



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ~~ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS~~

## ~~ROBUSTESSE ET STABILITE DES REACTIFS~~

~~possible si pertinentes en portée B, possibles si pertinentes en portée A pour les paramètres sensibles)~~

**Applicable**  : non applicable (a justifier)

Réactifs emballés : stabilité après ouverture      Gestion des stocks sur KALILAB  
Contrôles : stabilité après ouverture      Gestion des stocks sur KALILAB

~~Argumentaire de la conclusion : période d'utilisation très inférieure au temps de conservation des unités de stockage~~

**INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils**  
(étude expérimentale indépendante en portée B en fonction des données démographiques)

**Applicable**  non applicable (à justifier)

Applicable □ , Non Applicable (a) below) □

Principaux Pathogènes	REMIC		PILLY		AFU	FMC FRANCHE COMPTÉ		X	σ	valeur labo	limite Basse	limite haute	Conclusion
<i>E. coli</i>	66	75	85,0	90,0	80	70	90	79,4	9,5	66	60	98	conforme
<i>Proteus</i> sp.	4	6	3,0	4,0	2	5	10	4,9	2,6	3	0	10	conforme
<i>Klebsiella</i>	4	5	1,0	2,0	2			2,8	1,6	5	0	6	conforme
<i>Staphylococcus</i> sp	0,5	5	2,0	4,0	4	1	5	3,1	1,9	7	-1	7	conforme
<i>Streptococcus</i> sp	2	4	1,0	4,5	4			3,1	1,5	6	0	6	conforme
Bactéries à Gram négatif	2,5	7	1,0	2,0	8			4,1	3,2	3	-2	10	conforme

Argumentaire de la conclusion : la prévalence des espèces identifiées au laboratoire dans les infections urinaires rencontrée est bien cohérente avec celle décrite dans la littérature et démontre l'absence de biais majeur dans la conduite du processus d'identification.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 03/05/2013

Autorisée par : Biologiste responsable secteur Microbiologie  
Signature

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**SOUS-PROCESSUS 4 : Antibiogramme  
pour Gram Négatif - Galerie NMIC 93 pour automate BD PHENIX®**

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte / Mesurande :	Croissance bactérienne en présence d'antibiotique En milieu liquide
Principe de la Méthode :	diode électroluminescente
Type d'échantillon primaire :	Tous types de prélèvements pour la recherche de microorganisme
Type de récipient, additifs :	Ecouvillons Tubes Tubes avec borate pour les urines Pot à urines Pot à coprocultures flacon
Prétraitement de l'échantillon :	Colonies isolées de bacille gram négatifs non exigeants
Unités :	Détermination des CM en µg/ml Expression des résultats en S.I.R.
Intervalles de référence <sup>20</sup> :	NA
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	BD Phoenix BD Phoenix AP Epicenter SIR
Référence du réactif :	448795
Matériau d'étalonnage (références) :	Souches ATCC référencées par le fournisseur
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	technicien bactériologie B et C
Procédure de validation/mode opératoire :	A-D4-PR-002 : Validation d'une méthode quantitative
Procédure de gestion de la portée flexible :	A-D3-PR-003 : Gestion des portées d'accréditation
Période d'étude :	01.12.2012 au 30.04.213
Date de 1 <sup>re</sup> utilisation :	Mai 2013

<sup>20</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>30</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...)/ Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matière (échantillons)	colonies isolées en Q suffisante	3	repiquage et boîte d'enrichissement	A-D4-INS-014-03 Examen Bactériologique des urines
	âge de la culture	3	travail en colonie de 18 h	A-D4-INS-014-03 Examen Bactériologique des urines
	Pureté de la souche	3	Boîte de pureté systématique sur le bouillon après pipetage par le PHOENIX AP	Mode Opératoire Phoenix AP A-D3-INS-052-01 Maintenance du Phoenix AP
	Viability de la souche	3	Choix des milieux adaptés	-D4-INS-014-03 Examen Bactériologique des urines
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	1	Utilisation de sonde de température et CO <sub>2</sub> et Indicateur	MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)	3		
	PHOENIX et PHOENIX AP	2	Température 18°C à 30°C	Climatisation et sonde d'ambiance MU -K2-MO-001 « Surveillance des températures des zones de stockage »
	Condition de conservation des archives	2	Supports sauvegardes et lieux de stockages adaptés	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système informatique » MU -K2-MO-001 « surveillance des températures et zones de stockage »
Matériel (équipements)	Surveillance des dérives	3	Gestion des CIQ	A-D3-INS-031-02 Contrôle Qualité du Phoenix A-D1-ENR-035 « Souche de contrôle qualité en bactériologie »
	Surveillance des dérives	3	Gestion des EEQ	A-D3-PR-001 « Gestion des Contrôles de Qualité nationaux et des évaluations externes de la qualité »
	Maintenance des automates SAV	3	Gestion documentaire	MU -J2-PR-002 « Gestion des Équipements »
	Utilisation du PHENIX ET PHENIX AP	3	Maintenance externe et interne	A-D3-MO-022-03 Utilisation du Phoenix
	C	3	Vérifications des connexions	A-H1-ENR-021-01 Note de Service : utilisation des étiquettes pour l'EPICENTER
	SIL Moyens de transmission des résultats	3	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système informatique »
	SIR logiciel I2A	3	Maîtrise du SIL Vérification des connexions	Mode opératoire logiciel SIR A-D3-MO-012-04 Utilisation du SIR

<sup>30</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/valide)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>30</sup>	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement,...)
	Informatique embarquée (paramétrage, étalonnage, connexions, archivage données)	3	Métrologie des enceintes de stockage (cartographie et suivi des températures)	MU -I1-PR-001 « Maîtrise du système informatique » A-11-INS-057 « Contrôle des connexions automates et clinique »
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation Galerie NMIC 93 Bouillon ID et bouillon AST	2	Gestion des stocks Conservation à température ambiante : 15°C à 25°C	Surveillance des températures des zones de stockage» MU-K2-MO-002-07 Cartographie et utilisation des enceintes thermiques MU-K2-INS-001-01
	Solution Indicatrice Bleu Alamar	2	Peut Rester sur l'appareil 5 jours changée tous les 2 jours	Mode Opératoire Phénix AP A-03-INS-052-01 Maintenance du Phoenix AP
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	2	NA et gestion des stocks (y compris acceptation)	Achat et stockage des réactifs et produits consommables MU-K2-PR-001-05
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	2	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
Méthode	Limites de la méthode (déttection, quantification, linéarité, interférences,	2	Instructions diffusées et appliquées Utilisation de recommandation des sociétés savantes	Arbre décisionnel générale en bactériologie » REMIC CASFM
	Pertinence des modes opératoires	3	Gestion documentaire	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Disponibilité des modes opératoires	3	Paramétrage du SIL et logiciel d'interface	MU -H1-PR-001 « Maîtrise du système documentaire »
	Calibre des résultats	2	Paramétrage du SIL et logiciel d'interface	MU -I1-PR-001 « maîtrise du système MU -I1-INS-045 « Utilisation du ScanRésu »
Main d'œuvre (personnel)	validation biologique transmission des comptes rendus	2	Procédure diffusée connue et appliquée	MU -E1-PR-001 « validation biologique » MU -E2-PR-001 « Transmission des comptes rendus d'analyses »
	Technicien Biologiste Secrétaire	2	Personnel formé et habilité Formation continue	MU -G1-PR-001 « Gestion du personnel »



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) : Souche bactérienne pure de moins de 48H

**REPETABILITE**  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

- Souche 1 : Escherichia coli ATCC 25922 : 12 passages

ATB	AM	MEC	AXC	TIC	TCC	CF	FOX	CXM	CFM	CRO	CAZ	FEP	ATM	ERM	IPM	MEM	TM	GM	AN
Limite	<0,5-4	<0,5	2 - 8	4-16	4/2 - 16/2	4-16	2-8	2-8	0,25-1	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,25-20,25	<0,25	0,25-1	0,5-1	<0,5-4	
%CC	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	

ATB	NA	NOR	LVX	CIP	TMP	SXT	FOG	FT	CS	TGC
Limite	<1-4	<0,25	<0,25	<0,125	<0,5-2	<0,5-2	<16			<0,25
%CC	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%			100%

D'après les résultats obtenus, la répétabilité pour la souche *Escherichia Coli* ATCC 25922 est acceptable.

- Souche 2 Escherichia coli ATCC 35218 :12 passages

ATB	AM	MEC	AXC	TIC	TCC	CF	FOX	CXM	CFM	CRO	CAZ	FEP	ATM	ERM	IPM	MEM	TM	GM	AN
Limite				4-16	8-32														
%CC				100%	100%														

ATB	NA	NOR	LVX	CIP	TMP	SXT	FOG	FT	CS	TGC
Limite										
%CC										

D'après les résultats obtenus, la répétabilité pour la souche *Escherichia Coli* ATCC 35218 est acceptable.

- Souche 3 : K. pneumoniae ATCC 700603 (TEST BLSE) 5 passages

	1	2	3	4	5
Test BLSE :	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos

D'après les résultats obtenus, la répétabilité pour la souche *K. pneumoniae* ATCC 700603 est acceptable.

- Souche 4 : Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 :12 passage

ATB	TIC	TCC	TZP	CAZ	FEP	ATM	IPM	MEM	TM	GM	AN	NA	CIP
moyenne	16	16		2	2	6,67	2,00		25,00				1,00
écart type	0	0		0	0	1,97	0,00		0,00				0,00



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

CV	0,0%	0,0%		0,0%	0,0%	29,5%	0,0%		0,0%			0,0%
% CC	100%	100%		100%	100%	100%	100%		100%			100%

ATB	TMP	SXT	FOS	FT	CS	TGC
moyenne	0,00	8,64				1,00
écart type	0,00	8,09				
CV	0,0%	93,7%				
% CC	100%	100%				

D'après les résultats obtenus, la répétabilité pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 est acceptable.

Argumentaire de la conclusion :

La documentation Fournisseur se réfère à la méthode de micro dilution en bouillon du CLSI. Elle distingue le en % CT - concordance totale (dilution exacte) et CC - Concordance de classe (+/- 1 dilution).  
Solt pour les ATB de la galerie NMIC ID 93 :

Antibiotique	AM (974)	AXC (364)	TIC (859)	PIP (860)	PIG (856)	CF (613)	FOX (628)	CAZ (848)	CTX (849)	FEP (858)	ATM (848)	IPM (975)
CT	94	96,4	94,8	94,7	92,9	98	95,7	95,9	96,9	95,7	96,7	95
CC	99,1	97,6	97,3	97,1	96,2	98,5	97,6	97,5	97,2	97	97,3	98,9
CT moyen	96,1											
CC moyen	98,1											

Antibiotique	GM (973)	TM (977)	AN (974)	SXT (975)	NOR (976)	CIP (977)
CT	95,8	94,2	94,3	99,5	98,9	99,4
CC	99,8	99,4	99,2	97,3	99,6	99,7
CT moyen						
CC moyen						



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

FIDELITE INTERMEDIAIRE  
Applicable  ; non applicable (à justifier)

	E. coli ATCC 25922 (10 passages)		P. aeruginosa ATCC 27853 (10 passages)		E. coli ATCC 35218 (10 passages)	
	CMI attendue	CC	CMI attendue	CC	CMI attendue	CC
Ac Nal	<=4	100%				
Amik	<=4	100% [1;4]		100%		
Amox +clav	[2;8]	100%			[4;16]	100%
AMPI	[2;8]	100%				
aztreonam	<=0,5	100% [2;16]		100%		
Céfalotine	[4;16]	100%				
Cérepime	<=0,5	100% [1;8]		100%		
Céfixime	[0,25;1]	100% >=8		100%		
Cefoxetine	[2;8]	100%				
Ceftazidime	<=0,5	100% [1;4]		100%		
Ceftriaxone	<=0,5	100% [8;64]		100%		
Cefuroxime	[2;8]	100%				
Ciprofloxacine	<=0,13	100% [0,25;1]		100%		
Collistine			<=1	100%		
Etrapenem	<=0,25	100%				
Fosfomycine	<=16	100% <=16		90%		
Gentamicine	<=1	100% <=2		100%		
Imipénème	<=0,25	100% [1;4]		90%		
Levofloxacine	<=0,25	100% [0,5;4]				
Mécillinam	<=0,5	100%				
Méropénème	<=0,25	100% <=1		100%		
Nitrofurane	>=16	100%				
Norfloxacine	<=0,25	100% [1;4]				
Piper-tazo	[1;4]	100% [1;4]		100% <=2		100%
Témocilline	>=8	100% >32		100%		
Ticarcilline	[4;16]	100% [8;32]		100%		
Ticar + clav	[4;16]	100% [8;32]		100% [8;32]		100%
Tigécycline	<=0,25	100%				
Tobramycine	[0,25;1]	100% [0,25;1]		100%		
Triméthoprime	<=2	100% >16		100%		
Triméthoprime-Sufa	<=0,5	100% >=8		100%		
Moyenne		100%		96%		100%

D'après les résultats obtenus, la reproductibilité pour la souche Escherichia Coli ATCC 25922

D'après les résultats obtenus, la reproductibilité pour la souche Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 est

acceptable

Fidélité intermédiaire conforme aux résultats attendus pour la souche ATCC E.coli ATCC 35218



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

- Kpneumoniae ATCC 700603 10 passages de CIQ (Test ESBL)

KP 700603	Ref	Accord
Test ESBL	POS	100%

Fidélité intermédiaire conforme aux résultats attendus pour la souche

**Argumentaire de la conclusion :**

La documentation Fournisseur se réfère à la méthode de micro dilution en bouillon du CLSI. Elle distingue le en % CT = concordance totale (dilution exacte) et CC = Concordance de classe (+/-) 1 dilution.  
Soit pour les ATB de la galerie NMIC ID 93 :

Antibiotique	AM (974)	AXC (364)	TIC (859)	PIP (860)	PIS (856)	CF (613)	FOX (628)	CAZ (848)	CTX (849)	FEP (858)	ATM (848)	IPM (975)
CT	94	96,4	94,8	94,7	92,9	98	96,7	95,9	96,9	95,7	96,7	95
CC	99,1	97,6	97,3	97,1	96,2	98,5	97,6	97,5	97,2	97	97,3	98,9
CT moyen	96,1											
CC moyen	98,1											

Antibiotique	GMI (973)	TM (977)	AN (974)	SXT (976)	NOR (976)	CIP (977)
CT	95,8	94,2	94,3	99,5	98,9	99,4
CC	99,8	99,4	99,2	97,3	99,6	99,7
CT moyen						
CC moyen						

### VARIABILITE INTER-OPERATEURS

Applicable  ; non applicable

Opérateur évalué 1

Opérateur évalué 2

...

Argumentaire de la conclusion : Les techniciens sont contrôlés en fonction des CIQ

### JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paire)	Biais (%) /groupe de paire	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) limite <sup>31</sup>	Conclusion <sup>31</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								

Argumentaire de la conclusion : Absence de CIQ externalisés

<sup>31</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)  
Contrôles quantitatifs  ; Contrôles qualitatifs

Performance Moyenne	AM	MEC	AXC	TIC	TCC	TZP	CF	FOX	CXM	CFM	CRO	CAZ	FEP	ATM	ERM	IPM	MEM	TM	GM	AN
EA (CT) 91%	89%		75%	100%		50%	100%					100%			100%	100%		100%	100%	57%
Erreur mineur																				
3%	0%		13%	0%		25%	0%					0%			0%	0%		0%	0%	14%
Erreur Majeur																				
5%	11%		13%	0%		25%	0%					0%			0%	0%		0%	0%	14%
Erreur très majeure																				
1%	0%		0%	0%		0%	0%					0%			0%	0%		0%	0%	14%

Performance Moyenne	NA	NOR	LVX	CIP	TMP	SXT	FOS	FT	CS	TGC
EA (CT) 91%	100%	100%		100%		100%				
Erreur mineur										
3%	0%	0%		0%		0%				
Erreur Majeur										
5%	0%	0%		0%		0%				
Erreur très majeure										
1%	0%	0%		0%		0%				

Argumentaire de la conclusion : Pour déterminer l'exactitude, le laboratoire a testé des souches de contrôles qualité externes (CTCB ; ABP), souches de CIL (CCLIN) et nationaux (AFSSAPS).

Les sensibilités des souches ont été déterminées vis à vis des antibiotiques avec les galeries NMI ID93 sur 26 souches et exprimées en EA, Em, EM et ETM

Résultats conformes aux références du laboratoire définies à partir de la bibliographie (cf. infra)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

SENSIBILITE DIAGNOSTIQUE Bibliographie partie antibiogramme								
Titre	Auteurs	Source	Essentiel ACCORD	Erreur Mineure	Erreur Majeure	Erreur très Majeure	sensibilité BLSE	spécificité (BLSE)
Comparison of the BD Phoenix™ Automated System with the Microscan Rapid Neg ID Plus Neg MIC Panel Type 30 for Identification and susceptibility Testing of Gram Negative Bacilli	R. NADARAJAH, S. T. LEONARD, AND G. F. BROOKS UCSF Medical Center • San Francisco, CA, USA	ASM 2004	94%	3%	2%			
Side-by-Side Comparison of BD Phoenix,™ MicroScan®, and Vitek 2 Systems for the Identification and Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacilli (GNB) from Patient Specimens	D. DIETZEL, E. YOUSSEF AND M.A. MORGAN*	ICAAC 2004	93%	4%	2%	1%		
Two-Center Collaborative Evaluation of Performance of the BD Phoenix Automated Microbiology System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria	Maria Grazia Menozzi, <sup>1</sup> * Ulrich Elgner, <sup>2</sup> Silvia Coven, <sup>1</sup> Sabina Rossi, <sup>1</sup> Pietro Somenzzi, <sup>1</sup> Giuseppe Zettori, <sup>1</sup> Carlo Chezzi, <sup>1</sup> and Anne-Marie Fahr <sup>2</sup>	JCM 2006	94%	2%	0,30%	1,50%		
Comparison of Phoenix and VITEK 2 Extended-Spectrum-Lactamase	Kenneth S. Thomson, <sup>1</sup> * Nancy E. Cornish, <sup>2</sup> Seong G. Hong, <sup>1</sup> Kim Hemrick, <sup>2</sup> Christian Herdt, <sup>2</sup> and Ellen S. Moland <sup>1</sup>	JCM 2007					99%	52%
Detection Tests for Analysis of Escherichia coli and Klebsiella	Irit Wiegand, <sup>1</sup> Heinrich K. Geiss, <sup>2</sup> Dietrich Mack, <sup>3</sup> Enno Stukenburg, <sup>4</sup> and Harald Seifert <sup>5</sup> *	JCM 2007					99%	52%



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

SENSIBILITE DIAGNOSTIQUE Bibliographie partie antibiogramme									
Titre	Auteurs	Source	Essentiel ACCORD	Erreur Mineure	Erreur Majeure	Erreur très Majeure	sensibilité BLSE	spécificité (BLSE)	
Isolates with Well-Characterized -Lactamases	J. W. Snyder, <sup>1,2*</sup> G. K. Munier, <sup>2</sup> and C. L. Johnson <sup>2</sup> Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Louisville School of Medicine, <sup>1</sup> and University of Louisville Hospital, <sup>2</sup> Louisville, Kentucky 40202	JCM 2008 (données entérobactéries)	90%	2,40%	1,40%	6%	99%	ND	
Unreliable Extended-Spectrum -Lactamase Detection in the Presence of Plasmid-Mediated AmpC in Escherichia coli Clinical Isolates	F. J. L. Roberts, <sup>1</sup> P. C. Kohner, <sup>1</sup> and R. Patel <sup>1,2</sup>	JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 2009,					82%	44%	
Performance of the Phoenix bacterial identification system compared with disc diffusion methods for identifying extended-spectrum b-lactamase, AmpC and KPC producers	Mark A. Fisher, <sup>1,2</sup> Paul D. Stamper, <sup>3</sup> Kristine M. Hujer, <sup>4</sup> Zachary Love, <sup>5</sup> Ann Craft, <sup>2</sup> Samuel Cohen, <sup>2</sup> Robert A. Bonomo, <sup>4,5</sup> Karen C. Carroll <sup>3</sup> and Cathy A. Pettit <sup>1,2</sup>	JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 2009,					96%	54%	
	% moyen d'accord EA : X	92,75%	3,32%	1,12%	2,83%	95,07%	50,50%		
	Ecart type : $\sigma$	1,89%	1,40%	0,63%	2,75%	7,38%			
Exigence laboratoire :	valeur acceptable extrêmes = X + 2 $\sigma$	89%	6%	2%	8%	80,24%			

Argumentaire de la conclusion : Le laboratoire a déterminé ses exigences à partir des éléments bibliographiques en choisissant des publications en relation avec son activité.

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, Interprétation) Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input checked="" type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	<input type="checkbox"/> CIQ + EEQ <input type="checkbox"/> CIQ externalisés <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> autre formule :
Quantification de l'incertitude :	Mesure réalisée sur une variable discontinue.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle)

La mesure en CMI est réalisée sur une variable discontinue, d'autre part, le plus souvent, les valeurs sont « censurées » tel que = à (la première concentration d'antibiotique testée) ou ≠ (la dernière concentration d'antibiotique testée); La meilleure approche de l'incertitude est celle effectuée pour les analyses de type qualitatif à partir d'une analyse de risque.

Les tests de justesse à partir de souches de CIQ dont les CMI de référence sont proches des « BREAK POINT » permettent d'estimer l'impact sur les valeurs seuils.

**ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B)**  
**(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :**  
**troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)**  
Applicable  ; non applicable (à justifier)  Bibliographique

	CMI minimale	CMI maximale		CMI minimale	CMI maximale
Ac Nal	4	16	Gentamicine	1	16
Amit	2	32	Imipénème	0,25	8
Amox +clav	2/2	8/2	Lévofoxacine	0,5	2
AMPI	2	8	Méclillinam	1	8
Aztreonam	1	16	Méropénème	0,25	8
Céfaclorine	4	32	Nitrofurane	16	64
Céfèpime	1	8	Nonoxacine	0,5	2
Céftizime	0,5	2	Rapamycine	4/4	64/4
Céfoxidine	4	32	Témocilline	4	32
Céftazidime	0,5	16	Ticarcilline	4	64
Céfraxone	0,5	4	Ticar + clav	4/2	64/2
Céfuroxime	2	8	Tigécycline	0,25	2
Ciprofloxacine	0,125		Tobramycine	1	4
Colistine	0,5	4	Triméthoprime	1	4
Etrapenem	0,25	1	Triméthoprime-Sulf	1/19	4/76
Fosfomycine	1	64			

Argumentaire de la conclusion :

COMPARAISON DE METHODES	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications...):	Cf partie : bibliographie
Méthode comparée : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Galerie précédente : NMIC 67 et NMIC 68
Nombre de mesures :	45
Intervalle de comparaison adapté à l'étendue des mesures du laboratoire :	Souches de patients en routine
Méthode d'exploitation des résultats :	Tableau de concordance sur 40 souches
Equation de la droite de régression :	/
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	/

- Enterobactéries 34 souches



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Performance moyenne	AM	MEC	AXC	TEMO	TIC	TCC	TZP	CF	FOX	CXM	CFM	CRO	CAZ	FEP	ATM	ERM	IPM	MEM	TM
EA 86%	100%		87%		100%	81%	84%	81%	84%		87%	87%	84%	88%	84%	100%	100%	84%	100%
Em 2%	0%		0%		0%	8%	3%	8%	3%		0%	0%	3%	12%	3%	0%	0%	8%	0%
EM 2%	0%		3%		0%	0%	3%	3%	3%		13%	3%	3%	0%	3%	0%	0%	0%	0%
ETM 1%	0%		0%		0%	0%	0%	0%	0%		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Performance moyenne	GM	AN	NA	NOR	LVX	CIP	TMP	SXT	FOS	FT	C8	TGC
EA 86%	84%	87%	100%	87%		100%		87%	81%	81%		100%
Em 2%	3%	0%	0%	3%		0%		3%	0%	0%		0%
EM 2%	0%	0%	0%	0%		0%		0%	13%	13%		0%
ETM 1%	3%	3%	0%	0%		0%		0%	8%	8%		0%

• Non fermentant 11 souches

Performance moyenne	AM	MEC	AXC	TEMO	TIC	TCC	PIP	TZP	CF	FOX	CXM	CFM	CRO	CAZ	FEP	ATM	ERM	IPM	MEM	TM
EA 88%					90%	90%		100%						90%		90%		80%	100%	80%
Em 6%					0%	0%		0%						10%		10%		20%	0%	0%
EM 4%					0%	0%		0%						0%		0%		0%	0%	10%
ETM 3%					10%	10%		0%						0%		0%		0%	0%	10%

Performance moyenne	GM	AN	NA	NOR	LVX	CIP	TMP	SXT	FOS	FT	C8	TGC
EA 88%	80%	80%			80%	100%			90%		80%	100%
Em 6%	10%	10%			10%	0%			0%		0%	0%
EM 4%	10%	10%			10%	0%			10%		10%	0%
ETM 3%	0%	0%			0%	0%			0%		10%	0%

Argumentaire de la conclusion : Résultats conformes aux références

INTERFERENCES (étude expérimentale Indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)												
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>												
Nature							Bibliographie :					
Milieu d'isolement contenant des antibiotiques (ANC)							Proscrit par la fiche technique					
Argumentaire de la conclusion : la documentation du laboratoire mentionne bien la nécessité d'un repliquage sur gélose sans ANC en pour obtenir des colonies destinées aux tests AST du PHENIX.												



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, □HCG, ...):	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)

Argumentaire de la conclusion : Non pertinent : cônes de pipette à usage unique

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Réactifs embarqués : stabilité après ouverture	Gestion des stocks sur EPICENTER et KALILAB	
Contrôles : stabilité après ouverture	Gestion des stocks sur EPICENTER et KALILAB	

Argumentaire de la conclusion : période d'utilisation très inférieure au temps de conservation des unités de stockage

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils (étude expérimentale indispensable en portée B en fonction des données démographiques) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>		
Bibliographie : CASFM EUCAST ONERBA la comparaison par rapport à des données nationales non justifiée en portée A		

Argumentaire de la conclusion :

DECLARATION d'APTITUDE		
Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 03/05/2013		
Autorisée par : Biologiste responsable secteur Microbiologie Signature		

## 11.6 Processus complexe : diagnostic biologique du paludisme



### Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

#### EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) :  
Recherche et identification des agents pathogènes du Paludisme

Processus simple  ; Processus complexe  (nombre de sous-processus : 3)

#### DESCRIPTION DU PROCESSUS

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

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

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

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



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

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

Argumentaire (le cas échéant) :

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

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 1 : frottis mince coloré au MGG

Portée A  ; Portée B

#### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Identification d'agents du Paludisme dans le sang
Principe de la Méthode :	<p>Examen morphologique direct microscopique (examen en immersion 100 x10) d'un frottis sanguin coloré M.G.G : Mise en évidence de Plasmodium</p> <p>Calcul de la Parasitémie On choisira 10 champs au hasard et éloignés les uns des autres. Pour chaque champ on dénombre : - le nombre d'hématies parasitées - le nombre total d'hématies (parasitées et non parasitées) La parasitémie exprimée en %, correspond au rapport : Nombre d'Hématies parasitées / Nombre d'Hématies total</p>
Type d'échantillon primaire :	Sang Total
Type de récipient, additifs :	tube EDTA
Prétraitement de l'échantillon :	Réalisation d'un frottis en couche mince
Unités :	% pour la parasitémie
Critères d'interprétation <sup>2</sup> :	NA
Marquage CE (Oui/Non) :	PAR
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	Microscope optique à lumière blanche
Référence du réactif :	MGG MERCK ref. 1.01424.2500 Glemsa MERCK ref. 1.09204.0500 Eau : Eau d'Evan
Matériau d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA

#### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Techniciens du secteur morphologie Parasitologie + Internes du secteur + Biologistes du secteur
Procédure de validation/mode opératoire :	PG-BIO-MS-QUAL-019 rev 05
Procédure de gestion de la portée flexible :	PG-BIO-MS-QUAL-018 rev 04
Periode d'étude :	Méthodes utilisées dans le LBM depuis des années. Etude rétrospective avec exploitation des EEQ + étude sur site 2005
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	Plus de 30 ans

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



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>3</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité vigilance	4	Formation du personnel préleur	Procédure d'identité-vigilance du laboratoire IT-PERI-PREA-002
	Type de contenants Tube EDTA	4		
	Nature et volume de l'échantillon : Prélèvement veineux Minimum 1 tube de 5ml pour adulte, de 2ml pour enfant	3	Information des préleur	Catalogue des Analyses
	Renseignements épidémiologiques : Zone de séjour Durée du séjour Prophylaxie.....	3	Formation des préleur	Feuilles de marque spécifique N° 036245 (v MARS 2014)
	Renseignements cliniques : Hyperthermie, anémie....		Contrôle à la réception	Critères d'acceptation/de refus
	Délai de réception Urgence <1h	4	Gestion de la logistique	Numéro pour les urgences et contrat avec logistique
	Conditions de conservation et des échantillons	2	Conservation des tubes EDTA à 5°C±3°C	Présents dans chaque mode opératoire MT-MYPA-0490/050/051
Miseu	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs	3	Conservation des réactifs en fonction de la méthode	Présents dans chaque mode opératoire MT-MYPA-0490/050/051
	Qualité de l'eau	3	Mesure du pH (neutralité)	Mode opératoire MT-BIO-MS-METR-015 Tracabilité des vérifications (DE)
	Microscope à lumière blanche	3	Nettoyage quotidien des objectifs Maintenance	Consignes de nettoyage des objectifs Enregistrements des maintenances (Kallab)
	pH métro	3	Étalonnage	Enregistrements de l'étalonnage (DE)
	Lames dégraissées	2	Absence de rupture	Gestion des stocks de consommables (Kallstock)
	Surveillance des dérives	3	ANSM 1 fois/an EEQ CTCB + UKNEQAS CIQ	Exploitation des résultats tableau excel des EEQ : DE-PTI-QUAL-040 Enregistrement sur tableur
	Informatique	3	Vérification de la saisie manuelle	Signature du biologiste sur la feuille de pallasse lors de la validation biologique

<sup>3</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAÎTRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Pointe critiques	Echelle de criticité <sup>2</sup>	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	3	Respect des consignes fournisseurs  Métreologie des enceintes Surveillance par sondes (Système VIGITEMP) Contrôle des sondes tous les ans  Cartographie tous les 5 ans	Fiches techniques fournisseur avec vérification de la dernière version+ fiches de donnée de sécurité (pour colorants) Logiciel VIGITEMP IT-BIO-MS-METR-001-01 Etalonnage des sondes annuel MT-BIO-MS-METR-010-01 Cartographie avec enregistrement MT-BIO-MS-METR-013-01
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	3	Gestion des stocks Avec traçabilité des lots	Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation) IT-PTI-APPRO-001/003-01 Enregistrement dans stock
	Limites de la méthode	2	Faible Parasitémie surtout si traitement avant le diagnostic  Comptage de la Parasitémie	Renseignements cliniques (Feuille de marque de Parasitologie) N° 036245 (v MARS 2014) et renseignements cliniques insérés dans SIL Enregistrement des EEQ et des CIQ par opérateur
	Causes d'incertitude de mesure	2	Mauvais étalement ou mauvaise coloration  Confusion trophozoite avec plaquettes sanguines ou corps de Jolly  Confusion réticulocytes avec hématie contenant granulations de Schüffner	Formation du personnel et respect du mode opératoire MT-PTI-MYPA-049
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence maintien compétence personnel et de du	4	Formation et Habilitation Initiale + vérification des compétences	Procédure d'habilitation PG-BIO-MS-QUAL-010-01 Habilitation par identification d'espèces plasmodiales sur lames (5 minimum) : - 100% reconnaissance pour Plasmodium falciparum - 80% reconnaissance pour autres espèces Enregistrements d'habilitation du personnel DE-PTI-QUAL-004-02 Inscription et participation à Paraslimeimage (e-learning) Enregistrement des EEQ (DE)



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

REPETABILITE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> : non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf source) <sup>4</sup>	Conclusion <sup>5</sup>
Sang total	10	1,75	0,45	25,7			

Argumentaire de la conclusion : cette méthode étant qualitative avec une lecture au microscope, le LBM accepte un CV de 30%

### FIDELITE INTERMEDIAIRE

Applicable  : non applicable (à justifier)

	Nombre d'échantillon	Coefficient de corrélation
Parasitémie faible < 1%	12	91,3%
Parasitémie 1%-4%	15	93%
Parasitémie élevée ≥ 18%	3	98,10%
Toutes Parasitémies confondues	32	99,6%

Argumentaire de la conclusion : Nous observons que le coefficient de corrélation est très bon mais qu'il est plus bas lorsque la parasitémie est faible

### VARIABILITE INTER-OPERATEURS

Applicable  : non applicable

Opérateur évalué 1	Evaluation sur lames de CIQ anonymisées (cf tableaux ci-dessous) :
Opérateur évalué 2	Absence de variabilité inter-opérateur
---	Parasitémie : réalisée tout au long de l'année chaque fois qu'il y a présence de <i>Plasmodium falciparum</i> , lecture en double des frottis

CIQ	Tech A	Tech B	Tech C
1	<i>Plasmodium ovale</i>		<i>Plasmodium ovale</i>
2	Trophozolites âgés et jeunes de <i>Plasmodium falciparum</i>		Trophozolites âgés et jeunes de <i>Plasmodium falciparum</i>
3	Absence	Absence	
4	Gamétocytes <i>Plasmodium falciparum</i>	Gamétocytes <i>Plasmodium falciparum</i>	Gamétocytes <i>Plasmodium falciparum</i>
5	<i>Plasmodium ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>	
6	<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	
7 et 8	Nombreux Trophozolites de <i>Plasmodium falciparum</i>	Nombreux Trophozolites de <i>Plasmodium falciparum</i>	Nombreux Trophozolites de <i>Plasmodium falciparum</i>
9	<i>Plasmodium ovale</i>		<i>Plasmodium ovale</i>
10 et 11	Trophozolites de <i>Plasmodium falciparum</i>	Trophozolites de <i>Plasmodium falciparum</i>	Trophozolites de <i>Plasmodium falciparum</i>

<sup>4</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>5</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### Argumentaire de la conclusion :

Sur 11 CIQ réalisés par les technicien(ne)s du secteur avec au minimum 2 d'entre elles la reconnaissance du type de Plasmodium est de 100%

Il est également à noter que 2 fois les CIQ sont identiques à des dates différentes (surlignage orange) et que là aussi la reconnaissance est de 100%

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
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*
Echantillon CIQ niveau 1								

Argumentaire de la conclusion : Pas de CIQ Externalisées existants

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels EEQ/CNQ)							
Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) Limite*	Conclusion*

	Date	LBM	EEQ
ANSM	2014	Trophozoite, Schizontes âgés Gamétoцитes de Plasmodium malariae	Pas de résultat à ce jour
	2013	Autre parasite sanguin	/
	2012 ALBOU	Trophozoite, Schizontes âgés Gamétoцитes de Plasmodium ovale	Trophozoite, Schizontes âgés Gamétoцитes de Plasmodium ovale
	2011 TOGBE	Trophozoite de Plasmodium falciparum 1.5% de parasitémie	Trophozoite de Plasmodium falciparum 1.5% de parasitémie
	2010 BURDE	Plasmodium ovale	Plasmodium ovale
CTCB	2012 N° 122	Plasmodium malariae	Plasmodium malariae
UKNEQAS	2014	N° 2244 : Absence de parasite N° 2200 : Plasmodium malariae N° 2167 : Plasmodium vivax  N° 2079 : Plasmodium vivax	Absence de parasite Plasmodium malariae Plasmodium vivax  Plasmodium vivax+ Plasmodium falciparum <1% (non côté car seulement 18% de réponse ok par participants) problème d'homogénéité des lames
		N° 2036 : Plasmodium falciparum <1%	Plasmodium falciparum <1%
	2013	N° 1480 : Plasmodium ovale N° 1556 : Plasmodium vivax N° 1688 : Plasmodium malariae N° 1688 : Plasmodium falciparum 20-40%	Plasmodium ovale Plasmodium vivax Plasmodium malariae Plasmodium falciparum 20-40%
	2012	N° 0699 : Plasmodium malariae N° 0875 : Plasmodium falciparum 10.6-20% N° 1009 : Gamétoцитes falciparum N° 1047 : Absence de parasite N° 1219 : Plasmodium falciparum 2.4-2.9%	Plasmodium malariae  Gamétoцитes falciparum Absence de parasite Plasmodium falciparum 0.0-1.0%
	2011	N° 0409 : Absence de parasite N° 0462 et 0624 : Autres parasites sanguins	Absence de parasite Autres parasites sanguins



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Argumentaire de la conclusion : Un *plasmodium falciparum* non observé en 2014 mais résultat non côté par l'organisme. D'autre part, *Plasmodium vivax* présent sur cette même lame a été détecté et identifié. 100% de réponses positives si on élimine le cas développé ci-dessus.

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

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

Argumentaire de la conclusion : Utilisation des fiches fournisseur et de la bibliographie scientifique.

**INCERTITUDE DE MESURE** (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :  
 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle)  ; calcul

	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	Formule utilisée	Référence

Argumentaire de la conclusion : Méthode qualitative où le calcul est impossible.

**LIMITE DE DETECTION** (étude expérimentale indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A)  
 Applicable  ; non applicable

Limite de détection :	Bibliographie Charge parasitaire faible et patient traité avant la demande de diagnostic
-----------------------	---

Argumentaire de la conclusion :

**COMPARAISON DE METHODES :**  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...)	Conférence de consensus de 2007
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareils en miroir ou back-up, EBMD, ...	Comparaisons des méthodes frottis coloré au M.G.G, QBC et PALUTOP+4® par rapport à la PCR (méthode de référence)
Nombre de mesures :	38
Intervalle de comparaison adapté à l'étendue des mesures du laboratoire :	Présence ou absence du <i>Plasmodium</i> et espèce plasmodiale
Méthode d'exploitation des résultats :	Concernant le frottis MGK, il existe une discordance entre cette technique et la PCR due à une parasitose très faible.
Equation de la droite de régression :	/
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	/

Argumentaire de la conclusion : Technique pour laquelle la discordance est de 2,6% avec la PCR donc justifiée en diagnostic d'urgence.



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

**ETENDUE DE MESURE** (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :  
 troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :	Décrise dans Conférence de consensus 2007	/
Limite de quantification :	/	/
Limite supérieure de linéarité :	/	/

Argumentaire de la conclusion : Une thrombopénie chez un patient venant d'une zone d'endémie avec des signes cliniques doit obliger le biologiste à une lecture attentive et par plusieurs opérateur d'un frottis.

**INTERFERENCES** (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Argumentaire de la conclusion : La seule interférence correspond à la recherche réalisée après la mise en place d'un traitement curatif mais impossible à évaluer

**CONTAMINATION** (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, βHCG, ...)	/
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...)	/

Argumentaire de la conclusion : Non applicable car tests unitaires

**ROBUSTESSE et STABILITÉ des REACTIFS**  
 (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)  
 Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	Vérification de la qualité de la coloration en fonction de la neutralité du pH
Stabilité des réactifs après ouverture, embarquées, ...	Tube EDTA conservé plusieurs jours Réalisation d'un frottis tous les jours pour vérifier : la présence ou absence de l'hématozoaire et sa facilité d'identification Détection des hématzoaires pendant 5 jours et identification de l'espèce facile pendant 48h

Argumentaire de la conclusion : La détection par la réalisation d'une autre lame colorée à partir d'un même échantillon si suspicion clinique peut se révéler possible seulement sur 48h en cas de faux négatif initial ou de problème sur l'espèce plasmodiale.

**INTERVALLES de REFERENCE** et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale Indispensable en portée B)  
 Applicable  ; non applicable

Valeurs de référence	/
----------------------	---

Argumentaire de la conclusion : méthode qualitative



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### DECLARATION d'APTITUDE

#### Conclusion :

En routine, la technique du frottis mince permet de réaliser l'identification de l'espèce en cause et d'évaluer la parasitémie qui servira à l'évaluation de l'efficacité thérapeutique. Cette technique peut être réalisée en moins d'une heure.

Méthode retenue dans notre laboratoire pour le diagnostic des accès palustres dans un contexte d'urgence, utilisée dans le LBM depuis son existence (1976)....

Autorisée par : Dr X.IRIART

Signature

#### Bibliographie :

Conférence de consensus 2007 : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à Plasmodium falciparum Société de Pathologie Infectieuse

F. Talarmin, J.M. Sicard, M. Mounem, D. Verrot, J.A. Husser.. Paludisme d'importation en Moselle: à propos de 75 cas en trois ans. Rev. Med. Int. 21:242-246.

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

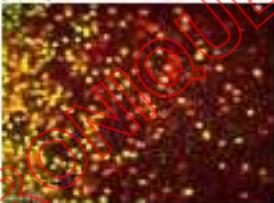


## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 2 : goutte épaisse

Portée A  ; Portée B

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Identification d'agents du Paludisme dans le sang
Principe de la Méthode :	<p>Concentration –Coloration à l'acridine orange et lecture du capillaire au microscope à fluorescence ou en lumière blanche</p> <p>Fluorescence : La lecture se fait à l'objectif X 60 à immersion avec 2 à 3 gouttes d'huile à immersion : Mise en évidence de Plasmodium :</p> <p>Sur un fond sombre, le noyau des trophozoites apparaît en vert et la couleur du cytoplasme varie du vert au rouge (halo)</p> 
Type d'échantillon primaire :	Sang Total
Type de récipient, additifs :	tube EDTA
Prétraitement de l'échantillon :	Centrifugation du capillaire avec centrifugeuse spécifique QBC : Centrifugation (500g/5min)
Unités :	NA
Critères d'interprétation <sup>a</sup> :	NA
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	PAR
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	Microscope à Fluorescence et à lumière blanche
Référence du réactif :	QBC EUROPE ref. 253037
Matière d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA

<sup>a</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Techniciens du secteur morphologie Parasitologie + internes du secteur + Biologistes du secteur
Procédure de validation/mode opératoire :	PG-BIO-MS-QUAL-019 rev 05
Procédure de gestion de la portée flexible :	PG-BIO-MS-QUAL-018 rev 04
Periode d'étude :	Méthodes utilisées dans le LBM depuis des années. Etude rétrospectives avec exploitation des EEQ + étude sur site 2008
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	Plus de 10 ans

MAITRISE DES RISQUES				
(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>7</sup>	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
Matériaux/échantillons	Identité vigilance	4	Formation du personnel préleur	Procédure d'identité-vigilance du laboratoire IT-PERI-PREA-002
	Type de contenants Tube EDTA	4		
	Nature et volume de l'échantillon : Prélèvement veineux Minimum 1 tube de 5ml pour adulte, de 2ml pour enfant	3	Information des préleveurs	Catalogue des Analyses.
	Renseignements épidémiologiques : Zone de séjour Durée du séjour Prophylaxie....	3	Formation des préleveurs	Feuilles de marqué spécifique N° 036245 (v MARS 2014)
	Renseignements cliniques : Hyperthermie, anémie....		Contrôle à la réception	Critères d'acceptation/de refus
	Délai de réception : Urgence <1h	4	Gestion de la logistique	Numéro pour les urgences et contrat avec logistique
	Centrifugation	4	Centrifugeuse spécifique QBC	Maintenance + mode opératoire MT-PTI-MYPA-050

<sup>7</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAÎTRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>7</sup>	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 et des échantillons	2	Conservation des tubes EDTA à 5°C± 3°C	Présents dans chaque mode opératoire MT-MYPA-0490/050/051
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs	3	Conservation des réactifs en fonction de la méthode	Présents dans chaque mode opératoire MT-MYPA-0490/050/051
Matériel (équipements)	Microscope à Fluorescence	3	Nettoyage quotidien des objectifs Maintenance	Consignes de nettoyage des objectifs Enregistrements des maintenances Enregistrement
	Centrifugeuse spécifique	3	Vérification annuelle	Mode opératoire <a href="http://srv-kallstab/MT-MYPA-050-01">http://srv-kallstab/MT-MYPA-050-01</a>
	Parawiever	2	Support non cassé	Gestion des stocks de consommables (Kallstock)
	Tubes capillaires spécifiques	2	Absence de rupture	Formation du personnel et respect du mode opératoire MT-PTI-MYPA-049
	Lecture		Confusion noyaux Plasmodium / corps de Jolly	
	Informatique	3	Vérification de la saisie manuelle	Signature du biologiste sur la feuille de pallasse lors de la validation biologique
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation	3	Respect des consignes fournisseurs  Métrologie des enceintes Surveillance par sondes (Système VIGITEMP) Contrôle des sondes tous les ans  Cartographie tous les 5 ans	Fiches techniques fournisseur avec vérification de la dernière version+ fiches de donnée de sécurité (pour colorants)  Logiciel VIGITEMP IT-BIO-MS-METR-001-01  Etalonnage des sondes annuel MT-BIO-MS-METR-010-01  Cartographie avec enregistrement MT-BIO-MS-METR-013-01
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	3	Gestion des stocks Avec traçabilité des lots	Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation) IT-PTI-APPRO-001/003-01 Enregistrement dans stock



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAÎTRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>†</sup>	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
Méthode	Limites de la méthode	2	Faible Parasitémie surtout si traitement avant le diagnostic	Renseignements cliniques (Feuille de marque de Parasitologie) N° 036245 (V MARS 2014) et renseignements cliniques insérés dans SIL Enregistrement des EEQ et des CIQ par opérateur
	Causes d'incertitude de mesure	2	Mise au point sur la couche leuco plaquettaire	Formation du personnel et respect du mode opératoire MT-PTI-NYPA-050
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel	4	Formation et Habilitation initiale + vérification des compétences	Procédure d'habilitation PG-BIO-MS-QUAL-010-01 Enregistrements d'habilitation du personnel DE-PTI-QUAL-004-02

LA VERSION ELECTRONIQUE



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

REPETABILITE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	Conclusion <sup>5</sup>

Argumentaire de la conclusion : Chaque capillaire est unique

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>4</sup> )	Conclusion <sup>5</sup>
Type de matrice (plasma, serum, ClQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion : Chaque capillaire est unique

VARIABILITE INTER-OPERATEURS							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>							
Opérateur évalue 1	Opérateur évalue 2	...	Pour chaque opérateur : savoir lire dans la bonne zone et lire en fluorescence + lumière blanche Double lecture				

Lecture dans la journée immédiate, si prélèvement en garde lecture le lendemain du deuxième opérateur (capillaire conservé à 4°C la nuit)

N° DOSSIER	Opérateur 1	Opérateur 2
5045 0066	Négatif	Négatif
5029 5053	Positif	Positif
5048 5122	Négatif	Négatif
5048 5121	Négatif	Négatif
5048 4727	Négatif	Négatif
5013 0067	Positif	Positif

100% de concordance

<sup>4</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>5</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisées) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Bias (%) / groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Bias (%) / moyenne générale	Bias (%) Limite <sup>4</sup>	Conclusion <sup>5</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								
Echantillon CIQ niveau 2								

Argumentaire de la conclusion : Pas de CIQ Externalisés existants

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques B)	Bias (%) / groupe de pairs	Bias (%) / toute technique	Bias (%) Limite	Conclusion <sup>5</sup>

Pas d'EEQ existant réalisation d'un CIL

Echange de 6 échantillons de patient (tube EDTA) 100% de concordance

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>	
Vrais positifs	Spécificité, sensibilité, VPN, VPP
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : Utilisation des fiches fournisseur et de la bibliographie scientifique

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>		
Mode de calcul (cf. SH/GTA 14) :	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Quantification de l'incertitude (niveau 1)	Niveau 1 en valeur absolue $\pm$ U ou Niveau 1 en valeur absolue $\pm$ U%	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau 2)	Niveau 2 en valeur absolue $\pm$ U ou Niveau 2 en valeur absolue $\pm$ U%	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau xxx) :	Niveau xxx en valeur absolue $\pm$ U ou Niveau xxx en valeur absolue $\pm$ U%	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) : Méthode qualitative où le calcul est impossible

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Limite de détection :	Bibliographie Une concentration très faible en parasites peut entraîner un test faussement négatif

Argumentaire de la conclusion :



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Conférence de consensus 2007
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Comparaisons des méthodes frottis coloré au M.G.G, QBC et PALUTOP+4® par rapport à la PCR (méthode de référence)
Nombre de mesures :	38
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Présence ou absence du Plasmodium et espèce plasmodiale
Méthode d'exploitation des résultats :	On note également 1 discordance PCR / QBC et aucune avec M.G.G
Equation de la droite de régression :	/
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	/

Argumentaire de la conclusion : Technique pour laquelle la discordance est de 2,6% avec la PCR et de 0% avec le M.G.G donc justifiée en diagnostic d'urgence

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale Indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, P&A, TSH, ...)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Limite de détection :	/	
Limite de quantification :	/	
Limite supérieure de linéarité :	/	
Argumentaire de la conclusion :		

INTERFERENCES (étude expérimentale Indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Argumentaire de la conclusion :		

CONTAMINATION (étude expérimentale Indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, HCG, ...)	/	
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...)	/	
Argumentaire de la conclusion : Non applicable car Tests unitaires		

ROUSTESSE et STABILITE des REACTIFS (étude expérimentale Indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	/	
Stabilité des réactifs après ouverture, embarquée, ...	/	
Argumentaire de la conclusion : La seule problématique relève du respect du mode opératoire		



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)

Applicable  ; non applicable

Valeurs de référence

Préciser les données fournisseur ou essai sur site

Argumentaire de la conclusion : méthode qualitative

### DECLARATION d'APTITUDE

#### Conclusion :

En routine, il est nécessaire d'associer une technique d'enrichissement (QBC) apportant une bonne sensibilité et la technique du frottis mince. Le QBC peut lorsqu'il y a la présence de gamétocytes de faire le diagnostic de *Plasmodium falciparum*. Ces 2 techniques peuvent être réalisées en moins d'une heure.

Méthode retenue dans notre laboratoire pour le diagnostic des accès palustres dans un contexte d'urgence, utilisée à partir De 1998....

Autorisée par : Dr X.IRIART

Signature

#### Bibliographie :

- 1- Conférence de consensus 2007 : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* Société de Pathologie Infectieuse
- 2- Secardin Y, Le Bras: Diagnostic test to identify human *Plasmodium* species by the quantitative buffy coat test Med Trop (Mars. 1999; 59(3):278-8



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### SOUS-PROCESSUS 3 : recherche antigénique

Portée A  ; Portée B

### DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Identification d'agents du Paludisme dans le sang
Principe de la Méthode :	Méthode Immuno- chromatographique sur bandelette PALUTOP + 4® Mise en évidence de la protéine Pf HRP-2 spécifique de l'espèce <i>P. falciparum</i> , de l'enzyme Pv LDH spécifique de l'espèce <i>P. vivax</i> et de l'enzyme pLDH commune à toutes les espèces de plasmodium
Type d'échantillon primaire :	Sang Total
Type de récipient, additif :	tube EDTA
Prétraitement de l'échantillon :	/
Unités :	NA
Critères d'interprétation <sup>10</sup> :	NA
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	/
Équipement (Instrument, analyseur, etc.) :	/
Référence du réactif :	ALL DIAG 5461
Matériau d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	NA

### MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Techniciens du secteur morphologie Parasitologie + Internes du secteur + Biologistes du secteur
Procédure de validation mode opératoire :	PG-BIO-MS-QUAL-019 rev 05
Procédure de gestion de la portée flexible :	PG-BIO-MS-QUAL-018 rev 04
Période d'étude :	Méthodes utilisées dans le LBM depuis des années. Etude rétrospectives avec exploitation des EEQ + étude sur site 2011
Date de 1 <sup>ère</sup> utilisation :	Plus de 10 ans.

<sup>10</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAÎTRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité <sup>11</sup>	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité vigilance	4	Formation du personnel préleur	Procédure d'identité-vigilance du laboratoire IT-PERI-PREA-002
	Type de contenants Tube EDTA	4		
	Nature et volume de l'échantillon : Prélèvement veineux Minimum 1 tube de 5ml pour adulte, de 2ml pour enfant	3	Information des préleur	Catalogue des Analyses
	Renseignements épidémiologiques : Zone de séjour Durée du séjour Prophylaxie....	3	Formation des préleur	Feuilles de marque spécifique N° 036245 (v MARS 2014)
	Renseignements cliniques : Hyperthermie, anémie....		Contrôle à la réception	Critères d'acceptation/de refus
	Délai de réception : Urgence <1h	4	Gestion de la logistique	Numéro pour les urgences et contrat avec logistique
Milieu	Conditions de conservation et des échantillons	2	Conservation des tubes EDTA à 5°C± 3°C	Présents dans chaque mode opératoire MT-MYPA-0490/050/051
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs	3	Conservation des réactifs en fonction de la méthode	Présents dans chaque mode opératoire MT-MYPA-0490/050/051
Matériel (équipement)	Chromométrie	2	Vérification du temps annuel (Horloge parlante)	Enregistrement annuel du contrôle MT-BIO-MS-METR-003-01
	Informatique	3	Vérification de la saisie manuelle	Signature du biologiste sur la feuille de pallasse lors de la validation biologique
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation	3	Respect des consignes fournisseurs  Métrologie des enceintes Surveillance par sondes (Système VIGITEMP) Contrôle des sondes tous les ans  Cartographie tous les 5 ans	Fiches techniques fournisseur avec vérification de la dernière version+ fiches de donnée de sécurité (pour colorants) Logiciel VIGITEMP IT-BIO-MS-METR-001-01 Etalonnage des sondes annuel MT-BIO-MS-METR-010-01 Cartographie avec enregistrement MT-BIO-MS-METR-013-01
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	3	Gestion des stocks Avec traçabilité des lots	Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation) IT-PTI-APPRO-001/003-01 Enregistrement dans stock

<sup>11</sup> A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique :



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié valide)				
SM	Points critiques	Echelle de criticité**	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
Méthode	Limites de la méthode	2	Faible Parasitémie surtout si traitement avant le diagnostic	Renseignements cliniques (Feuille de marque de Parasitologie) N° 036045 (V MARS 2014) et renseignements cliniques insérés dans Sil
	Causes d'incertitude de mesure	2	Respect du temps d'incubation	Formation du personnel et respect du mode opératoire MT-PTI-MYPA-052
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence maintien compétence du personnel	4	Formation et Habilitation initiale + vérification des compétences	Procédure d'habilitation PG-BIO-MS-QUAL-010-01 Enregistrements d'habilitation du personnel DE-PTI-QUAL-004-02 Enregistrement des EEQ (DE)

LA VERSION ELECTRONIQUE



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Preciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) : sang total, tube EDTA

REPETABILITE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournissoeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>12</sup> )	Conclusion <sup>13</sup>

Argumentaire de la conclusion : test unitaire

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournissoeur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source <sup>14</sup> )	Conclusion <sup>15</sup>
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion : il existe un CIQ /Tube EDTA positif aliquoté qui permet seulement d'évaluer la conformité du KIT mais ne permet pas de calculer de CV.

VARIABILITE INTER-OPERATEURS							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>							
Opérateur évalue 1	Opérateur évalue 2	...	Le CV de variabilité doit être Nul car il consiste à l'interprétation de la présence des bandes				

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de paires)	Blais (%) /groupe de paires	Moyenne générale (toutes techniques)	Blais (%) / moyenne générale	Blais (%) Limite <sup>4</sup>	Conclusion <sup>5</sup>
Echantillon CIQ niveau 1								

Argumentaire de la conclusion : Pas de CIQ Externalisés existants

<sup>12</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOG, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>13</sup> Conforme/non conforme



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input checked="" type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Blaie (%) / groupe de pairs	Blaie (%) / toute technique	Blaie (%) limite <sup>4</sup>	Conclusion <sup>5</sup>

CTCB existence depuis 2014 : 2 prélevements résultats conformes

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible et pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>	
Vrais positifs	Spécificité, sensibilité, VPN, VPP
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : Utilisation des fiches fournisseur et de la bibliographie scientifique

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	Formule utilisée	Référence
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	Niveau 1 en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau 1 en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	Niveau 2 en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau 2 en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau xxx) :	Niveau xxx en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau xxx en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion (Impact sur la zone décisionnelle ?) : Méthode qualitative où le calcul est impossible

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible et pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Limite de détection	<p>Bibliographie</p> <p>Chez <i>P. falciparum</i>, l'antigène HRP-2 n'est pas sécrété au stade gamétozoïde. D'autre part, de rares souches (en particulier d'Amérique du Sud) ne sont pas secrétrices d'HRP2 (délétion du gène) rendant la détection de l'accès palustre impossible par cette technique.</p> <p>En dehors des co-infections <i>P.vivax</i> / <i>P. falciparum</i>, la bandelette ne permet pas de mettre en évidence les infections mixtes comprenant <i>P.ovale</i> ou <i>P.malariae</i>.</p> <p>Une absence de bande pan a été notée dans certaines infections à <i>Plasmodium ovale</i>.</p> <p>Des résultats négatifs peuvent être observés en cas de parasitemies inférieures au seuil de détection du test</p>



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

COMPARAISON DE METHODES :	
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Conférence de consensus 2007
Méthodes comparées : méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD, ...	Comparaisons des méthodes frottis coloré au M.G.G, QBC et PALUTOP+4® par rapport à la PCR (méthode de référence)
Nombre de mesures :	38
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Présence ou absence du Plasmodium et espèce plasmodiale
Méthode d'exploitation des résultats :	La PCR étant la technique de référence, on note 2 faux négatifs avec PALUTOP4®, une pour l'identification de <i>P. vivax</i> et une liée à une trop faible charge parasitaire On note aussi un faux positif par rapport à la PCR et au MGG.
Équation de la droite de régression :	
Exploitation des résultats de comparaison (diagramme de différences, concordance catégorielle) :	

Argumentaire de la conclusion : Au total on obtient un taux de discordance de 5% ce qui également acceptable sachant que cette techniques n'est jamais réalisée sans le frottis

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Limite de détection :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite de quantification :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite supérieure de linéarité :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)

Argumentaire de la conclusion :

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Hémolyse	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)	
Turbidité	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)	
Bilirubine, Ictère	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)	
Médicaments	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge	
...	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge	

Argumentaire de la conclusion :

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)		
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>		
Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, HCG, ...)	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge	
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...)	Préciser les données fournisseur ou essai sur site	

Argumentaire de la conclusion : Non applicable car Tests unitaires



## Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### ROBUSTESSE et STABILITÉ des REACTIFS

(étude expérimentale indispensable en portée B)  
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)

Applicable  ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	/
Stabilité des réactifs après ouverture, embarquée, ...	Tube EDTA conservé plusieurs jours Réalisation d'un test tous les jours pendant 96 h puis après congélation

Argumentaire de la conclusion : La détection par la réalisation d'une autre bandelette à partir d'un même échantillon si suspicion clinique peut se révéler possible pendant 96h en cas de faux négatif initial ou de problème sur l'espèce plasmodiale.

### INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)

Applicable  ; non applicable

Valeurs de référence	Preciser les données fournis au essai sur site
----------------------	--

Argumentaire de la conclusion : méthode qualitative

### DECLARATION d'APTITUDE

#### Conclusion :

En cas de problème diagnostique, la détection d'Antigènes par le PALUTOP+ 4® pourra être mise en œuvre. Cette technique est simple et rapide. Elle présente une bonne sensibilité pour *P. falciparum* (HRP2) et une bonne spécificité pour l'ensemble des espèces plasmodiales.

Méthode retenue dans notre laboratoire pour le diagnostic des accès palustres dans un contexte d'urgence, utilisée à partir du 2005.

Autorisée par : Dr X. IRIART  
Signature

#### Bibliographie :

- 1- Conférence de consensus 2007 : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* Société de Pathologie Infectieuse
- 2- Michael L. Wilson: Malaria Rapid Diagnostic Tests, MEDICAL MICROBIOLOGY d CID 2012:54 (1 June) d 1637
- 3- Ousmane A. Koita: False-Negative Rapid Diagnostic Tests for Malaria and Deletion of the Histidine-Rich Repeat Region of the hrp2 Gene, Am. J. Trop. Med. Hyg., 86(2), 2012, pp. 194–198
- 4- Albertini : Preliminary enquiry into the availability, price and quality of malaria rapid diagnostic tests in the private health sector of six malaria-endemic countries, Tropical Medicine and International Health doi:10.1111/j.1365-3156.2011.02904.x
- 5- Eyal Leshem: False-Positive *Plasmodium falciparum* Histidine-Rich Protein 2 Immunocapture Assay Results for Acute Schistosomiasis Caused by *Schistosoma mekongi*, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2011, p. 2331–2332 Vol. 49, No. 6

## 12 ANNEXE 3 : TESTS STATISTIQUES A L'USAGE DE LA VERIFICATION/VALIDATION DE METHODES

Cette annexe est destinée à donner des exemples de calculs applicables à la validation des techniques de biologie médicale. Elle s'appuie sur les références bibliographiques citées dans l'annexe 4.

L'objectif n'est pas de fournir des bases mathématiques mais d'illustrer avec des cas d'application.

Il est possible de faire appel à des logiciels accessibles sur Internet, cités dans l'[annexe 4](#).

### 12.1 Valeurs aberrantes

*Question pratique :*

*Dans la série de mesures, existe-t-il des valeurs aberrantes qu'il est raisonnable d'éliminer ?  
La réponse pourra être apportée par le test de Grubbs.*

Principe :

Le Tests de Grubbs présente un grand intérêt parce qu'il permet le rejet de deux points aberrants dans une série de mesures ou le rejet d'une ou de deux moyennes par rapport à une moyenne générale. Les valeurs sont classées par ordre croissant.

On calcule les deux résidus normalisés et ramenés à des valeurs positives :

$$G_1 = \frac{m - x_1}{s} \quad \text{et} \quad G_n = \frac{x_n - m}{s}$$

Ces résidus sont comparés aux valeurs critiques à 5 % et à 1 % comme dans le cas du test de Dixon.

Si	$G_1$ ou $G_n > G(\alpha = 1\%)$	$x_1$ ou $x_n$ est aberrant
Si	$G(\alpha = 5\%) < G_1$ ou $G_n < G(\alpha = 1\%)$	$x_1$ ou $x_n$ est douteux
Si	$G_1$ ou $G_n < G(\alpha = 5\%)$	$x_1$ ou $x_n$ est non aberrant

Ces résidus sont comparés aux valeurs critiques à 5% et à 1% (cf. table de Grubbs).  
Lien pour calcul automatisé : <http://graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>.

Exemple :

Une série de mesures a donné les valeurs suivantes : 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 35  
Existe-t-il une valeur aberrante ?

$n = 9$

$$\text{Moyenne} = \sum \frac{x}{n} = \frac{103}{9} = 11,44$$

$$\text{Variance} = \frac{(1645 - 1178,78)}{8} = 83,28$$

$$\text{Ecart-type} = 9,13$$

$$G1 = \frac{(35 - 11,44)}{9,13} = 2,58$$

Valeur aberrante  $p < 0,01$  (valeur critique 2,32 test bilatéral)

**Conclusion : 35 est une valeur aberrante à éliminer**

## 12.2 Comparaison de 2 CV

*Question pratique :*

*Le laboratoire possède 2 systèmes analytiques pour réaliser le même paramètre biologique. Les mêmes CIQ sont analysés sur les deux systèmes. Les CV sont-ils statistiquement différents ?*

*La réponse pourra être apportée par le test de Fisher - Snedecor.*

Principe :

Pour comparer 2 CV, on compare en fait les variances  $\sigma^2_A$  et  $\sigma^2_B$  estimées à partir des 2 échantillons de taille  $n_A$  et  $n_B$ . On utilise le test de FISHER. Ce test consiste à calculer le rapport  $\sigma^2_A / \sigma^2_B$  ( $F$  calculé) et à le comparer à la valeur seuil ( $F$  théorique) donné dans la table pour  $n_A-1$  et  $n_B-1$  degré de liberté (DDL - cf. table de F).

La variance la + grande se place au numérateur

Si  $F$  calculé  $<$   $F$  théorique les 2 variances ne diffèrent pas significativement

Si  $F$  calculé  $\geq$   $F$  théorique les 2 variances diffèrent significativement

Condition d'utilisation du test: la variable  $x$  doit être distribuée dans les 2 populations selon une loi normale.

Exemple : CK (UI/L)

	Appareil 1	Appareil 2
n	21	21
Moyenne	157,79	161,96
Ecart-type	5,658	1,509
CV	3,586	0,928

$$F_{\text{calculé}} = \frac{5,658^2}{1,509^2} = 14,06$$

$$F_{\text{théorique}} (20/20DDL) = 2,46$$

$$F_{\text{calculé}} > F_{\text{théorique}}$$

**Conclusion : les deux systèmes analytiques présentent des fidélités statistiquement différentes.**

### 12.3 Comparaison de 2 moyennes

*Question pratique :*

*Le laboratoire possède 2 systèmes analytiques pour réaliser le même paramètre biologique.*

*Les mêmes C/IQ sont analysés sur les deux systèmes. Les moyennes sont-elles statistiquement différentes ?*

*La réponse pourra être apportée par le test t.*

Principe :

Cas de grands échantillons ( $n_A$  et  $n_B \geq 30$ )

Pour comparer 2 moyennes  $m_A$  et  $m_B$  estimées sur deux échantillons  $n_A$  et  $n_B$ , on utilise le test de Student qui consiste à calculer le ( $t$  calculé) et à le comparer à la valeur seuil ( $t$  théorique) donné dans la table pour  $(n_A+n_B-2)$  degré de liberté DDL (cf. table de t).

$$t_{\text{calculé}} = \frac{|m_A - m_B|}{\sqrt{\frac{\sigma_A^2}{n_A} + \frac{\sigma_B^2}{n_B}}}$$

Si  $t$  calculé <  $t$  théorique les 2 moyennes ne diffèrent pas significativement  
Si  $t$  calculé  $\geq t$  théorique les 2 moyennes diffèrent significativement

Exemple : protéines urinaires (g/L)

	Appareil 1 (G)	Appareil 2
n	52	49
Moyenne	0,459	0,418
Ecart-type	0,031	0,028
CV	6,753	6,698

$$t_{\text{calculé}} = \frac{|0,459 - 0,418|}{\sqrt{\frac{0,031^2}{52} + \frac{0,028^2}{49}}} = 6,98$$

$$t_{\text{théorique}}(99 \text{DDL}) = 1,96$$

$t$  calculé >  $t$  théorique

**Conclusion : les deux systèmes analytiques présentent des moyennes statistiquement différentes.**

Cas de petits échantillons ( $n_A$  et/ou  $n_B < 30$ )

Dans ce cas, le test t n'est applicable qu'à la condition que les variables soient distribuées selon une loi normale et que les variances soient égales pour les populations A et B (faire un test F).

Une variance commune sera estimée selon la formule suivante :

$$\sigma_C^2 = \frac{[(n_A - 1)\sigma_A^2 + (n_B - 1)\sigma_B^2]}{n_A + n_B - 2}$$

$$t_{calculé} = \frac{|m_A - m_B|}{\sqrt{\frac{\sigma_c^2}{n_A} + \frac{\sigma_c^2}{n_B}}}$$

Exemple : cholestérol (mmol/L)

	Appareil 1	Appareil 2
n	20	20
Moyenne	5,591	5,484
Ecart-type	0,179	0,192
CV	3,2	3,5

Test F : F calculé = 1,15  
 F théorique (19/19 DDL) = 2,46

Fcalculé < Fthéorique : les deux systèmes analytiques présentent des fidélités non statistiquement différentes.

Test t :

$$\sigma_c^2 = \frac{[(19 \times 0,179^2) + (19 \times 0,192^2)]}{20 + 20 - 2} = 0,0344$$

$$t_{calculé} = \frac{|5,591 - 5,484|}{\sqrt{\frac{0,0344}{20} + \frac{0,0344}{20}}} = 1,824$$

t théorique (38 DDL) = 1,96

t calculé < t théorique

**Conclusion** : les deux systèmes analytiques présentent des moyennes non statistiquement différentes.

## 12.4 Comparaison de 2 séries de résultats (séries appariées)

### 12.4.1 Test t des différences

Question pratique :

Le laboratoire possède 2 systèmes analytiques pour réaliser le même paramètre biologique. Les mêmes échantillons patients sont analysés sur les deux systèmes. Les différences observées sont-elles statistiquement significatives ? La réponse pourra être apportée par le test t des différences.

Principe :

Les données des deux échantillons, de même effectif n, se présentent sous la forme de n couples. Pour chaque couple on calcule la différence. On obtient n différences qu'on peut considérer comme un échantillon aléatoire de la population des différences. On calcule la moyenne des différences ( $m_d$ ) et l'écart-type des différences ( $\sigma_d$ ). Le problème se ramène donc à la comparaison de la moyenne des différences à 0 (valeur de référence). Le t calculé sera comparé au t théorique avec (n-1) DDL.

CONDITIONS D'APPLICATION du TEST : les différences doivent être distribuées selon une loi normale

$$t_{calculé} = \frac{|m_d - 0|}{\sqrt{\frac{\sigma_d^2}{n_d}}}$$

Si  $t$  calculé <  $t$  théorique ( $(n_d-1)$  DDL): la moyenne des différences ne diffère pas significativement de 0 (risque  $\alpha$ )

Si  $t$  calculé  $\geq t$  théorique la moyenne des différences diffère significativement de 0

Exemple :

Dosage du cholestérol (mmol/l) sur 20 échantillons de sérums par deux appareils. Comparaison des résultats obtenus, étude des différences.

Appareil 1	Appareil 2	Différences (1-2)
5.2	5.14	0.06
3.6	3.66	-0.06
3.7	3.96	-0.26
4.77	4.72	0.05
4.23	4.28	-0.05
3.4	3.32	0.08
3.6	3.29	0.31
5.9	5.85	0.05
3.5	3.47	0.03
2.6	2.52	0.08
4.0	3.92	0.08
4.5	4.32	0.18
7.4	7.06	0.34
2.2	2.22	-0.02
4.3	4.56	-0.26
5.2	5.34	-0.14
6.0	5.84	0.16
3.5	3.61	-0.11
4.4	4.53	-0.13
1.4	1.46	-0.06

$$t_{calculé} = \frac{|0,0205263|}{\sqrt{\frac{0,1634175^2}{20}}} = 0,562$$

$t$  théorique (19) = 2,093

$t$  calculé <  $t$  théorique

**Conclusion : les résultats des deux systèmes analytiques présentent des différences non statistiquement significatives.**

Remarque : le test  $t$  sur séries appariées est un test très sensible qui peut mettre en évidence des différences très faibles, statistiquement significatives, qui n'ont pas d'impact sur le plan clinique.

## 12.4.2 Test de concordance entre deux instruments

### 12.4.2.1 Test de Bland-Altman

D'après l'exemple du CRHUM :

[crchum.chumontreal.qc.ca/.../crchum.../analyse\\_graphique\\_bland-altman](http://crchum.chumontreal.qc.ca/.../crchum.../analyse_graphique_bland-altman)

#### Contexte

On désire comparer deux instruments qui mesurent le même analyte biologique et on veut savoir si les deux instruments sont concordants (« agreement »).

#### Données

Soit dix sujets pour lesquels les mesures sont réalisées. Pour chaque sujet de 1 à 10, on a une mesure de chaque instrument à comparer.

On calcule la moyenne entre les deux instruments pour chaque sujet (colonne 3) et la différence entre les deux instruments pour chaque sujet (colonne 4).

Sujets	Instrument 1	Instrument 2	Moyennes	Differences
1	13	12	(12+13)/2 = 12.5	13 - 12 = 1
2	14	10	(10+14)/2 = 12	14 - 10 = 4
3	11	15	13	-4
4	10	10	10	0
5	12	14	13	-2
6	14	14	14	0
7	12	12	12	0
8	11	13	12	-2
9	9	10	9,5	-1
10	11	9	10	2

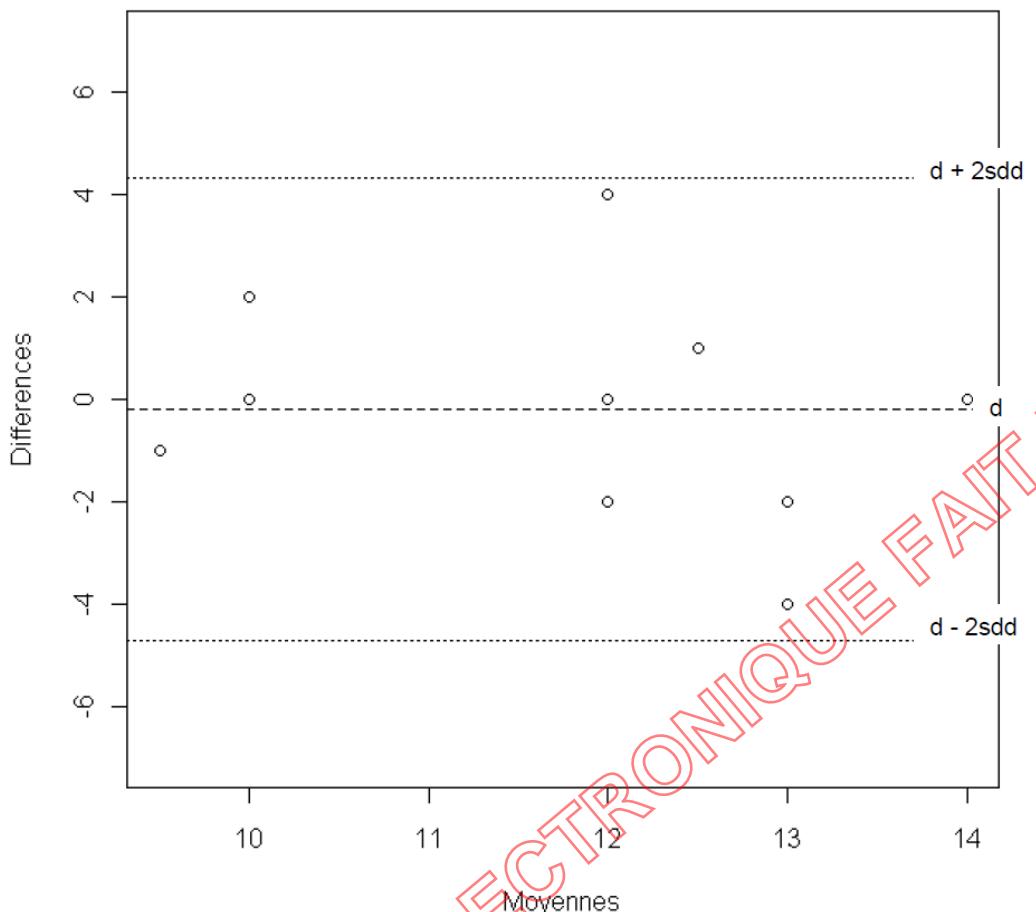
#### Graphique

Un graphique de BLAND-ALTMAN permet de comparer les moyennes des mesures à leurs différences. On porte sur l'axe des x les moyennes (colonne 4) et sur l'axe des y les différences (colonne 5).

Pour calculer ce qu'on appelle les limites d'agrément (limits of agreement), il y a trois étapes :

1. Calculer  $d = \text{moyenne des Différences}$  (ici  $d = -0.2$ )
2. Calculer  $sdd = \text{l'écart type des Différences}$  (ici  $sdd = 2.25$ )
3. Calculer la limite inférieure et supérieure =  $d \pm 2 sdd$  (ici  $d \pm 2 sdd = -4.7$  et  $4.3$ )

### Graphique Bland-Altman



#### Interprétation

La moyenne des différences «  $d$  » indique si un des deux instruments tend à produire des valeurs systématiquement plus basses ou plus élevées que l'autre. Dans cet exemple  $d = -0,2$ . Il semble donc que l'instrument 1 fournit des valeurs un peu plus faibles que l'instrument 2. Cependant, il faut s'interroger sur la signification de cette différence de -0,2 (voir le paragraphe « Interprétation des limites d'agrément » ci-dessous).

La valeur «  $d$  » est souvent présentée à tort comme le biais. En fait, on ne connaît pas la vraie mesure pour chaque sujet, tout ce que l'on a, pour chaque sujet, ce sont deux valeurs qui comportent probablement des erreurs de mesure. La moyenne entre ces deux valeurs est notre meilleure estimation de la valeur vraie. La valeur «  $d$  » est la moyenne des différences entre les mesures de l'instrument 1 et celles de l'instrument 2. Si un des instruments donne la valeur de référence, on peut considérer «  $d$  » comme la mesure du biais. Si aucun des deux instruments n'est « de référence », alors on peut considérer «  $d$  » davantage comme une différence systématique entre deux instruments qu'un biais.

#### Interprétation des limites d'agrément

On s'attend à ce que la plupart de nos points se situent dans l'intervalle entre les limites d'agrément  $d \pm 2 sdd$ . Il faut donc savoir interpréter ces limites.

*Important :* les procédures reliées au graphe de Bland-Altman ne sont généralement pas associées à des tests statistiques et ne produisent pas de valeur de probabilité «  $p$  ». L'interprétation des limites d'agrément se fait en lien avec le contexte de réalisation du test

(intérêt clinico-biologique) non en comparaison avec des valeurs « de référence ». Avant de faire le graphe de Bland-Altman, il faudra s'interroger sur la différence entre les deux instruments que l'on considérera acceptable.

Dans l'exemple ci-dessus, si on considère que la différence acceptable entre deux mesures obtenues par deux instruments est de  $\pm 5$  unités, alors les mesures obtenues sont considérées comme similaires ou interchangeables, les 2 instruments sont concordants. Si la différence acceptable avait été de  $\pm 2$  unités on aurait conclu qu'il n'y a pas de concordance (ou faible concordance) entre les 2 instruments.

#### 12.4.2.2 Droites de régression

Lorsque l'on dispose de couples de valeurs obtenues sur des spécimens de patients, on peut reporter sur un graphique orthonormé l'ensemble des données avec en abscisse la technique prise comme référence et en ordonnée la technique à tester et rechercher la relation existant entre elles. Il existe différentes modalités de calcul de la relation linéaire qui prennent plus ou moins en compte l'ensemble des contraintes existant dans la comparaison de méthodes. Les méthodes de calcul suivantes conduisent à des droites de régression comparables :

- droite des moindres carrés (régression orthogonale) tableur Excel,
- droite des moindres rectangles (droite d'allométrie),
  - o  $y = a \cdot x + b$  avec  $a$  (pente) =  $\sigma_y/\sigma_x$  et  $b$  (intercept) =  $m_y - a \cdot m_x$
  - o  $m_x$  = moyenne de  $x$  et  $\sigma_x$  = écart type des  $x$
  - o  $m_y$  = moyenne de  $y$  et  $\sigma_y$  = écart type des  $y$
- droite de DEMING,
- droite de YORK,
- droite de PASSING-BABLOK.

#### Exemple : comparaison de 2 méthodes de dosage

Pour chacun des  $N$  sujets d'un échantillon, on dose simultanément la même substance par 2 méthodes X et Y.

Sujet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Y	7,2	5,3	2,3	4,1	6,4	8,1	6,8	9,1	5,9	4,8
X	8,1	5,3	2,9	3,8	7,1	7,4	7,7	8,7	5,9	5,2

D'après Appareils et méthodes en Biochimie de Pierre Kamoun – 3<sup>e</sup> édition, Médecine & Sciences, Flammarion.

On désire savoir si X et Y sont ou non des méthodes équivalentes. La question posée est : les méthodes X et Y donnent-elles les mêmes résultats dans la population des sujets ? A-t-on dans celle-ci  $X=Y$  ?

#### Droite des moindres rectangles (droite d'allométrie) :

- o  $m_x = 6,21$  et  $\sigma_x = 1,91221222$
- o  $m_y = 6,00$  et  $\sigma_y = 1,98606255$
- o  $a$  (pente) =  $\sigma_y/\sigma_x = 1,98606255/1,91221222 = 1,03862036$
- o  $b$  (intercept) =  $m_y - a \cdot m_x = 6,00 - 1,03862036 \times 6,21 = -0,4498$

#### **Equation de la droite d'allométrie :**

$$Y = 1,039 x - 0,450$$

Droite des moindres carrés, régression orthogonale, tableur Excel :

RAPPORT DÉTAILLÉ EXCEL

<i>Statistiques de la régression</i>		
Coefficient de détermination multiple	0,95787129	
Coefficient de détermination R^2	0,91751741	
Coefficient de détermination R^2	0,90720708	
Erreur-type	0,60499299	
Observations	10	
	Coefficients	Erreur-type Statistique t
Constante b	-0,17810933	0,68228633 0,26104778
Pente a	0,99486463	0,10546127 9,43345954

**Equation de la droite des moindres carrés :**

$$Y = 0,995 x - 0,178$$

Conclusion :

Si les 2 méthodes fournissent dans la population et aux variations aléatoires près, les mêmes résultats, alors il existe une droite de régression théorique  $Y = 1.x + 0$ , c'est-à-dire de pente  $a = 1$  et d'ordonnée à l'origine  $b = 0$ .

Hypothèse  $a=1$ .

Les étapes de ce test sont les suivantes :

- $H_0 : a=1$  et  $H_1 : a \neq 1$
- le paramètre  $\frac{a-1}{S_a}$  suit sous  $H_0$  une loi du test t de Student avec  $(n-1)ddl$
- pour un risque de 0,05 et  $(n-1)ddl = 7$ ,  $t=2,262$
- $t \text{ calculé} = \frac{a-1}{S_a} = \frac{-0,0092}{0,10546} = -0,049$

$T \text{ calculé} < t \text{ théorique}$  : hypothèse  $H_0$  acceptée, la pente n'est pas différente de 1.

Hypothèse  $b=0$ .

Les étapes de ce test sont les suivantes :

- $H_0 : b=0$  et  $H_1 : b \neq 0$
- le paramètre  $b/S_b$  suit sous  $H_0$  une loi du test t de Student avec  $(n-2)ddl$
- pour un risque de 0,05 et  $(n-2)ddl = 8$ ,  $t=2,306$
- $t \text{ calculé} = \frac{b}{S_b} = \frac{-0,178}{0,6822} = -0,261$

$T \text{ calculé} < t \text{ théorique}$  : hypothèse  $H_0$  acceptée, la coordonnée à l'origine n'est pas différente de 0.

**On peut donc conclure que les deux méthodes donnent des résultats équivalents.**

La comparaison de la droite de régression obtenue à la droite théorique ( $y=x$ ) peut être simplifiée en utilisant les normes d'interprétation (NI) de la droite de régression proposées par la SFBC. Ces normes correspondent, pour les trois niveaux de concentration définis, aux erreurs systématiques maximales tolérables.

$$NI = 2 * \text{erreur de justesse}$$

Exemple : acide urique

	Valeur	Justesse (%)	NI
Niveau bas	150 µmol/l	± 7,1	± 21
Niveau moyen	300 µmol/l	± 6,2	± 37
Niveau élevé	450 µmol/l	± 5,3	± 48

Pour les trois niveaux de concentration, les deltas entre les deux droites  $y=ax+b$  et  $y=x$  sont inférieures aux normes d'interprétation. L'équation de la droite  $y=ax+b$  ne sera pas considérée comme différente de  $y=x$ .

## 12.5 Comparaison de n séries de résultats (n opérateurs ou n analyseurs)

La comparaison de moyennes entre n groupes (pour n supérieur à 2, sinon un test t de Student sera réalisé) peut être réalisée à l'aide de l'analyse de variance (Anova). Il y a deux raisons pour utiliser l'Anova plutôt que plusieurs tests t :

- le nombre de comparaisons augmente de façon géométrique ;
- le risque de trouver des résultats significatifs ne traduisant pas de réelle différence peut être du au hasard.

Par exemple, la comparaison de 4 moyennes nécessite la réalisation de 6 tests t. Il peut être démontré que dans 27% des cas l'hypothèse d'égalité sera rejetée alors qu'elle est vraie.

Si l'Anova n'est pas significative, cela veut dire qu'au seuil choisi, il n'y a pas de différence entre les moyennes. Si elle est significative, cela veut dire qu'au moins une des moyennes diffère des autres.

Comme le test t de Student, l'Anova n'est applicable qu'à la condition que les variables soient distribuées selon une loi normale et que les variances soient égales.

Exemple :

Soit la comparaison des moyennes de 3 séries de mesure obtenues par les analyseurs 1, 2 et 3. Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus avec les sommes, moyennes et variance de chaque série.

Echantillon	Analyseur1	Analyseur2	Analyseur3
1	19	19	19
2	20	21,8	20,9
3	5	7,6	6,3
4	3	4,1	3,5
5	3	3,1	3
6	20	21,3	20,6
7	9	10,3	9,6
8	13	14,2	13,6
9	2	3,6	2,8
10	9	9,4	9,2
11	6	7,4	6,7
12	13	13,4	13,2
13	12	11,9	11,9
14	7	8,1	7,5
15	14	15	14,5
16	17	18	17,5
17	7	7,1	7,1
18	13	15	14
19	20	21	20,5
20	5	4,8	4,9

Somme	217	236,1	226,3
Moyenne	10,85	11,805	11,315
Variance	37,397368	38,209974	37,699237

Les fonctions d'un tableur permettent l'analyse de variance dont le tableau ci-dessous reporte les résultats :

ANALYSE DE VARIANCE				
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F
Entre Groupes	9,122333333	2	4,561166667	0,1207653
A l'intérieur des groupes	2152,825	57	37,76885965	
Total	2161,947333	59		

$$F \text{ calculé} = 0,1207$$

$$F \text{ théorique (2/57 DDL)} = 3,15$$

$F_{\text{calculé}} < F_{\text{théorique}}$  : les trois moyennes sont équivalentes.

**Conclusion : les trois systèmes analytiques présentent des moyennes non statistiquement différentes.**

## 12.6 Vérification des concordances

Exemple de mesure de l'accord inter observateur :

<http://www.statmanie.uqam.ca/Calcul/index.html>

Question pratique :

*Le dosage qualitatif d'un même paramètre biologique est réalisé par deux techniciens différents, sur les mêmes échantillons patients. Les résultats obtenus sont-ils concordants ?*

*La concordance ou la discordance des résultats entre opérateurs pourront être mises en évidence par le calcul du coefficient Kappa.*

Principe : afin de comparer deux mesures, obtenues par deux observateurs différents utilisant la même méthode (variables souvent qualitatives), il importe d'évaluer la proportion de résultats pour lesquels il y a accord entre les observateurs. L'expression de cette concordance passe par le calcul d'un coefficient dit « kappa », qui est d'autant plus proche de 1 que la concordance est bonne. A noter que même en cas d'observations effectuées au hasard (hypothèse d'indépendance), on observe une concordance non nulle, dite « concordance aléatoire ».

Le calcul du coefficient kappa prend donc en compte la concordance observée  $P_o$  (somme des proportions diagonales du tableau), et la concordance calculée  $P_c$  (concordance attendue sous l'hypothèse d'indépendance).

Le tableau ci-dessous expose le cas de deux observateurs ayant R modalités de jugement à propos d'un nombre total d'observations N (effectif total) ; on note  $n_{ij}$  l'effectif de la case de ligne i et de colonne j.

**Tableau I.**

Calcul du coefficient Kappa.

		Observateur 2		Total
Observateur 1		n <sub>11</sub>	n <sub>12</sub>	n <sub>1..</sub>
		n <sub>21</sub>	n <sub>22</sub>	n <sub>2..</sub>
		n <sub>ij</sub>	n <sub>ij</sub>	n <sub>i..</sub>
		n <sub>R1</sub>	n <sub>R2</sub>	n <sub>R..</sub>
Total		n <sub>.1</sub>	n <sub>.2</sub>	N

La concordance observée :  $P_o = \frac{1}{N} \times (\sum n_{ij})$

La concordance calculée :  $P_c = \frac{1}{N^2} \times (\sum n_{i..} \times n_{.j})$

Le coefficient kappa se calcule comme :  $K = \frac{P_o - P_c}{1 - P_c}$

Il n'y a pas de coefficient kappa « significatif » ou non. Il s'agit d'une mesure de l'accord entre observateurs, qui doit être analysée en fonction du contexte. On attendra un coefficient kappa d'autant plus élevé que la variable étudiée est « objective ». Le tableau ci-dessous donne un ordre d'idée de l'interprétation des valeurs de kappa en fonction de l'intervalle dans lequel se situe la valeur calculée du coefficient, mais d'autres échelles d'interprétation (reposant sur 3 classes par exemple) peuvent être utilisées.

**Tableau II.**

Interprétation du coefficient Kappa.

Coefficient Kappa	Estimation du degré de concordance
0,8 à 1	Excellent
0,6 à 0,8	Bon
0,4 à 0,6	Moyen
0,2 à 0,4	Faible
0 à 0,2	Négligeable
< 0	Mauvais

D'après C. Fuhrman & C. Chouaid, RMR, Fev 2004, vol 21, n°1, pp123-125

Davantage que la valeur absolue du coefficient kappa, il est en fait plus important de connaître son intervalle de variation. Po peut varier de 0 (désaccord total) à 1 (accord parfait), le coefficient Kappa peut varier de 0 à 1. Cette borne inférieure dépend des totaux marginaux du tableau. De même, la valeur maximale du coefficient Kappa n'est pas nécessairement égale à 1.

Comparaison entre deux valeurs du coefficient kappa

S'il n'y a pas de moyen objectif « statistique » de dire qu'un coefficient kappa est « bon » ou pas, il peut être utile de comparer deux valeurs de ce coefficient entre elles. Pour cela, il faut calculer le rapport, qui suit une loi normale centrée réduite sous l'hypothèse nulle.

Exemple :

Evaluation de la présence/absence de *P. falciparum* sur 50 échantillons de sang par deux techniciens. Comparaison des résultats obtenus, étude des différences.

Réponses		Opérateur 1		Total
		+	-	
Opérateur 2	+	20	5	25
	-	3	22	25
Total		23	27	50

$$Po = \frac{1}{50} \times (20 + 22) = 0,84$$

$$Pc = \frac{1}{50^2} \times [(25 \times 23) + (27 \times 25)] = 0,5$$

$$K = \frac{0,84 - 0,5}{1 - 0,5} = 0,68$$

Conclusion : bon accord entre les deux opérateurs (cf. tableau II)

LA VERSION ELECTRONIQUE FAIT FOI

## 13 ANNEXE 4 : BIBLIOGRAPHIE

### 13.1 Références légales et réglementaires

Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale : J.O. du 31 mai 2013.

Directive 98/79/CE du Parlement européen et du Conseil, du 27 octobre 1998, relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* ([http://www.ine.fr/fr/essais/essais\\_conformite/essais\\_conformite.shtml](http://www.ine.fr/fr/essais/essais_conformite/essais_conformite.shtml)).

Décret n°2004-108 du 4 février 2004 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et modifiant le code de la santé publique (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat) : J.O. du 6 février 2004, page 2577, NOR: SANP0324626D.

Décret n°2002-637 du 29 avril 2002 relatif à l'accès aux informations personnelles détenues par les professionnels et les établissements de santé en application des articles L. 1111-7 et L. 1112-1 du code de la santé publique: J.O n°101 du 30 avril 2002, page 7790, NOR: MESP0221143D.

### 13.2 Références normatives générales

Analyses de biologie délocalisées (ADBD) - Exigences concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 22870: Mai 2006 (AFNOR).

Application de la statistique - Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1-6. NF ISO 5725: Décembre 1994 et rectificatifs techniques (AFNOR).

Critères de validation intra-laboratoire pour les méthodes de détection et quantification de séquences d'acides nucléiques spécifiques. XP V03-044 : Juillet 2008 (AFNOR).

Exigences générales concernant la compétence des laboratoires. NF EN ISO/CEI 17025 : Septembre 2005 (AFNOR).

Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM) : 2008. NF ISO/CEI GUIDE 98-3 (AFNOR) et JCGM 100 : 2008 (<http://www.bipm.org/en/publications/guides/>).

Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 15189 : Décembre 2012 (AFNOR).

Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de la justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure. NF ISO 21748 : Décembre 2010 (AFNOR).

Matériaux de référence - Contenu des certificats et étiquettes. ISO Guide 31 : 2000 (AFNOR).

Métrie – Systèmes de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure. NF EN ISO 10012 : Septembre 2003 (AFNOR).

Normes fondamentales - Métrie et applications de la statistique - Aide à la démarche pour l'estimation et l'utilisation de l'incertitude des mesures et des résultats d'essais. FD X07-021 : Octobre 1999 (AFNOR).

Normes fondamentales - Vocabulaire des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM). NF ISO/CEI GUIDE 99 (AFNOR) et JCGM 200 : 2012 (<http://www.bipm.org/en/publications/guides/>).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Parties 1 et 2. NF ISO 3534-1 : Janvier 2007 et Décembre 2006 (AFNOR).

Systèmes de management de la qualité — Principes essentiels et vocabulaire. ISO 9000: Octobre 2005 (AFNOR).

Utilisation des matériaux de référence certifiés. ISO Guide 33 : Janvier 2000 (AFNOR).

### 13.3 Documentation COFRAC / EA

[Document COFRAC SH REF 02](#), "Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale".

[Document COFRAC SH REF 05](#), "Règlement d'accréditation".

[Document COFRAC SH REF 08](#), "Expression et évaluation des portées d'accréditation".

[Document COFRAC SH INF 50](#), "Portées-types d'accréditation".

Document COFRAC SH GTA 01, "Guide technique d'accréditation en Biologie Médicale".

Document COFRAC SH GTA 02, "Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des systèmes informatiques en Biologie Médicale".

Document COFRAC SH GTA 06, "Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en Biologie Médicale".

Document COFRAC SH GTA 14, "Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en Biologie Médicale".

Document COFRAC SH FORM 43, "Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale".

Document EA 4/17, "EA Position Paper on the description of scopes of accreditation of medical laboratories (EA)".

Document EA 4/16, "EA Guideline on the Expression of Uncertainty in Quantitative Testing".

### 13.4 Validation des méthodes

[The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics](#). Eurachem Guides (2014).

[Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods](#). NATA note n°17.

Validation de méthodes pour la recherche de mutations en génétique somatique. INCA (2014).

[A WHO guide for supplementary guidelines on good manufacturing practice \(GMP\): Validation.](#) World Health Organisation (2005).

Radioprotection - Critères de performance pour l'analyse radio toxicologique - Partie 1 : principes généraux. NF ISO 12790-1: Mars 2002 (AFNOR).

Validation des procédures analytiques quantitatives – Harmonisation des démarches. SFSTP. STP Pharma Prat mai/juin 2003, vol. 13 (3): 101-138.

Guide de validation analytique. Méthodologie. STP Pharma Pratique 1992, vol. 2: 205-226.

Guide de validation analytique. Exemples d'application. STP Pharma Pratique 1992, vol. 2: 227-239.

Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques: stratégie de validation. SFSTP, 1997, vol. 7: 169-194.

[Validation of Analytical Procedures: text and methodology. Q2A, Q2B ICH \(2005\).](#)

IUPAC recommendations for defining and measuring detection and quantification limits, Analysis magazine 1994, v22, n° M24-M26.

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude. NF V03-110 : Août 2011 (AFNOR).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole d'évaluation intra-laboratoire d'une méthode alternative d'analyse qualitative par rapport à une méthode de référence. XP V03-111 : Octobre 1995 (AFNOR).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Guide pour l'utilisation des matériaux de référence. FD V03-115: Juillet 1996 (AFNOR).

Évaluation des performances des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Norme NF EN 13612: Septembre 2002 (AFNOR).

[Guide EURACHEM/CITAC, Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques \(2ème édition\), 2000 \(www.lne.fr\).](#)

Estimer l'incertitude, Mesures et Essai. C. Perruchet et M. Priel, 2000, (Editions AFNOR).

### **13.5 Validation des méthodes en biologie médicale**

A multicentric evaluation of IDMS-traceable creatinine enzymatic assays. Pieroni L (2011) Clin Chim Acta 412(23-24):2070-5

Accreditation for Microbiological Laboratories. Eurachem Guides (2013).

Analyses de biologie médicale : spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques. A. Vassault, D. Grafmeyer, J. de Graeve, R. Cohen, A. Beaudonnet, J. Bienvenu Ann Biol Clin 1999, 57 : 685-95.

CLSI EP17 – A2 Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline - Second Edition, 2012.

CLSI EP15 – A3 User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Third Edition, 2014

Continuous improvement of medical test reliability using reference methods and matrix-corrected target values in proficiency testing schemes: application to glucose assay. Delatour V. Clin Chim Acta. 2012 Nov 20;413(23-24):1872-8.

Current databases on biological variations : pros, cons and progress, Ricos C. et al., Scand J Clin Lab Invest 1999, 59, 491-50. Uptaded in 2014 ([www.westgard.com](http://www.westgard.com)).

Dictionnaire des termes à l'usage de la validation des techniques, Commission validation de technique SFBC, Ann Biol Clin 1986, 44: 679-85.

Normes d'acceptabilité en hémostase. GEHT, Août 2014.

Plackett-Burman - wjyouden,ehsteiner,statistical manual of the AOAC International, 1975, ISBN 0-935584-15-3.

Protocole de validation de techniques (Protocole Valtec) - Document B. Vassault A., Grafmeyer D., Naudin C., Dumont G., Bailly M., Henny J., Gerhardt MF., Georges P. et les membres de la commission de Validation de techniques de la SFBC Ann. Biol. Clin., 1986, 44, 686-745.

Recommandations 2007 : prélèvements destinés aux tests d'Hémostase. GEHT.

REMIC 2015

Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F). Giroud C, Dumontet M, Vassault A, Braconnier F, Férand G Ann Biol Clin 2007, 65 : 185-200.

SFBC « Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale ». Ann Biol Clin 2010 ; **68** ; (Hors série no 1) : John LIBBEY ed (313 pages).

Référentiel en microbiologie médicale 2010, 4<sup>e</sup> édition. Société française de microbiologie.

TIETZ Clinical guide to laboratory tests, Alan HB Wu, 4th edition, Saunders/Elsevier, 2006.

Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology, Holger et al., J. Clin. Virology 40 (2007): 93–98.

Young DS: Effects of Drugs and Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington, DC, AACC Press, 2000.

### 13.6 Sites Internet

James O. Westgard, PhD, [www.westgard.com](http://www.westgard.com)

Ph. Marquis, [www.multiqc.com](http://www.multiqc.com).

COFRAC, Comité Français d'Accréditation, [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)

AFNOR, Association Française de Normalisation, [www.afnor.fr](http://www.afnor.fr)

HAS, Haute Autorité de Santé [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

EA, European co-operation for Accréditation, [www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org)

GEHT, groupe d'étude de la Société Française d'Hématologie, [site.geht.org/Accueil/](http://site.geht.org/Accueil/)

Les fournisseurs de DMDIV et la norme NF EN ISO 15189 Version 2012 Position Paper ,  
[www.sidiv.fr/\\_GizBooFlow/data/4c8e7e24f3d57/NEWS/762/documents/5249a0942a04c.pdf](http://www.sidiv.fr/_GizBooFlow/data/4c8e7e24f3d57/NEWS/762/documents/5249a0942a04c.pdf)

QUAMIC : Comité qualité de la société française de microbiologie, Recommandations 2014, SFM, [www.sfm-microbiologie.org](http://www.sfm-microbiologie.org)

Sites statistiques :

<http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests>

<https://moodle.insa-rouen.fr/mod/resource/index.php?id=49>

<http://herve.delboy.perso.sfr.fr/Nonparam.htm>

<http://efisio.online.fr/ensenhament08/LB/index.html>

<http://statpages.org/>

<http://www.jybaudot.fr/General/indexstats.html>

[http://sante-serveur.univlyon1.](http://sante-serveur.univlyon1.fr/immediato/Math/Enseignement/07%20Statistiques/Statistiques_index.htm)

[fr/immediato/Math/Enseignement/07%20Statistiques/Statistiques\\_index.htm](http://sante-serveur.univlyon1.fr/immediato/Math/Enseignement/07%20Statistiques/Statistiques_index.htm)