

LES CONTROLES DE LA QUALITE ANALYTIQUE EN BIOLOGIE MEDICALE

Document LAB GTA 06

Révision 00 – Juillet 2005



SOMMAIRE

| | | |
|------|---|----|
| 1 | OBJET DU DOCUMENT | 3 |
| 2 | DEFINITIONS | 4 |
| 3 | DOMAINE D'APPLICATION | 4 |
| 4 | MODALITES D'APPLICATION | 4 |
| 5 | SYNTHESE DES MODIFICATIONS | 4 |
| 6 | MODALITE DE REEXAMEN | 4 |
| 7 | ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF..... | 5 |
| 8 | INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE POUR LA MISE EN ŒUVRE D'UN CONTRÔLE DE QUALITE | 7 |
| 8.1 | Les différents types d'analyses..... | 7 |
| 8.2 | Les différents types de contrôle de qualité - Définitions | 7 |
| 8.3 | Choix préalable à la mise en place d'un contrôle de la qualité analytique | 8 |
| 9 | CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE | 9 |
| 9.1 | Objectifs du contrôle de Qualité | 9 |
| 9.2 | Organisation d'un contrôle de Qualité | 10 |
| 9.3 | Mise en œuvre du Contrôle de Qualité..... | 12 |
| 9.4 | Programme de Contrôle Qualité interlaboratoire..... | 12 |
| 9.5 | Contrôle de Qualité et incertitudes de mesure | 13 |
| 9.6 | Exemples méthodologiques | 13 |
| 10 | CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE..... | 23 |
| 10.1 | Objectifs du contrôle de Qualité | 23 |
| 10.2 | Organisation d'un contrôle de Qualité | 23 |
| 10.3 | Exemples méthodologiques | 23 |
| 11 | CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF)..... | 31 |
| 11.1 | Objectifs du contrôle de Qualité | 31 |
| 11.2 | Organisation d'un contrôle de Qualité | 31 |
| 11.3 | Exemples méthodologiques | 31 |
| 12 | MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE | 39 |
| 13 | ANNEXE I – TABLEAUX DES SPECIFICATIONS POUR LES PRINCIPALES ANALYSES..... | 40 |
| 13.1 | Tableaux pour les principaux analytes de Biochimie (Vassault <i>et al.</i> , SFBC) | 40 |
| 13.2 | Tableaux pour les principaux analytes de Biologie Médicale (Ricos <i>et al.</i>) | 40 |
| 13.3 | Tableaux pour les principales analyses de Biologie Médicale (CLIA) | 40 |
| 14 | ANNEXE II - DEFINITIONS | 41 |
| 15 | ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE | 42 |
| 15.1 | Références réglementaires | 42 |
| 15.2 | Références normatives générales..... | 42 |
| 15.3 | Documentation Cofrac - EA..... | 43 |
| 15.4 | Contrôle de qualité | 43 |
| 15.5 | Contrôle de qualité en Biologie Médicale | 43 |
| 15.6 | Sites Internet | 45 |

1 OBJET DU DOCUMENT

La norme NF EN ISO/CEI 17025 définit les prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages, d'essais et d'analyses; la norme NF EN ISO 15189 définit quant à elle les exigences particulières concernant la qualité et la compétence, pour les laboratoires d'analyses de biologie médicale.

Le présent guide technique définit les recommandations résultant de l'application de ces deux normes, NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 15189, aux domaines de compétences recensées au chapitre 3.

Ces recommandations, que le laboratoire est libre d'appliquer, sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le Cofrac pour répondre aux prescriptions et exigences des normes NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 15189. Dans tous les cas, le laboratoire devra démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire pleinement la norme.

Ce guide s'adresse :

- aux Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) engagés dans une démarche d'accréditation Cofrac selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189 ; dans ce cas il représente des recommandations fortes, toute autre démarche argumentée et documentée étant cependant acceptable ;
- aux auditeurs du Cofrac, et constitue une base d'harmonisation à leur usage ;
- aux fournisseurs pour comprendre et aider les biologistes dans leur démarche.
- de façon plus générale à tout biologiste (quelle que soit sa spécialité) soucieux d'avoir une référence en contrôle de qualité.

Ce guide a pour but d'explicitier les aspects du contrôle de la qualité analytique en Biologie Médicale. Il constitue un guide pratique d'aide à la mise en place des contrôles de la qualité analytique en Biologie Médicale. Ce contrôle de la qualité analytique s'inscrit alors dans une vérification continue des performances lors de l'utilisation (routine) dans le laboratoire du couple équipements-réactifs, afin d'apporter au biologiste confirmation et preuve permanentes de la validité des résultats rendus, par rapports à ses propres besoins et ceux de ses clients. Ce contrôle de qualité est à prendre en termes de maîtrise du processus analytique, au niveau continu.

Le contrôle de qualité constitue la validation continue du processus analytique et fait suite à la validation initiale de la méthode (cf. document Cofrac "Guide de validation des méthodes en Biologie Médicale", LAB GTA 04)

Le contrôle de qualité analytique devra s'envisager en fonction des différents contextes auxquels sera confronté le biologiste, ainsi que des différentes spécialités de la Biologie Médicale. Si "la validation est toujours un équilibre entre les coûts, les risques et les possibilités techniques" (extrait de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.3 note 3), et le temps, il en est de même pour le contrôle (permanent) de la qualité analytique.

Au préalable, le biologiste devra lire attentivement les dossiers des fournisseurs (notices, fiches techniques, références bibliographiques, ...). Il devra évaluer et apprécier ces informations à la lueur de recommandations ou de textes réglementaires, des critères de performance énoncés par les sociétés savantes, des attentes du prescripteur,... Ce travail d'expertise est la base du métier de biologiste.

Sa mise en œuvre devra être simple, assurer une sécurité nécessaire et suffisante à un coût raisonnable, être rapide dans la détection des anomalies, sans alertes inutiles.

2 DEFINITIONS

Les définitions des termes utilisés dans le présent document se trouvent au chapitre 14, en annexe II, "DEFINITIONS".

Les références sur lesquelles s'appuie ce guide se trouvent listées au chapitre 15, en annexe III, "BIBLIOGRAPHIE".

3 DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique des contrôles de la qualité analytique en Biologie Médicale, tel que précisé au chapitre 1 – Objet du document, et ci-après dans le chapitre 7, Etat des lieux – Contexte réglementaire et normatif. En particulier, le présent guide traite uniquement du contrôle de qualité de la phase analytique, en excluant la phase pré-analytique, bien qu'importantes, ce qui ne signifie pas que les laboratoires ne doivent pas s'y attacher en prenant des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation.

Ce guide est applicable aux laboratoires d'analyses de Biologie Médicale accrédités ou candidats à l'accréditation dans le domaine de la Biologie Médicale, selon les normes NF EN ISO/CEI 17025 et/ou NF EN ISO 15189.

Des laboratoires d'autres domaines analytiques peuvent l'utiliser (ex. œnologie, analyses physico-chimiques des eaux, ...), dans la mesure où leurs problématiques en termes de contrôle de la qualité analytique sont semblables à celles recensées ci-après et y correspondent, pour répondre à leurs besoins.

4 MODALITES D'APPLICATION

Ce guide est applicable à compter du 01/07/05.

Dans le domaine considéré 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 contrôle de la qualité analytique.

5 SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS

Il s'agit de la première version du document; aucune marque de modification n'est donc indiquée.

6 MODALITÉ DE REEXAMEN

Les dispositions du présent document seront amenées à être modifiées ou complétées, pour tenir compte de l'évolution des pratiques, notamment techniques et de "l'état de l'art". A ce titre, ce document est revu au moins tous les 3 ans et révisé si nécessaire par la Section Laboratoires.

7 ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF

1. Cette exigence de mise en place de contrôles de la qualité analytique au sein d'un Laboratoire d'analyses de Biologie Médicale figure dans le Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale (GBEA, Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicales) avec au chapitre V-2 "L'EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE (E.E.Q.)", qui rappelle l'obligation de se soumettre au "[...] CONTROLE DE QUALITE NATIONAL" (§ V-2.1) et la recommandation à la participation volontaire aux "Autres contrôles externes de qualité" (§V-2.2; CQE), mais surtout au chapitre V-3 "CONTROLE DE QUALITE INTERNE", qui indique: "Le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste. Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notamment l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. Les procédures opératoires doivent préciser la fréquence de passage des échantillons de contrôle et les valeurs acceptables pour chaque constituant. Elles doivent également comporter les instructions concernant les mesures à prendre en cas d'anomalies constatées."

Il est rappelé que les échantillons de contrôle ne peuvent en aucun cas se substituer aux échantillons de calibrage des mesures et, inversement, les échantillons de calibrage ne peuvent être utilisés en même temps comme échantillon de contrôle.

La notion de contrôle de qualité est largement reprise dans l'arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, dans le chapitre C, "CAS PARTICULIER DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN IMMUNO-HEMATOLOGIE ERYTHROCYTAIRE", notamment au § II. 1.2.2 "Les contrôles qualité internes", avec entre autres "En ce qui concerne la détermination ABO, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons)" ou encore dans le paragraphe dédié § III "Contrôle de qualité interne (CIQ)", où il est demandé que "Le biologiste devra organiser un contrôle de qualité interne conformément au guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) et qui repose notamment sur l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. Les résultats relatifs à ces échantillons de contrôle doivent être connus et garantis. La mise en oeuvre de ces contrôles est, au minimum, quotidienne."

2. La mise en place de tels contrôles est une exigence de la norme NF EN ISO/CEI 17025, dans son paragraphe 5.9 indiquant qu'il convient d'"Assurer la qualité des résultats d'essais [...]", en formulant que "Le laboratoire doit disposer de procédures de maîtrise de la qualité pour surveiller la validité des essais et des étalonnages entrepris. Les données résultantes doivent être enregistrées de telle sorte que les tendances sont détectables et, lorsque cela est faisable, des techniques statistiques doivent être appliquées à l'examen des résultats. Cette surveillance doit être planifiée et revue [...]."

3. Dans la nouvelle norme NF EN ISO 15189, le contrôle de qualité interne et externe est retrouvé au niveau du § 5.6 "Assurer la qualité des procédures analytiques", avec indication § 5.6.1, que "Le laboratoire doit concevoir des systèmes de contrôle interne de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue. Il est important que ce système de maîtrise permette aux membres du personnel d'obtenir des informations claires et faciles à comprendre sur lesquelles baser leurs décisions techniques et médicales. Il convient de veiller particulièrement à éliminer les erreurs susceptibles de se produire dans

le processus de traitement des échantillons, des prescriptions, des analyses, des comptes rendus, etc". Le contrôle de qualité externe (CQE) est abordé au § 5.6.4) avec "Le laboratoire doit participer à des comparaisons interlaboratoires, telles que celles organisées dans le cadre de programmes d'évaluation externe de la qualité. La direction du laboratoire doit surveiller les résultats de l'évaluation externe de la qualité et participer à la mise en œuvre des actions correctives lorsque les critères de maîtrise ne sont pas respectés."

Outre la compétence du biologiste et la validation des techniques (cf. guide LAB GTA 04), l'utilisation et la correcte gestion des contrôles de Qualité (CIQ, CEQ) permettent d'assurer la qualité de la prestation d'analyse et la fiabilité du résultat. Après la validation des méthodes, la gestion du contrôle de qualité sera mise à profit pour estimer les incertitudes des résultats d'analyse, notion présente dans le GBEA, § 4. "Expression des résultats et comptes rendus d'analyses", § 4.1. "Expression des résultats" : "L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige. Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent."

Cette estimation de l'incertitude de mesure se retrouve dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 au § 5.4.6 "Estimation de l'incertitude de mesure", avec au § 5.4.6.2 "Les laboratoires d'essais doivent aussi posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure. Dans certains cas, la nature de la méthode d'essai exclut un calcul rigoureux, métrologiquement et statistiquement valable, de l'incertitude de mesure. Dans de tels cas, le laboratoire doit au moins tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et faire une estimation raisonnable, tout en assurant que la manière d'en rendre compte ne donne pas une impression erronée de l'incertitude. Une estimation raisonnable doit se baser sur une connaissance de la performance de la méthode et sur le domaine de la mesure et faire appel, par exemple, à l'expérience acquise et aux données de validation antérieures."

Cette approche des incertitudes de mesure sur les résultats est aussi une exigence de la nouvelle norme NF EN ISO 15189. Dans le paragraphe traitant de la validation, § 5.5.3, son point q) indique "les sources potentielles de variation des résultats." En outre, dans le § 5.6.2, il est indiqué : "Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans le cas où cela est pertinent et possible. Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure l'échantillonnage, la préparation des échantillons, la sélection des aliquotes d'échantillon, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée, l'équipement utilisé, les conditions expérimentales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateurs."

8 INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE POUR LA MISE EN ŒUVRE D'UN CONTRÔLE DE QUALITE

8.1 Les différents types d'analyses

Schématiquement, on distinguera trois types de méthodes d'analyse que l'on sera amené à traiter différemment :

1. Les analyses de type quantitatif vrai :

Elles fournissent un résultat chiffré, sur une échelle continue dont les limites basses et hautes sont connues, en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte à mesurer.

2. Les analyses de type qualitatif :

Le résultat de ce type d'analyse n'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte, mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif), ou éventuellement sur une présence ou une activité supérieure à celle d'un témoin donné (cas des titrages). On peut classer dans cette catégorie toutes les analyses dont le résultat est obtenu par la lecture de la réaction par un observateur, par comparaison avec des témoins positif, négatif, ou de titre donné, et donc avec une part de subjectivité.

3. Les analyses assimilables à des analyses de type quantitatif :

Dans ce cadre seront regroupées des analyses fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (Densité Optique par exemple) avec un effet de seuil (analyses réalisées en technique EIA ou RIA par exemple).

Remarques :

- Les analyses de Biochimie, d'hormonologie, de numération globulaire, et d'hémostase courante sont des analyses de type quantitatif vrai, ainsi qu'en immunologie par exemple le dosage pondéral des immunoglobulines, des IgE totales, des fractions du complément, ou du dosage d'anticorps (Ac anti-HBs, etc.).
- Certaines analyses de sérologies virales (hépatites, HIV et HTLV, CMV, etc.), parasitaires et mycologiques (toxoplasmose, etc.) ou de Bactériologie (antibiogramme et CMI) sont des analyses, à résultat qualitatif, assimilables à des analyses de type quantitatif.
- Les analyses faisant appel à des principes d'Immuno-chromatographie (sérologies rapides unitaires par exemple), de Blot et assimilés (Western-Blot, RIBA, etc.), d'agglutination de latex, de particules sensibilisées ou d'hématies (VDRL, TPHA, Facteur rhumatoïde, groupage sanguin et RAI, etc.), d'Immunoélectrophorèse, ou d'Immunofluorescence (recherche d'anticorps et d'antigène, recherche de bactéries, identifications, mycobactéries, etc.) sont typiquement des analyses de type qualitatif.

8.2 Les différents types de contrôle de qualité - Définitions

Contrôle interne de qualité (évaluation interne de la qualité), CIQ, appelé couramment à tort CQI : Procédure réalisée au sein du laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction de limites

de tolérance préétablies. Les matériaux de contrôle interne de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

Contrôle externe de qualité (évaluation externe de la qualité), CEQ (appelé souvent à tort CQE) ou EEQ : Procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais d'une comparaison interlaboratoire réalisée par une tierce organisation. Les matériaux de contrôle externe de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

Contrôle de trousse (matériau de CQ) : Matériau de contrôle interne de qualité mis au point et fabriqué pour l'évaluation spécifique d'une trousse d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro* et généralement fourni avec elle.

Contrôle indépendant (matériau de CQ) : Matériau de contrôle interne de qualité mis au point et fabriqué indépendamment de toute trousse spécifique d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro* et fourni isolément.

8.3 Choix préalable à la mise en place d'un contrôle de la qualité analytique

Il est fondamental de souligner que le laboratoire doit avoir une politique et une stratégie définies en termes de contrôle de qualité (nature des échantillons, périodicité, effectifs du groupe de pairs, maîtrise statistique des procédés, ...).

- Le choix des indicateurs de performances et limites d'acceptabilité associés d'une méthode doit se faire préalablement à la mise en place du contrôle de qualité analytique,
- Ce choix est du ressort du biologiste,
- Ce choix doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. Il peut s'appuyer sur des recommandations de la Haute Autorité de santé, de sociétés savantes ou de groupes de travail, ou issues de conférences de consensus, sur les recommandations des fournisseurs, sur des publications scientifiques, ses propres valeurs limites recalculées et utilisées pour la gestion du CIQ, sur des résultats de campagnes d'intercomparaison, etc,
- Les limites d'acceptabilités ainsi choisies doivent être adaptées et notifiées pour chacun des niveaux et pour chacun des analytes qui seront contrôlés,
- Les recommandations de l'AFSSAPS en matière de réactifs de laboratoires doivent être respectées.

Note : les recommandations du fournisseur sont à prendre en tant que recommandations *a minima*. Il est rappelé que cela relève de la responsabilité du biologiste.

9 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE

9.1 Objectifs du contrôle de Qualité

9.1.1 Le contrôle interne de qualité

Il peut utiliser des échantillons

- Titrés ou non titrés,
- Commerciaux ou de fabrication *in situ* ("pools"), à défaut ou en supplément.

1^{er} objectif : contrôle de la calibration

Toute analyse quantitative ou assimilée, réalisée sur un équipement d'analyse doit être régulièrement calibrée. La calibration ne peut être validée que par le passage des CIQ. Les analyses ne peuvent être réalisées qu'après cette validation.

2^{ème} objectif : contrôle continu de reproductibilité et de justesse

A intervalle défini (temps, nombre d'échantillons), les CIQ doivent être analysés pour vérifier que la technique est toujours :

- reproductible : régulièrement le coefficient de variation, $CV = s/m$, est calculé et il est comparé aux spécifications préalablement établies, qui doivent tenir compte de la pertinence clinique du paramètre,
- juste : la moyenne observée pour un CIQ donné est comparée à sa valeur théorique donnée par le fabricant ou estimée par l'utilisateur au cours d'une période probatoire.

L'estimation de ces 2 paramètres repose sur des outils statistiques, tels que les règles de Westgard par exemple (Westgard *et al.*, 1981).

Pour cet objectif, il est concevable d'utiliser des contrôles titrés ou non (commerciaux ou fabriqués *in situ*) à condition que la taille des lots soit suffisante, et la stabilité connue et maîtrisée.

Du point de vue pratique, la mise en œuvre du CIQ vise à

- Valider les résultats en temps réel,
- Détecter les erreurs et les corriger immédiatement,
- Prévenir les erreurs par l'observation d'un certain nombre de paramètres (dérives, ...).

3^{ème} objectif : confrontation interlaboratoires

Les valeurs observées par chaque utilisateur d'un CIQ donné sont centralisées par un organisme qui les confronte avec celles des autres utilisateurs ("pairs").

Cette confrontation externe du CIQ est une évaluation externe de la qualité (EEQ). Pour autant, il ne faut pas perdre de vue que l'utilisateur connaît les valeurs théoriques des CIQ qu'il utilise et qu'il est susceptible, volontairement ou involontairement, de corriger les valeurs qu'il transmet à l'organisme centralisateur (par exemple en effaçant les valeurs erronées, puis corrigées par un nouveau passage de contrôle).

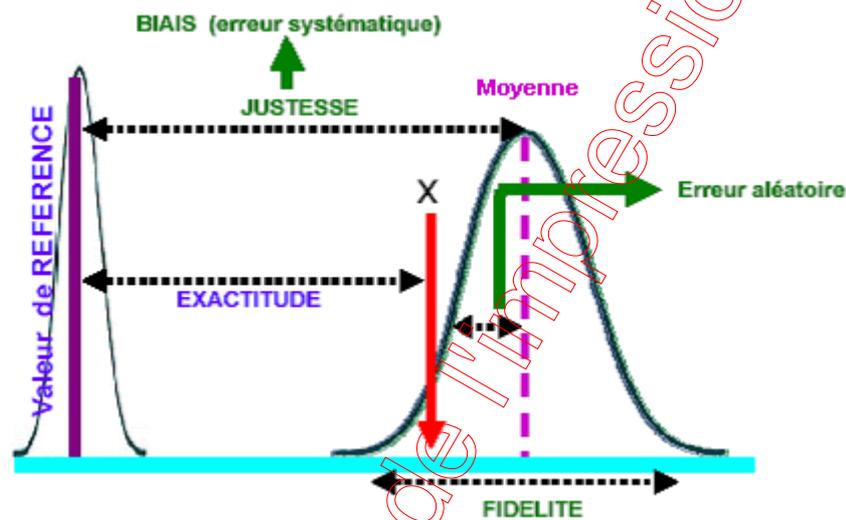
Pour que cette confrontation ait toute sa valeur, l'utilisateur doit transmettre ses données brutes sans les modifier.

9.1.2 L'évaluation externe de la qualité (EEQ)

Par principe, la valeur du matériau de ce contrôle externe de qualité est inconnue de l'utilisateur dans le cadre d'un contrôle ponctuel. Il sert à contrôler *a posteriori* la justesse d'une méthode par rapport à un système de comparaison. Son inconvénient est parfois le délai de retour des résultats. Son avantage est sa garantie d'objectivité : son résultat ne peut pas être influencé par l'utilisateur.

9.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

9.2.1. Exigences et indicateurs de performance



X = un résultat de mesure.

Figure 1 : Performances évaluables

Ces exigences peuvent être exprimées :

- En terme d'erreur totale admissible (ET_a) : cette limite résulte de la combinaison de l'erreur aléatoire et de l'erreur systématique, selon la formule, d'après Fraser,

$$ET_a = (\text{écart - type ET} \times z) + |\text{biais}|$$

Avec $z = 1,63$, pour un risque de 5%, ou $2,33$ pour un risque de 1%, dans le cas d'une déviation unilatérale et le cadre d'une distribution normale.

- En terme d'incertitude de mesure,
- En fonction de la pertinence clinique, notamment au niveau des seuils décisionnels,
- En fonctions des variations biologiques qui fournissent des bases d'évaluation de la fidélité et de l'exactitude.

Détermination des indicateurs de performance :

Les performances types à évaluer pour établir des procédures de CQ efficaces sont le biais (erreur systématique) et l'erreur aléatoire.

Evaluation de la fidélité :
Evaluation de la justesse :
Evaluation de l'exactitude :

En pratique, les indicateurs à évaluer sont :

o Fidélité :

Par évaluation du CV de répétabilité,
Par évaluation de la fidélité intermédiaire de la méthode (intra-laboratoire), souvent appelée "reproductibilité" (CV du CIQ): mesures répétées sur un échantillon de contrôle stable, 20 mesures différentes sur 20 jours au moins,
Par évaluation de la reproductibilité de la méthode (inter-laboratoire; CV du groupe de pairs par exemple).

o Justesse :

Par comparaison de la moyenne obtenue avec celle d'un groupe de pairs ou de l'ensemble des résultats (CEQ ou confrontation externe du CIQ), en calculant le biais, selon,

$$\text{Biais} = \text{moyenne du laboratoire} - \text{moyenne du groupe de comparaison}$$

Par comparaison de la moyenne obtenue pour des échantillons de patients avec celle d'une autre méthode ou d'une technique de référence,
Par comparaisons de la moyenne obtenue avec les valeurs de référence certifiées,
Par comparaison de la moyenne obtenue avec les valeurs du fournisseur,
Par comparaison des moyennes obtenues sur les valeurs de patients par deux techniques différentes.

o Exactitude : mesure isolée sur un échantillon stable et de valeur connue, puis :

Comparaisons avec les valeurs de référence certifiées,
Comparaison avec les valeurs du fournisseur,
Comparaison avec le groupe de pairs,
Comparaison sur les valeurs de patients obtenus par deux techniques différentes,
Comparaison des valeurs obtenues pour des échantillons de patients avec celles obtenus par une technique de référence.

9.2.2. Matériaux de contrôle

- Utilisation : l'échantillon de contrôle doit être utilisé pour chaque analyte et pour chaque série de longueur préétablie.
- Caractéristiques : l'échantillon de contrôle doit être adapté aux objectifs attendus. Le laboratoire devra en particulier étudier les points suivants :
 - Composition similaire ou identique à la matrice de l'échantillon patient : les matériaux de contrôle d'origine humaine sont recommandés (à défaut des matériaux d'origine animale peuvent être utilisés),
 - Homogénéité et stabilité (supérieure à un an, si possible), échantillon liquide prêt à l'emploi de préférence, à échantillon lyophilisé,
 - Si l'échantillon commercial adapté n'existe pas, le laboratoire peut préparer ses propres échantillons de contrôle.

- Relation avec les échantillons de calibration : les échantillons de calibration ne peuvent pas être utilisés comme échantillons de contrôle.
- Concentrations des analytes : le nombre et le niveau de concentration des échantillons doit être adapté aux valeurs d'intérêt clinique :
 - Niveaux de décision clinique : pour la plupart des analytes **un minimum de deux niveaux de concentration est recommandé**,
 - Etendue de mesure/linéarité : Cette donnée devra être maîtrisée par le biologiste car elle induit des conduites à tenir pour les critères de repassage et les critères de dilution.

9.2.3. Définition de la périodicité

La périodicité sera fonction de :

- La fréquence de calibration,
- De la maintenance,
- De la longueur des séries,
- De la durée d'utilisation de l'équipement,
- Des autres moyens de surveillance et de contrôle,
- Des recommandations des fournisseurs,
- De la catégorie des équipements ("random access", ...).

NOTE : En cas de résultats incorrects, l'ensemble des analyses depuis le précédent contrôle devra faire l'objet d'une évaluation pouvant conduire à une nouvelle analyse (après d'éventuelles mesures correctives et un contrôle valide).

9.3 Mise en œuvre du Contrôle de Qualité

La position des échantillons de contrôle dépend du nombre d'échantillons analysés, de la technique. Le passage pourra être effectué de façon aléatoire dans la série de patients, ou alors se faire en début et/ou en fin de série.

Le laboratoire se doit d'élaborer une conduite à tenir pour les contrôles hors-limites (déviants, rejets, ...) :

- Analyse et élimination de la cause,
- Signification clinique des erreurs analytiques,
- Vérification des résultats patients,
- ...

9.4 Programme de Contrôle Qualité interlaboratoire

Pour l'évaluation externe de la qualité, la participation au contrôle national de qualité (CNQ) est obligatoire. Les résultats obtenus ainsi que les commentaires et les éventuelles mesures correctives doivent être "tracés". La fréquence insuffisante et les délais d'exploitation justifient impérativement que ces contrôles de l'AFSSAPS soient complétés par la participation à d'autres essais interlaboratoires organisés par des industriels ou par des associations de contrôle de qualité (ASCOSUD, ASQUALAB, CTCB, PROBIOQUAL, ...). L'utilisation de deux niveaux de contrôle permet d'établir des diagrammes de Youden dont l'interprétation permet d'appréhender la part des erreurs de reproductibilité ou des erreurs de justesse (Youden, 1959, 1960).

Le positionnement obtenu dans le cadre de ces opérations doit être "revu" par le personnel technique et biologique du laboratoire. Ces revues doivent permettre de décider des

mesures correctives si nécessaires ou des commentaires (analyses documentaires) à apporter en cas d'anomalies. Il ne faut pas hésiter si besoin à demander d'éventuelles explications complémentaires à l'AFSSAPS ainsi que des échantillons de contrôle supplémentaires pour d'éventuelles vérifications.

Cette interprétation doit tenir compte des résultats toutes techniques confondues (effectif, moyenne, CV%) avant et après troncature (nombre de résultats éliminés des calculs), des effectifs de chaque technique, des résultats éliminés pour chaque technique, des résultats obtenus par une technique, comparer ces différents résultats entre eux, ...

9.5 Contrôle de Qualité et incertitudes de mesure

Devant une certaine difficulté rencontrée à déterminer les incertitudes de mesure des résultats analytiques sur la base du GUM, le contrôle de qualité offre une alternative selon l'approche ISO 5725.

En effet, les données obtenues par le contrôle de qualité aussi bien interne notamment sur la fidélité intermédiaire (CV de reproductibilité intralaboratoire) qu'externe, biais (justesse) et incertitude sur la justesse, participent en combinant ces paramètres à l'estimation des incertitudes de mesure des résultats analytiques. Le traitement de ce point spécifique des incertitudes de mesure fera l'objet d'un guide à part entière.

9.6 Exemples méthodologiques

9.6.1. Contrôle de Qualité en Biochimie

9.6.1.1. Introduction

Ce paragraphe décrit des principes méthodologiques ou des recommandations permettant la mise en place et le suivi d'un contrôle interne de qualité. Il évoque tout d'abord des méthodes possibles permettant de maintenir le procédé analytique dans des conditions stables puis des méthodes permettant la fixation d'objectifs analytiques au programme de contrôle de qualité et enfin un aperçu de méthodes envisageables pour juger de l'évolution des performances analytiques et permettre la comparaison de celles-ci entre différents systèmes.

9.6.1.2 La maîtrise statistique du procédé analytique

L'objectif consiste ici à maîtriser la variabilité naturelle du procédé analytique en le maintenant "sous-contrôle" tout en étant capable de détecter, voire d'anticiper des épisodes "hors-contrôle" à l'aide d'outils et de critères de décision statistiques.

Ces techniques utilisent le calcul de la moyenne (\bar{x}) et de l'écart-type (ET) suivis sur des cartes de contrôle de type Levey-Jennings (Levey et Jennings, 1950). Des limites d'acceptation de variabilité du procédé analytique pourront être fixées à ± 3 écart-types pour le déclarer "hors-contrôle" (rejet de la série de résultats) et à ± 2 écart-types pour alerter l'utilisateur sur la dégradation du procédé.

Calcul de la moyenne,

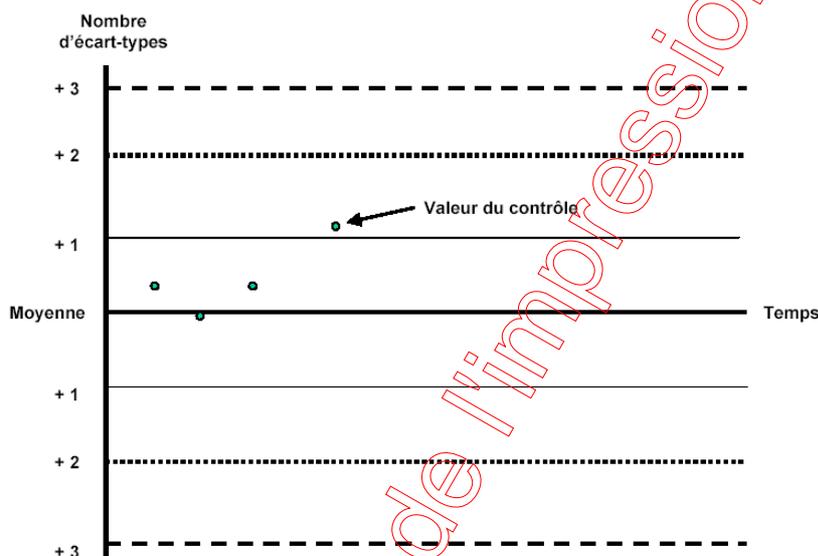
$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

\bar{x}_i valeurs du contrôle de qualité
 n nombre de valeurs de contrôle de qualité

Calcul de l'écart-type

$$ET = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Exemple de diagramme de Levey-Jennings,



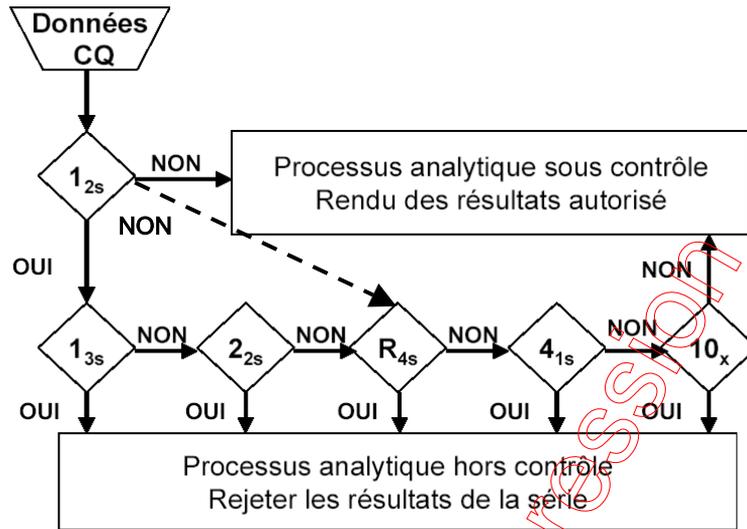
Remarque : sur cette carte les "limites fournisseurs" devront figurer ou être rappelées, surtout si ces limites fabricant se situent dans la zone ± 3 écart-types.

Ce suivi peut être rendu nettement plus efficace et pertinent en utilisant des règles de contrôle permettant d'identifier et d'anticiper des variations aléatoires ou systématiques : c'est le cas des règles de Westgard qui peuvent être utilisées en association sous forme de multi-règles.

Exemple de règles de Westgard (Westgard *et al.*, 1981) :

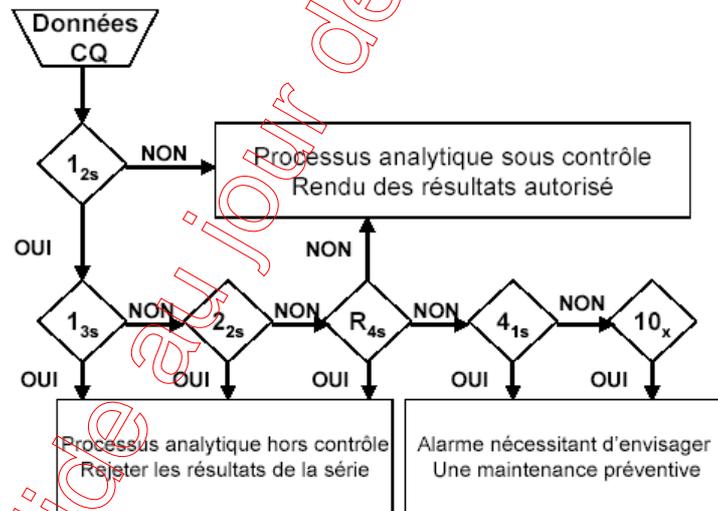
- 1_{2s} 1 valeur éloignée de plus de 2 écart-types de la moyenne,
- 1_{3s} 1 valeur éloignée de plus de 3 écart-types de la moyenne,
- 2_{2s} 2 valeurs consécutives éloignées de plus de 2 écart-types du même côté de la moyenne,
- R_{4s} 2 valeurs consécutives éloignées l'une de l'autre de plus de 4 écart-types,
- 4_{1s} 4 valeurs consécutives éloignées de plus de 1 écart-types du même côté de la moyenne,
- 10_x 10 valeurs consécutives situées du même côté de la moyenne.

Exemple d'association sous forme de multi-règles proposée par Westgard :



Remarque: si la réponse est "non" pour la règle 1_{2s} , il ne faut cependant pas accepter le processus analytique, sans avoir vérifié les règles R_{4s} , 4_{1s} et 10_x (--->).

Exemple d'alternative proposée par Westgard :



Les paramètres de maîtrise de ce contrôle interne de qualité ainsi que le nombre de contrôles pourront être choisis en fonction de critères clairement établis prenant en compte les performances de la méthode, les limites acceptables de variabilité de ses performances (fidélité, biais ou erreur totale), mais également des paramètres tels que la Période Opérationnelle Moyenne (nombre moyen de contrôles à utiliser pour détecter une situation "hors-limite"), la probabilité de détection d'erreur (P_{de}) souhaitée en fonction du taux de faux rejets (P_{fr}) acceptable.

La probabilité de détection d'une erreur (P_{de}) décrit la probabilité d'avoir un signal de rejet quand il y a un changement dans la fidélité ou la justesse d'une méthode analytique. Un P_{de}

élevé, autour de 1,00 traduit la possibilité d'avoir 100% de chance de détecter une erreur analytique médicalement importante. Cette valeur sera souvent choisie à 0,90.

La probabilité d'un faux rejet (P_{fr}) décrit la probabilité d'avoir un signal de rejet quant il n'y a pas de changement de niveau de performance, en dehors de la variabilité commune de la méthode. P_{fr} devrait être bas, proche de 0,00 pour avoir 0,0% de chance d'avoir un faux rejet. La justification de son choix est essentiellement d'ordre économique.

Ces choix peuvent être réalisés par l'interprétation des courbes d'efficacité des cartes de contrôle qui donnent la probabilité de détection en fonction d'un niveau de variabilité (infidélité, biais, erreur totale) donné et des diagrammes de spécifications opérationnelles qui montrent la relation entre le programme de contrôle de qualité et les niveaux de performances d'une méthode (selon Westgard et Groth, Westgard 1992).

Les résultats (moyenne et écart-type) du contrôle interne de qualité du laboratoire pourront être efficacement évalués, dans le cadre d'une comparaison interlaboratoire des estimations de la fidélité et de la justesse par rapport à un groupe.

La justesse peut être évaluée en calculant un "z-score" qui exprime le nombre d'écart-type qui sépare le résultat du laboratoire de celui de la moyenne du groupe de comparaison (ISO/FDIS 13528). Appelé parfois SDI pour "Standard Deviation Index" en Hématologie, il peut être exprimé sous forme d'indice d'écart-type (IET) :

$$IET = \frac{(\bar{x}_{labo} - \bar{x}_{groupe\ de\ comparaison})}{ET_{groupe\ de\ comparaison}}$$

Une valeur proche de zéro traduira une absence de biais par rapport au groupe; plus la valeur absolue de cet indicateur sera élevée plus elle traduira un problème potentiel de justesse.

Remarque : cet index peut s'avérer insuffisant lorsque l'écart-type du groupe de comparaison est trop élevé. Il est alors pertinent de faire le calcul par rapport à un écart-type acceptable ($ET_{acceptable}$) prédéfini par la bibliographie, sous la forme d'un index de limite acceptable (ILA),

$$ILA = \frac{(\bar{x}_{labo} - \bar{x}_{groupe\ de\ comparaison})}{ET_{acceptable}}$$

La fidélité peut être évaluée en calculant le rapport du CV du laboratoire avec le CV du groupe de comparaison sous forme de Ratio de Coefficient de Variation (RCV), autrement appelé parfois CVI pour "Coefficient of Variation Index" en Hématologie, :

$$RCV = \frac{CV_{labo}}{CV_{groupe\ de\ comparaison}}$$

Une valeur proche de 1,0 traduira une performance équivalente au groupe de comparaison, une valeur inférieure à 1,0 une performance meilleure, et une valeur supérieure à 1,0, une performance dégradée.

Remarque : ce ratio peut lui aussi s'avérer insuffisant lorsque le CV du groupe de comparaison est trop élevé. Il est alors pertinent de faire le calcul par rapport à un CV acceptable ($CV_{acceptable}$) prédéfini par le laboratoire à partir de la bibliographie, sous la forme d'un ratio de limite acceptable (RLA),

$$RLA = \frac{CV_{\text{labo}}}{CV_{\text{acceptable}}}$$

9.6.1.3 L'utilisation d'objectifs analytiques

L'interprétation statistique des résultats de contrôle interne de qualité peut être complétée et optimisée par la fixation d'objectifs analytiques aux performances des méthodes utilisées. Ces objectifs analytiques peuvent être établis en fonction de la variabilité biologique de l'analyte (variations biologiques) ou en fonction des performances techniquement atteignables par les méthodes disponibles sur le marché (état de l'art).

9.6.1.3.1. Objectifs analytiques établis à partir des variations biologiques du paramètre

Les objectifs analytiques concernant le biais (B%), l'imprécision (I%) et l'erreur totale (TE%) sont établis en fonction des variations biologiques intra-individuelles (CV_w) et inter-individuelles (CV_g) du paramètre considéré.

Selon Ricos *et al.*, 3 niveaux de performances peuvent être établis : souhaitable, optimal et minimal. La base de données utilisée par Ricos *et al.* couvre 316 analytes déterminés dans le sérum, le plasma, l'urine, le LCR et le sang (Biochimie, Hématologie, Hémostase, Hormonologie, Marqueurs tumoraux...), cf. annexe 1 (§ 13).

Note : dans l'article original de ces auteurs, il est fait état du CV_b . Celui-ci est repris dans les tableaux de Westgard sous l'appellation CV_g .

Les limites acceptables sont ainsi calculées :

| Performance | Limite optimale | Limite souhaitable | Limite minimale |
|---------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Imprécision | $I < 0,25 CV_w$ | $I < 0,5 CV_w$ | $I < 0,75 CV_w$ |
| Biais | $B < 0,125 (CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$ | $B < 0,25 (CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$ | $B < 0,375 (CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$ |
| Erreur Totale | $TE < 1,65I + B \quad (p < 0,05)$ | $TE < 1,65I + B \quad (p < 0,05)$ | $TE < 1,65I + B \quad (p < 0,05)$ |

Remarque : le terme imprécision, "I", repris de l'article, désigne l'estimation de la fidélité.

9.6.1.3.2. Objectifs analytiques établis à partir de l'état de l'art de la méthode

Dans ce cas les objectifs analytiques sont déterminés à partir des performances obtenues dans les laboratoires à l'aide des méthodes présentes sur le marché. La base de données de Vassault *et al.* couvre 116 analytes (Biochimie, Immunochimie, Gaz du sang, Médicaments et toxiques, Marqueurs, Hormonologie).

Selon Vassault *et al.* les limites acceptables sont ainsi calculées :

Pour l'estimation de la fidélité : Reproductibilité = Répétabilité * 1,33

Pour l'estimation de l'erreur totale : $TE\% = 2 * \sqrt{\text{Justesse}^2 + \text{reproductibilité}^2}$

Ces limites correspondant à l'état de l'art peuvent également être obtenues à partir de programmes de comparaisons interlaboratoires de données de contrôle interne de qualité.

Certains auteurs Piero Bonvicini *et al.* ont proposé une approche mixte : variations biologiques et état de l'art.

9.6.1.4. Evaluation de la performance d'une méthode par le calcul de Sigma (selon Westgard, 2001)

L'approche "Six Sigma" peut être envisagée par le Biologiste comme un moyen d'optimiser l'efficacité de ses processus : il s'agit d'une approche globale d'amélioration de la qualité. La capabilité d'un système d'analyse est la mesure établissant le rapport entre sa performance réelle et la performance demandée. Dans l'approche "Six Sigma" l'indicateur de capabilité représente la différence entre la performance demandée (l'erreur totale admissible TE_a) et la moyenne exprimée en nombre d'écart-type. D'où la formule :

$$\text{Sigma} = \frac{(\text{TE}_a - \text{biais})}{\text{ET}}$$

Dans l'approche "Six Sigma", une valeur calculée supérieure à 6,0 est considéré comme l'objectif ultime ; une méthode avec un sigma supérieur à 3,0 comme un niveau minimal de performance.

Le choix de la valeur de l'erreur totale permise à partir de publications ou de tables disponibles d'origines diverses devra être documenté et justifié, car il influence très largement le résultat du calcul de l'indice et représente la seule variable de l'équation cf. annexe I, §13).

Note: l'erreur totale admissible TE_a est celle donnée par le CLIA et ne correspond pas toujours à celle donnée par d'autres références (TE). TE_a doit être distinguer de TE. Exemple, pour le cholestérol :

Pour le CLIA : TE_a = 10 %

Pour Ricos *et al.*, en limite souhaitable : TE % = 9 % (p<0,05) et = 11,1% (p<0,01)

La valeur du sigma permet l'optimisation du choix des règles de Westgard à appliquer et du nombre de contrôles à passer. Cet indice représente également un référentiel efficace pour comparer le niveau de performances de différentes méthodes entre elles.

9.6.1.5 Exemple d'objectifs analytiques en Biochimie pour l'acide urique et le calcium

Selon Ricos *et al.*, les différentes valeurs proposées, pour un risque à 5%, pour l'acide urique et le calcium sont reportées dans les tableaux ci-dessous,

| Spécifications pour l'erreur totale, la fidélité et la justesse calculées à partir des variations biologiques selon RICOS <i>et al.</i> | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------|----------------------|------|--------------------|------------|-------------|-----------------|-----|-----|-----------------|-----|------|
| | Analyte | Variation biologique | | Limite souhaitable | | | Limite optimale | | | Limite minimale | | |
| | | CVw | CVg | I % | B % | TE% | I % | B % | TE% | I % | B % | TE% |
| S | Acide urique | 8,6 | 17,2 | 4,3 | 4,8 | 11,9 | 2,2 | 2,4 | 6,0 | 6,5 | 7,2 | 17,9 |
| S | Calcium | 1,9 | 2,8 | 1 | 0,8 | 2,4 | 0,5 | 0,4 | 1,2 | 1,4 | 1,3 | 3,6 |

Remarque : le terme imprécision, "I", repris de l'article, désigne l'estimation de la fidélité.

Selon le groupe de travail de la SFBC, Vassault *et al.*,

| État de l'art : | Répétabilité % | Reproductibilité % | Biais % | Erreur Totale % |
|-------------------------|----------------|--------------------|---------|-----------------|
| Acide urique : | | | | |
| Niveau Bas 150 µmol/L | 2,7 | 3,6 | 7,1 | 16,0 |
| Niveau moyen 300 µmol/L | 2,4 | 3,2 | 6,2 | 14,0 |
| Niveau élevé 450 µmol/L | 2,1 | 2,8 | 5,3 | 12,0 |
| Calcium : | | | | |
| Niveau Bas 1,8 mmol/L | 1,2 | 1,6 | 1,7 | 4,6 |
| Niveau moyen 2,4 mmol/L | 1,2 | 1,6 | 1,7 | 4,6 |
| Niveau élevé 3,4 mmol/L | 1,2 | 1,6 | 1,7 | 4,6 |

Selon l'approche "Six Sigma",

| | Calcium (conc # 2,0 mmol/l) | Ac. Urique (conc # 220 µmol/l) |
|---|-----------------------------|--------------------------------|
| CV | 1,6 % | 3,0 % |
| Biais | 0,8 % | 1,1 % |
| Erreur Totale admissible selon, CLIA 88 | 12,7 % | 17,0 % |
| Sigma correspondant | 5,4 | 5,3 |

Tableau illustrant la variabilité du sigma obtenu en fonction du choix de l'erreur totale admissible, pour le calcium et l'acide urique

9.6.2. Assurance de la qualité des résultats pour la numération (Hématologie)

En suivant l'approche développée ci-dessus, est présenté ci-après des exemples d'objectifs analytiques en Hématologie pour les principaux paramètres de la numération.

Selon Ricos *et al* :

| Spécifications pour l'erreur totale, la fidélité et la justesse calculées à partir des variations biologiques selon RICOS <i>et al.</i> | | | | | | | | | | | |
|---|----------------------|------|--------------------|-------------|--------------|-----------------|------|------|-----------------|------|-------|
| Analyte | Variation biologique | | Limite souhaitable | | | Limite optimale | | | Limite minimale | | |
| | CVw | CVg | I % | B % | TE% | I % | B % | TE% | I % | B % | TE% |
| Erythrocytes | 3,2 | 6,1 | 1,60 | 1,72 | 4,36 | 0,80 | 0,86 | 2,18 | 2,40 | 2,58 | 6,54 |
| Leucocytes | 10,9 | 19,6 | 5,45 | 5,61 | 14,6 | 2,73 | 2,80 | 7,30 | 8,18 | 8,41 | 21,9 |
| Hémoglobine | 2,8 | 6,6 | 1,40 | 1,79 | 4,10 | 0,70 | 0,90 | 2,05 | 2,10 | 2,69 | 6,15 |
| Plaquettes | 9,1 | 21,9 | 4,55 | 5,93 | 13,44 | 2,28 | 2,96 | 6,72 | 6,83 | 8,89 | 20,15 |

Remarque : Ces différentes spécifications peuvent être également calculées pour les autres éléments de la formule.

Application à un automate d'Hématologie,

Hématologie : Comparaison des 3 niveaux de contrôle aux spécifications selon Ricos et al.

| | CVw CV intra- individu | CVg CV inter- individu | Limite souhaitable < | NIVEAU BAS | NIVEAU NORMAL | NIVEAU HAUT | Limite Optimale < | Limite minimale < |
|---------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------|------------------|----------------|----------------------|----------------------|
| Erythrocytes | 3,2 | 6,1 | | | | | | |
| I % | | | 1,6 | 1,14 | 1,40 | 1,45 | 0,8 | 2,4 |
| B % | | | 1,7 | 0,02 | 0,00 | 0,02 | 0,9 | 2,6 |
| TE% | | | 4,4 | 1,90 | 2,31 | 2,41 | 2,2 | 6,5 |
| Leucocytes | 10,9 | 19,6 | | | | | | |
| I % | | | 5,5 | 2,68 | 2,40 | 2,88 | 2,7 | 8,2 |
| B % | | | 5,6 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 2,8 | 8,4 |
| TE% | | | 14,6 | 4,44 | 3,99 | 4,78 | 7,3 | 21,9 |
| Hémoglobine | 2,8 | 6,6 | | | | | | |
| I % | | | 1,4 | 0,97 | 1,11 | 1,08 | 0,7 | 2,1 |
| B % | | | 1,8 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,9 | 2,7 |
| TE% | | | 4,1 | 1,60 | 1,83 | 1,78 | 2,1 | 6,2 |
| Plaquettes | 9,1 | 21,9 | | | | | | |
| I % | | | 4,6 | 2,30 | 2,65 | 2,38 | 2,3 | 6,8 |
| B % | | | 5,9 | 0,04 | 0,01 | 0,03 | 3,0 | 8,9 |
| TE% < | | | 13,4 | 3,84 | 4,38 | 3,96 | 6,7 | 20,2 |

selon l'approche "Six Sigma", application à un automate d'Hématologie avec son groupe de pairs et comparaison aux performances annoncées par le fournisseur,

CALCUL DE SIGMA

| Analyte | RBC | | | WBC | | | Hb | | | Pt | | |
|---|---------|------|-------|----------|------|-------|---------|------|-------|----------|------|-------|
| | ± 6% | | | ± 15% | | | ± 7% | | | ± 25% | | |
| TE_a CLIA | B% | I% | Sigma | B% | I% | Sigma | B% | I% | Sigma | B% | I% | Sigma |
| Automate laboratoire | | | | | | | | | | | | |
| Anormal I | 0,98 | 0,93 | 5,40 | 0,25 | 1,55 | 9,52 | -0,36 | 0,82 | 8,98 | 0,71 | 2,20 | 11,04 |
| Normal | 0,76 | 1,30 | 4,03 | 2,11 | 1,75 | 7,37 | -0,30 | 0,83 | 8,80 | -0,21 | 2,70 | 9,34 |
| Anormal II | 0,69 | 1,15 | 4,62 | -0,32 | 2,64 | 5,80 | -0,01 | 1,32 | 5,31 | 0,83 | 2,80 | 8,63 |
| | | | | | | | | | | | | |
| Groupe de pairs | | | | | | | | | | | | |
| Anormal I | | 1,01 | 5,93 | | 1,45 | 10,34 | | 0,88 | 7,95 | | 2,10 | 11,90 |
| Normal | | 1,07 | 5,60 | | 2,73 | 5,49 | | 0,81 | 8,64 | | 2,60 | 9,62 |
| Anormal II | | 1,19 | 5,06 | | 2,81 | 5,34 | | 1,28 | 5,47 | | 2,80 | 8,93 |
| | | | | | | | | | | | | |
| Performances annoncées fournisseur | | | | | | | | | | | | |
| | | 2,00 | 3,00 | | 2,50 | 6,00 | | 1,50 | 4,67 | | 5,00 | 5,00 |

9.6.3. Assurance de la qualité des résultats en Hémostase

De même sont présentés ci-après des exemples d'objectifs analytiques en Hémostase

Selon Ricos et al.,

| Spécifications pour l'erreur totale, la fidélité et la justesse calculées à partir des variations biologiques selon RICOS et al. | | | | | | | | | | | | |
|--|----------------------|------|--------------------|-----|------|-----------------|-----|-----|-----------------|-----|------|--|
| Analyte | Variation biologique | | Limite souhaitable | | | Limite optimale | | | Limite minimale | | | |
| | CVw | CVg | I % | B % | TE% | I % | B % | TE% | I % | B % | TE% | |
| Taux Prothrombine | 4,0 | 6,8 | 2,0 | 2,0 | 5,3 | 1,0 | 1,0 | 2,6 | 3,0 | 3,0 | 7,9 | |
| TCA | 2,7 | 8,7 | 1,4 | 2,3 | 4,5 | 0,7 | 1,1 | 2,3 | 2,0 | 3,4 | 6,8 | |
| Fibrine | 10,7 | 15,8 | 5,4 | 4,8 | 13,6 | 2,7 | 2,4 | 6,8 | 8,0 | 7,2 | 20,4 | |

Remarque : Ces différentes spécifications peuvent être calculées pour d'autres analytes d'Hémostase.

Comparaison de deux automates de coagulation aux spécifications selon Ricos et al.

| | CVw CV intra-individu | CVg CV inter-individu | Limite souhaitable < | X1 | X2 | X1 | X2 | Limite Optimale < | Limite minimale < |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------|-------|-------|-------|----------------------|----------------------|
| | | | | CN | CN | CP | CP | | |
| Taux Prothrombine | 4 | 6,8 | | | | | | | |
| I % | | | 2,0 | 4,16 | 3,08 | 3,42 | 2,68 | 1,0 | 3,0 |
| B % | | | 2,0 | 0,02 | -0,01 | -0,04 | -0,05 | 1,0 | 3,0 |
| TE% | | | 5,3 | 6,88 | 5,06 | 5,61 | 4,37 | 2,6 | 7,9 |
| TCA (APTT) | 2,7 | 8,6 | | | | | | | |
| I % | | | 1,4 | 2,42 | 3,40 | 4,50 | 4,80 | 0,7 | 2,0 |
| B % | | | 2,3 | 0,04 | -0,06 | 0,01 | -0,02 | 1,1 | 3,4 |
| TE% | | | 4,5 | 3,96 | 5,55 | 7,44 | 7,90 | 2,2 | 6,7 |
| Fibrinogène | 10,7 | 15,8 | | | | | | | |
| I % | | | 5,4 | 4,33 | 3,60 | 5,17 | 3,95 | 2,7 | 8,0 |
| B % | | | 4,8 | 0,02 | -0,01 | 0,02 | 0,00 | 2,4 | 7,2 |
| TE% | | | 13,6 | 7,15 | 5,94 | 8,54 | 6,52 | 6,8 | 20,4 |

CN : contrôle normal CP : contrôle pathologique

Selon l'approche "Six Sigma",

Calcul de SIGMA pour ces deux automates

| Analyte | TP | | | TCA | | | Fibrine | | |
|-------------------|-------|------|-------|-------|------|-------|---------|------|-------|
| TE_a CLIA | ± 15% | | | ± 15% | | | ± 20% | | |
| | | | | | | | | | |
| | B% | I% | Sigma | B% | I% | Sigma | B% | I% | Sigma |
| Automate 1 | | | | | | | | | |
| CN | 0,02 | 4,16 | 3,60 | 0,04 | 2,42 | 6,18 | 0,02 | 4,33 | 4,61 |
| CP | -0,04 | 3,42 | 4,40 | 0,01 | 4,50 | 3,33 | 0,02 | 5,17 | 3,86 |
| Automate 2 | | | | | | | | | |
| CN | -0,01 | 3,08 | 4,87 | -0,06 | 3,40 | 4,43 | -0,01 | 3,60 | 5,56 |
| CP | -0,05 | 2,68 | 5,62 | -0,02 | 4,80 | 3,13 | 0,00 | 3,95 | 5,06 |

9.6.4 Assurance de la qualité des résultats en moyenne des normaux

9.6.2.1 Définition

La moyenne des normaux correspond à la moyenne des résultats du jour des analyses des patients, paramètre par paramètre, pour un laboratoire donné.

9.6.2.2 Champs d'application

L'utilisation de la moyenne mobile n'a d'intérêt que pour des paramètres quantitatifs, en nombre suffisant : Biochimie, Hématologie, quelques paramètres d'hormonologie : bilan thyroïdien.

Elle ne peut en aucun cas s'appliquer aux analyses qualitatives ou semi-quantitatives.

9.6.2.3 Utilisation

Cette moyenne, pour un laboratoire donné, est d'une grande stabilité : sur un mois, sur un an, sur une journée. Cela permet, après avoir défini sa propre moyenne qui correspond à sa propre clientèle (recrutement), de s'assurer qu'il n'y a pas de dérive. En cas d'anomalie du CIQ, cela peut permettre de valider ou non la série (dérogation).

9.6.2.4 Limites

L'utilisation de la moyenne mobile est un moyen simple à mettre en oeuvre à partir du moment où l'échantillon des patients est stable ; s'adapte très bien à une clientèle de ville sans pathologie prédominante ponctuelle, ou bien, si la clientèle est disparate, on peut sélectionner les résultats compris dans les limites de normalité ou sélectionner les patients par origine (service...) afin d'exclure les services avec des pathologies prédominantes.

Ce contrôle de la qualité ne peut en aucun cas remplacer un CIQ mais peut être très utile pour suivre la stabilité des résultats et se rassurer quant à la validité d'une série d'analyses.

9.6.5 Assurance de la qualité des résultats en moyennes mobiles

Elle repose sur le principe des cartes de Shewhart qui ont pour inconvénient d'être relativement insensibles aux petits dérèglages (moins de un sigma). La moyenne mobile est calculée sur une période fixe (ex. fenêtre "glissante" 30 derniers jours) et non pas en cumulant les résultats à partir d'une date fixe.

Les cartes de contrôle moyennes mobiles ont pour but d'améliorer la sensibilité d'une carte de Shewhart par rapport aux petits et moyens décentrages du procédé et présentent l'avantage de tenir compte du passé (cf. Ph. Marquis, publications et site Internet).

10 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE

Préambule: le laboratoire est invité à définir une stratégie en fonction des différents items rappelés ci-après (§ 1 à 5).

10.1 Objectifs du contrôle de Qualité

Ils sont à définir dans la politique du laboratoire.

10.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

Définition des besoins.

10.2.1. Exigences et indicateurs de performance

Mise en œuvre (nature des échantillons de contrôle, fréquence, position, règles, ...)

Performances du CQ

Limites acceptables en fonction du dossier de vérification initiale

Choix d'un CQ approprié (efficacité)

10.2.2. Matériaux de contrôle

Utilisation

Caractéristiques et types de contrôle

Relation avec les échantillons de calibration

10.2.3 Définition de la périodicité

Série analytique (période de temps, longueur)

Longueur des séries (recommandées par fournisseur / définies par l'utilisateur)

Réajustement périodique des longueurs/série

10.3 Exemples méthodologiques

10.3.1 Contrôles de Qualité en Bactériologie

10.3.1.1. Domaine d'application

L'exemple de contrôle de qualité développé concernera d'abord en Bactériologie des analyses pour lesquelles des travaux ont été faits et publiés, avec des recommandations consensuelles et présentant une facilité de mise en œuvre, comme l'identification des espèces microbiennes et l'antibiogramme.

Au sens de la définition des contrôles donnée en 8.2, il s'agit d'un CIQ actuellement limité aux analyses fréquentes de Bactériologie *stricto sensu*, comme en particulier :

- la réalisation des cytologies urinaires dans le cadre des ECBU,
- les identifications bactériennes en méthodes classiques ou automatisées,
- les techniques d'antibiogramme et les examens assimilés (CMI).

10.3.1.2. Les cytologies urinaires

Il est d'usage que le laboratoire de bactériologie réalise l'analyse de cytologie des urines adressées pour Examen Cyto-Bactériologique (ECBU). Le contrôle interne de qualité dans ce domaine est difficile pour des raisons évidentes de conservation des échantillons. En l'état de l'art, la fiabilité des résultats de cytologie repose avant tout sur la formation initiale des opérateurs et sur le contrôle régulier des compétences. Toutefois, on pourrait imaginer que le laboratoire établisse un plan d'échantillonnage quotidien permettant de vérifier le travail des opérateurs (par exemple, comptage en double et en aveugle de quelques échantillons d'urines).

Depuis quelques années, des automates de comptage des éléments cellulaires sont utilisés dans les laboratoires de bactériologie. La spécificité et l'étroitesse du marché font qu'à ce jour il n'existe que peu d'échantillons de CIQ autres que ceux proposés par les fournisseurs d'automates. Et encore, s'agit-il d'échantillons synthétiques commercialement disponibles ou fournis par les fabricants. S'il est évident que le passage quotidien, voire pluriquotidien, de ces contrôles doit être respecté à la lettre, il n'en demeure pas moins qu'en absence de contrôles externes, le laboratoire doit s'assurer de la fiabilité des résultats qu'il rend. Dans ces conditions, il peut sembler utile de vérifier au quotidien le fonctionnement de l'automate par des comparaisons avec les comptages au microscope selon un plan d'échantillonnage bien précis.

10.3.1.3. Les identifications bactériennes

Les identifications de bactéries répondent essentiellement à la loi du "tout ou rien" : chaque échantillon est unique et c'est la concordance avec un panel de caractères (culturels, morphologiques, biochimiques, antigéniques, sérotypiques, etc.) qui permet d'attribuer tel ou tel nom sur une bactérie. Les critères les plus utilisés sont donc surtout phénotypiques, ce qui comporte d'assez grandes variations possibles pour une même identification. La finalité d'un contrôle de qualité en bactériologie n'est donc pas tant de vérifier l'exactitude des multiples phénotypes rencontrés mais plutôt de s'assurer de la pérennité des techniques choisies lors de la validation des méthodes. En pratique, l'objectif principal est de définir les circonstances ainsi que les fréquences des contrôles à effectuer.

La très grande diversité des espèces rencontrées d'une part, l'évolution importante des techniques disponibles d'autre part, font qu'il existe un panel très large de techniques d'identification disponibles, du test unitaire à la galerie commerciale, de quelques tests à plusieurs dizaines, et selon une méthode manuelle ou avec automate. Néanmoins, la diversité des réponses possibles ne doit pas éluder la nécessité de mettre en place des contrôles de la qualité adaptés aux conditions décidées pour la pratique quotidienne. Les tests unitaires doivent faire l'objet d'un respect scrupuleux des préconisations du fournisseur (ex : faire le témoin Négatif avec chaque test d'agglutination).

Par ailleurs, le passage régulier de souches de référence pour chaque technique sera fait selon une fréquence définie par le biologiste. Et pour les galeries commerciales, le passage des souches de référence sera planifié pour un même lot de galeries à chaque changement de lot et/ou après chaque intervention de maintenance sur un automate. Quant il y a plusieurs systèmes d'identification utilisés simultanément pour un ou plusieurs groupes de bactéries, il est souhaitable que ces techniques soient validées entre elles (par exemple, vérifier que des galeries à lecture automatisée concordent avec les galeries à lecture "manuelle"). Pour ces contrôles, il est conseillé, avec les souches de référence -souches de collection identifiées phénotypiquement et génotypiquement, publiées, propriétés des collections et disponibles dans ces "collections", appelées aussi centre de ressources biologiques (CRB)-, d'utiliser des souches cliniques, différentes des souches de référence et correspondant à des souches isolées en pathologie infectieuse, bien identifiées, et

correspondant à la pathologie courante observée chez des patients mais pas obligatoirement publiées.

10.3.1.4. Sensibilité des bactéries aux antibiotiques (antibiogrammes et CMI)

Avec les techniques manuelles en milieu gélosé, c'est le taille du diamètre d'inhibition de culture de la bactérie étudiée autour de disques imprégnés d'un antibiotique qui est à la base du résultat de l'analyse antibiogramme. Le report de ces diamètres observés sur des abaques de concordance permet de classer la souche testée en trois catégories : S, I ou R.

On pourrait imaginer suivre la qualité des antibiogrammes en utilisant les méthodes statistiques (moyennes \pm écarts-types) couramment utilisées pour les méthodes à résultats quantitatifs comme en Biochimie ou en Hématologie. Toutefois, la "précision" donnée avec les méthodes à résultats *qualitatifs*, surtout si la lecture est oculaire, permettra tout au plus de déceler des erreurs techniques majeures : ainsi, un diamètre de 23 mm ou de 35 mm autour d'un disque de β -lactamine classera deux bactéries "S" dans les deux cas, mais avec un écart-type de l'ordre de 40% ! En fait, la réponse de type "globale" ne permet pas d'escompter une exploitation très précise pour ce type de technique. Le plus utile réside en fait dans le choix judicieux de souches de référence permettant de déceler sans faille les différents mécanismes de résistance des bactéries.

Avec les méthodes en milieu liquide où la presque totalité de l'analyse est automatisée, le contrôle de qualité est facilité avec la notice du fabricant, variable selon le constructeur, qui décrit le mode opératoire, les souches à utiliser ainsi que les divers éléments techniques de réalisation. Chacun des automates utilisés comporte un module dédié pour les résultats observés avec les souches de contrôles, et dans un cas décrit par Honderlick, il y a en plus un traitement statistique complet (écart-type, moyenne, variance calculée et affichée pour chaque couple bactérie-antibiotique) concernant les résultats observés avec les souches de contrôles de l'année ou d'une période définie.

Il existe aussi une méthode de référence à laquelle on est tenu de se reporter si nécessaire, comme les fabricants d'automates qui utilisaient la méthode de dilution en milieu gélosé qui devrait être bientôt remplacée par la technique de microméthode en milieu liquide (Bert-Chalier).

10.3.1.5. Indicateurs de performance

Les résultats d'antibiogramme constituent une tâche quotidienne délicate pour le biologiste. Les nombreux pièges possibles dans son interprétation nécessitent une formation solide des opérateurs tant dans la réalisation que dans la lecture des antibiogrammes. Pour toutes ces raisons, le contrôle de qualité interne doit être organisé et respecté scrupuleusement au sein du laboratoire. Le biologiste devra s'attacher à :

- choisir les souches de référence permettant le mieux de tester les points critiques rencontrés dans les différents phénotypes de résistance,
- choisir correctement les techniques à utiliser selon le type de bactérie à tester,
- définir les fréquences de passage des souches de références (une fréquence bimensuelle semble un objectif raisonnable, ainsi qu'à chaque changement de lot en cas de galeries commerciales ou après une grosse intervention de maintenance, etc.),
- dans le cas où le laboratoire utilise un automate avec des règles d'interprétation personnalisables, il est impératif que ces règles soient clairement écrites, afin de permettre un traitement uniforme des échantillons à tester, notamment après une maintenance ou une modification de logiciel,
- dans le cas d'utilisation de "système expert", il est nécessaire de tenir compte des commentaires associés à l'antibiogramme,

- la cohérence de l'antibiogramme avec l'identification du germe étudié devra être vérifiée. Il est aussi recommandé de se référer aux descriptions des résistances naturelles aux antibiotiques pour chaque espèce bactériennes décrite par Einsenberg, ainsi que par le Comité de l'Antibiogramme de la SFM (CA/SFM), disponible sur le site Internet de la SFM,
- si plusieurs techniques d'antibiogramme sont en vigueur au laboratoire, il est hautement souhaitable que le biologiste vérifie régulièrement la cohérence des résultats entre les différents systèmes utilisés (une fois par mois par ex.).

10.3.1.6. Matériaux de contrôle utilisables

La réalisation de ces contrôles implique la disponibilité de matériel, commercialement disponible, ce qui est souvent le cas.

Cependant il faudra faire des exceptions pour certaines identifications ou bien les cas pour lesquels un consensus n'a pas été encore clairement établi (ex : certaines espèces, parasites, virus, non disponibles ou recommandations, sans accord réel, comme par exemple la sensibilité aux antifongiques).

Le Biologiste devra utiliser des souches-test choisies sur des critères précis de sélection, notamment :

- souches couvrant au maximum le panel des profils bactériens qu'il a l'habitude de rencontrer (Entérobactéries, staphylocoques, streptocoques, aérobies stricts, anaérobies, etc.). Ce choix prendra en compte les points critiques des techniques d'identification qu'il utilise, quelles soient manuelles ou automatisées. Le choix du CIQ approprié est dicté aussi par le recrutement habituel et aussi par l'actualité en matières de maladies infectieuses mais la disponibilité des souches peut être un obstacle dans ces cas,
- la liste des souches utilisées pour le contrôle des antibiogrammes devra également prendre en compte les phénotypes correspondant le mieux à son activité (patients de "ville", patients hospitalisés, services de réanimation ou de long séjour,...). Le laboratoire devra tester non seulement des souches sensibles mais aussi des souches exprimant les différents mécanismes de résistance (par exemple, une souche de *Staphylococcus aureus* méticillino-résistante, une souche productrice de β -lactamase à spectre étendu (BLSE), une souche d'*Enterococcus* résistant aux glycopeptides, une souche de *Streptococcus pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline, ...).

Il s'agira de souches microbiennes de référence connues pour leurs caractéristiques : critères d'identification et sensibilités variables aux antibiotiques qui seront réparties en aliquots identiques en concentration et congelés à -80°C. L'utilisation de souches entretenues par "repiquages" successifs et nombreux n'est pas à recommander.

Ces souches sont commercialement disponibles dans différentes sociétés et dans les centres de ressources biologiques (CRB, collections). Par exemple citons les plus utilisées comme :

- *Escherichia coli* (CIP 7624, ATCC 25922),
- *Staphylococcus aureus* (CIP 7625, ATCC 35923),
- *Pseudomonas aeruginosa* (CIP 16110, ATCC 27853),
- *Enterococcus faecalis* (CIP 103214, ATCC 29212),
- *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619),
- *Candida albicans* ATCC,
- *Candida krusei* ATCC 6258,
- *C. parapsilosis* ATCC 22019,

L'efficacité (rapport qualité/coût) doit être aussi pris en compte pour faire le choix des matériaux. Par exemple les souches références pourraient être substituées -pour une période limitée à 12 mois maximum- par des subcultures de la souche de référence qui

n'aura été achetée qu'une seule fois dans un centre de ressources biologiques ; une possibilité plus pratique parfois consistant à garder les souches lyophilisées ou en solutions avec 10% de DMSO et distribuées en aliquotes qui seront conservées à -80°C. Il s'agira de souches microbiennes de référence, connues pour leurs caractéristiques : critères d'identification et sensibilités variables aux antibiotiques et congelés à -80°C. L'utilisation de souches entretenues par "repiquages" successifs est à proscrire.

10.3.1.7. Périodicité et fréquences

La difficulté de disposer de façon répétée d'échantillons bactériologiques "vrai" ne permet pas d'envisager un contrôle de qualité avec des fréquences comparables à celles des analyses à résultats quantitatifs et pour lesquelles les échantillons de référence sont reproductibles et stables avec une composition bien définie.

Les grandes séries en Bactériologie ne sont pas très fréquentes dans les laboratoires français et il n'y a pas comme en Biochimie de recommandations pour le passage et la longueur des séries d'analyses.

La périodicité recommandée des contrôles de Bactériologie est variable selon les différents auteurs et divers documents utilisés. En ce qui concerne les antibiogrammes cette périodicité peut être mensuelle ou hebdomadaire pour Bartlett. Pour Isemberg, il faut suivre un algorithme décisionnel qui permet après un contrôle quotidien de 30 jours et selon les résultats observés de passer à un contrôle hebdomadaire. En France, en absence de recommandations précises, et selon le GBEA, le choix de la périodicité est du ressort du Biologiste. Cette périodicité du CIQ pourrait être pour les analyses décrites ci-dessus hebdomadaires ou bimensuelles pour les méthodes manuelles, en accord avec les recommandations du fabricant d'automate.

En Parasitologie et en Virologie, des frottis chargés en parasites ou des solutions contenant des cellules infectées peuvent être utilisés dans le cadre des confrontations interlaboratoires décrites ci-dessus.

10.3.1.8. Mise en œuvre

Pour la réalisation des contrôles à partir de souches bactériennes la concentration en bactéries des solutions ou aliquotes utilisées devra être bien respectée et précisée dans les compte rendus.

Pour la position des échantillons de contrôle, en dehors de l'utilisation d'automates, il pourrait être conseillé d'avoir des résultats obtenus par deux manipulateurs différents.

Quant aux critères de comparaison et de décision pour les résultats, ils devront se référer aux propositions décrites dans la littérature ou accessibles sur sites Internet et/ou proposées par les sociétés qui commercialisent les produits de référence utilisés.

10.3.1.9. Le Contrôle Externe de la Qualité (CEQ)

Les confrontations interlaboratoires doivent être un principe de base de la vérification de la qualité au sein d'un laboratoire de Bactériologie. De telles confrontations sont assurées par les différentes associations de Biologie Médicale qui adressent régulièrement des souches à tester. Le plus souvent, il s'agit de souches isolées de cas cliniques et qui présentent des particularismes (voire des difficultés) qui permettent aussi de juger de l'aptitude du laboratoire à traiter les différents types de prélèvements. Les résultats de ces contrôles sont basés sur :

- le choix des milieux de culture utilisés et des antibiotiques à tester,
- le rendu des résultats avec l'interprétation,
- le résultat de l'antibiogramme (brut et interprété),

- le conseil thérapeutique si nécessaire.

Le rythme d'une confrontation trimestrielle semble être le plus approprié à suivre (auxquelles s'ajoute, bien sûr, le contrôle national obligatoire). La restitution des résultats à toute l'équipe avec mise en place d'actions correctives le cas échéant, doit représenter une source non négligeable de maintien de la qualité au sein du laboratoire, selon le principe de l'assurance qualité que tout échec est source de progrès.

Ceux-ci sont moins fréquents que pour les analyses à résultats quantitatifs, mais il est possible d'en trouver en France ainsi que dans des réseaux ou structures européennes afin de participer à de telles comparaisons de résultats.

En Virologie, comme cela peut-être le cas en Parasitologie et Hématologie, des frottis chargés ou des solutions contenant des cellules infectées peuvent être utilisés selon la catégorie du contrôle effectué (charge virale du CNQ, contrôles européens, ...).

Chaque fois que cela lui est possible, il est également recommandé au Biologiste de participer à des enquêtes épidémiologiques ou à des réseaux (type ONERBA, Observatoires Régionaux, centre de référence, ...). Cette activité est importante pour le biologiste qui peut ainsi situer, au niveau régional, les résultats observés dans son laboratoire. Elle pourrait permettre dans certains cas de révéler des anomalies de résultats dues à des erreurs systématiques de lecture ou d'interprétation. Ainsi il est possible d'observer des écarts systématiques de résultats de CMI trouvés sur une même espèce bactérienne dans une même région pendant une période donnée, alors que les autres laboratoires de la région ont des résultats homogènes entre eux. Ceci doit évoquer plutôt l'anomalie de lecture avant de conclure trop rapidement à une nouvelle évolution de la résistance des souches isolées par un seul laboratoire dans la même région.

En conclusion, la compétence d'un laboratoire de Bactériologie sera évaluée par la pratique régulière de contrôles internes type CIQ et par la participation à des contrôles interlaboratoires ainsi que par la mise en place régulière de mesures correctives nécessaires et adéquates.

10.3.2 Assurance de la qualité des résultats en Immuno-hématologie

10.3.2.1 Objectifs du contrôle de Qualité

Ils sont à définir dans la politique du laboratoire. Le laboratoire dispose de procédures de maîtrise de la qualité pour surveiller la validité des essais et des étalonnages entrepris. Les données résultantes sont enregistrées de telle sorte que les tendances soient détectables. Cette surveillance est planifiée et repose sur les éléments des paragraphes suivants .

10.3.2.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

Le contrôle interne de qualité peut utiliser des échantillons

- Titrés ou non titrés,
- Commerciaux ou de fabrication *in situ* ("pools"), à défaut ou en supplément.

Contrôle pour les explorations sériques (Ex : R.A.I.)

Toute recherche d'anticorps réalisée quelle que soit la technique doit faire l'objet d'un contrôle régulier, réalisé à l'aide d'anticorps de spécificité et de performance (intensité de réaction) connues et de préférence polyclonaux (CIQ). Les analyses ne peuvent être validées qu'après vérification de la conformité des résultats de ce contrôle.

Contrôle pour les phénotypes érythrocytaires (Ex : ABO, Phénotype RH Kell, etc..)

Tout phénotypage réalisé quel que soit la technique doit faire l'objet d'un contrôle régulier, réalisé à l'aide d'hématies de contrôle de phénotype garanti par un processus technique différent de celui qui est contrôlé par ces échantillons (CIQ). (Liste en annexe) Les analyses ne peuvent être validées qu'après vérification de la conformité des résultats de ce contrôle.

Objectif commun : contrôle continu de reproductibilité et de justesse

A intervalle défini (temps, nombre d'échantillons), les CIQ doivent être réalisés et leur analyse permet de vérifier que la technique est toujours :

- reproductible, par comparaison aux spécifications initiales (intensité de la réaction),
- juste : le résultat observé pour un CIQ donné est comparée à ses caractéristiques initiales indiquées par le fabricant.

Du point de vue pratique, la mise en œuvre du CIQ vise à

- Valider les résultats en temps réel,
- Détecter les erreurs et les corriger immédiatement,
- Prévenir les erreurs par l'observation d'un certain nombre de paramètres (dérives, ...).

L'évaluation externe de la qualité (EEQ)

Par principe, la valeur du matériau de ce contrôle externe de qualité est inconnue de l'utilisateur dans le cadre d'un contrôle ponctuel. Il sert à contrôler à posteriori la justesse d'une méthode par rapport à un système de comparaison. Son inconvénient est le délai de retour des résultats. Son avantage est sa garantie d'objectivité : son résultat ne peut pas être influencé par l'utilisateur.

La participation au contrôle de qualité de l'AFSSAPS est obligatoire. Le laboratoire participe également au programme organisé par une société savante, comme la SFTS, ou une autre choisie par le Biologiste.

10.3.2.3 Matériaux de contrôle

Il s'agit de contrôles internes de qualité.

Ceux mis en œuvre dans le cadre du groupage ABO-RH1 et des phénotypes érythrocytaires sont des échantillons de contrôle, dont le phénotype est garanti et obtenu par une méthode différente de celle qui est contrôlée par ces échantillons.

Ceux mis en œuvre dans le cadre des explorations d'anticorps sont des échantillons de contrôle comportant des anticorps natifs si disponibles ou des réactifs de spécificité et de titre connus. Pour la recherche d'anticorps irréguliers, et pour l'épreuve de compatibilité au laboratoire ils comportent au minimum un anticorps de titre \leq à 4, dans la technique d'utilisation et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression "hétérozygote".

Ceux mis en œuvre dans le Test Direct à l'Antiglobuline contenant des hématies sensibilisées in vitro par des IgG.

Ces contrôles internes qualité sont mis en œuvre au minimum quotidiennement, en fonction de la fréquence de réalisation des analyses concernées et dans les mêmes conditions que

celles appliquées aux échantillons biologiques. Ils permettent un contrôle continu de la qualité des résultats des analyses.

Ces CIQ sont également mis en œuvre dans le cadre du contrôle à réception des réactifs.

Parallèlement à ces CIQ il existe des témoins réactifs. Ils sont mis en œuvre pour valider une réaction analytique positive ou négative (ex : témoin réactif et non réactif dans le cadre de phénotypage ou de test direct à l'antiglobuline).

Les témoins appropriés sont systématiquement réalisés en parallèle du traitement de l'échantillon.

10.3.2.4 Suivi statistique appliqué à l'examen des résultats

Il comprend le suivi d'indicateurs analytiques : conformité des CIQ, fréquence des corrections manuelles par unité réactionnelle, fréquence de reprises, de dépistage positif, ...

Analyses réitérées à l'aide de méthodes identiques ou différentes et corrélation de résultats.

Il s'agit, par exemple :

- Pour le phénotypage : de la comparaison effectuée entre 2 réalisations ou entre 1 réalisation et un historique quand il est disponible,
- Pour l'identification d'anticorps anti-érythrocytaire : des techniques complémentaires (enzymatiques, ...) peuvent être mises en oeuvre.

10.3.2.5 Nouvelle analyse sur prélèvement (objet) ou spécimen conservé

Il concerne le titrage d'anticorps anti-érythrocytaires immuns autres que les anti-A et anti-B immuns ; pour lequel il est nécessaire de réaliser en parallèle un titrage de l'échantillon précédent, conservé congelé à une température inférieure ou égale à -30°C .

11 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF)

Préambule: le laboratoire est invité à définir une stratégie en fonction des différents items rappelés ci-après (§ 1 à 5).

11.1 Objectifs du contrôle de Qualité

Ils sont à définir dans la politique du laboratoire.

11.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

Définition des besoins.

11.2.1. Exigences et indicateurs de performance

Mise en œuvre (nature des échantillons de contrôle, fréquence, position, règles, ...)

Performances du CQ

Limites acceptables en fonction du dossier de vérification initiale

Choix d'un CQ approprié (efficience)

11.2.2. Matériaux de contrôle

Utilisation

Caractéristiques et types de contrôle

Relation avec les échantillons de calibration

Concentrations des analytes

11.2.3 Définition de la périodicité

Série analytique (période de temps, longueur)

Longueur des séries (recommandées par fournisseur / définies par l'utilisateur)

Réajustement périodique des longueurs/série

11.3 Exemples méthodologiques

11.3.1 Assurance de la qualité des résultats en Sérologie : Règles de la maîtrise statistique des procédés lors de la validation des plaques et/ ou séries et au long court.

11.3.1.1. Objectifs du contrôle de qualité

Le contrôle de qualité permet de

Réaliser pour chaque série d'analyse la validation analytique du processus analytique,

Repérer les dérives du processus analytique dans le temps.

Pour cela, on part du principe qu'une série d'analyse regroupant les échantillons de patients, les contrôles ou calibrateurs fabricant et le ou les CIQ constituent un processus analytique et que la validation analytique devra se faire non seulement contrôle par contrôle (chaque contrôle fabricant et CIQ) mais aussi dans la globalité (cf. ci dessous).

L'exemple cité ici représente ceux des trousse de diagnostics d'hépatites et rétrovirus, trousse dites "sensibles" au regard de la directive européenne 98/79/CE (trousse marquées CE en annexe II, liste A, telles que antigène HBs, anti-VIH 1et 2, anti-HCV, ...)

11.3.1.2. Organisation du contrôle de qualité

Définition des besoins

Les échantillons de CIQ sont pour la plupart commercialisés sous forme liquide ou lyophilisé, des indications de résultats obtenus avec quelques trousse sont quelquefois données. On ne peut donc pas considérer que ces échantillons soient "titrés".

Indicateurs de performances à déterminer

Du fait même de la nature non titrée ces CIQ, deux éléments de performances peuvent être suivis :

- La fidélité (reproductibilité grâce au CV),
- La justesse (biais par rapport à la valeur cible calculée après une période probatoire correspondant à l'accumulation d'au moins 20 valeurs).

Mise en œuvre

Le CIQ sera choisi dans la mesure du possible de manière à obtenir un résultat proche du seuil de positivité.

Le CIQ doit être déposé dans chaque série d'analyse en plus des contrôles ou calibrateurs fabricant.

La périodicité est de ce fait liée à la fréquence de réalisation des analyses à savoir, autant de fois que de série. Attention, la taille des séries doit être définie en fonction de l'activité du laboratoire et ceci plus particulièrement sur les automates fermés. Ces séries ne doivent pas être trop grandes, car alors il est pris le risque que lors de la validation analytique (si celle-ci est invalide), l'ensemble des analyses est à refaire.

Le CIQ est à positionner soit de manière aléatoire, si cela est possible, soit en fin de série (échantillon dit flottant), soit de manière fixe si cela permet de ne pas l'oublier.

Limites acceptables/performances

Les valeurs obtenues pour chaque série seront à confronter aux limites établies (cf. ci-dessous). Périodiquement (chaque semaine par exemple) la carte de contrôle sera observée afin de vérifier l'absence de dérive.

Tout écart par rapport aux règles définies doit donner lieu à une décision de la part du biologiste (dérogation, période de surveillance, refaire la série, recalculer des limites acceptables, ...).

Il faut rappeler que la validation initiale sur site permet d'obtenir les éléments nécessaires aux premiers calculs.

11.3.1.3. Rappel de statistique pour le calcul des limites de contrôle

Les limites de contrôles sont calculées de la manière suivante :

Une extraction est faite vers Excel (quand cela est possible) de date à date des éléments suivants de chaque série :

Moyenne des témoins négatifs,
 Moyenne des témoins positifs 1,
 Moyenne des témoins positifs 2 ou des témoins seuils,
 Moyenne des ou du CQ,
 Moyenne des échantillons négatifs, moyennes d'échantillons positifs.

1) Sur l'ensemble des moyennes obtenues (sauf sur les moyennes de population telle que "échantillons négatifs", "échantillons positifs") des différentes plaques, sont effectués les calculs suivants :

Moyenne, écart type (SD)

Puis les bornes s'établissent ainsi,

$$\text{Limite supérieure} = \text{moyenne} + 3 \text{ SD} / \sqrt{\text{effectif de la population}}$$

$$\text{Limite inférieure} = \text{moyenne} - 3 \text{ SD} / \sqrt{\text{effectif de la population}}$$

L'effectif de la population est le nombre d'éléments contenus dans cette population, par exemple, si l'on dépose dans une série de trois témoins positifs, l'effectif de cette population est de trois.

2) Pour la moyenne des échantillons négatifs, il est possible d'utiliser la règle du "six sigma" (Westgard, Lamprecht)

Partant du principe (dans le cadre du dépistage et non du diagnostic) que la production parfaite de résultats est celle de résultats négatifs, il faut obtenir le nombre de prélèvement rendu parfaitement négatif et donc connaître tous les non-négatifs. Le rapport des deux populations correspond au rendement. Celui-ci est introduit dans une table qui nous donne la valeur du coefficient multiplicateur de SD. Ainsi on obtient les bornes supérieures et inférieures pour la validation analytique des séries.

3) pour la moyenne des échantillons positifs il faut considérer que le résultat positif que l'on rend doit être parfait. Or nous ne réalisons pas un test de confirmation sur tous les tests rendus. Il est donc nécessaire de connaître la spécificité analytique de la trousse correspondant au rendement qui est alors référencer dans la même table afin d'obtenir la valeur du coefficient multiplicateur de SD. Ainsi on obtient les bornes supérieures et inférieures pour la validation analytique des séries.

4) période probatoire

La difficulté en Immuno-sérologie est celle de la validation analytique pendant la période probatoire, voire au moment du changement de lot, quand il y a rupture dans la carte de contrôle. Pendant cette période afin de ne pas se retrouver confronter à un vide dans la validation analytique quant à l'analyse des résultats des valeurs de témoins et contrôle, il est proposé la solution suivante et ceci quelque soit la taille et la périodicité des séries :

Avec les résultats obtenus sur les trois premières séries, réaliser un premier calcul de moyenne, écart type et calcul des limites. Puis, lors de la série suivante, cumuler les valeurs de témoins et contrôles avec ceux des trois séries précédentes. On cumulera les valeurs

avec un réajustement des limites à chaque série jusqu'à l'obtention minimale des 20 qui permettront de considérer le processus stabilisé pour obtenir des limites définitives.

11.3.1.4. Première approche de l'estimation de l'incertitude sur le résultat

Cette estimation est obligatoire d'après la norme NF EN ISO/CEI 17025. Il permet d'entourer le résultat final de "l'ensemble des éléments qui concourent à une variation sur la mesure".

Une première approche est proposée :

Trouse par trousse, un relevé des CV% des CQ observés sur les différents lots de réactifs de cette trousse pendant un an environ quelque soit le couple automate – réactif, Le CV% le plus grand sera retenu en estimant ainsi que ce CV% le plus grand couvre de fait tous les types de variations. Il devra donc être revu périodiquement.

Ce CV % sera ensuite déclaré comme incertitude et entré dans le paramétrage des trousse comme zone grise inférieure et supérieure.

11.3.1.5. Application des règles de maîtrise statistique des procédés

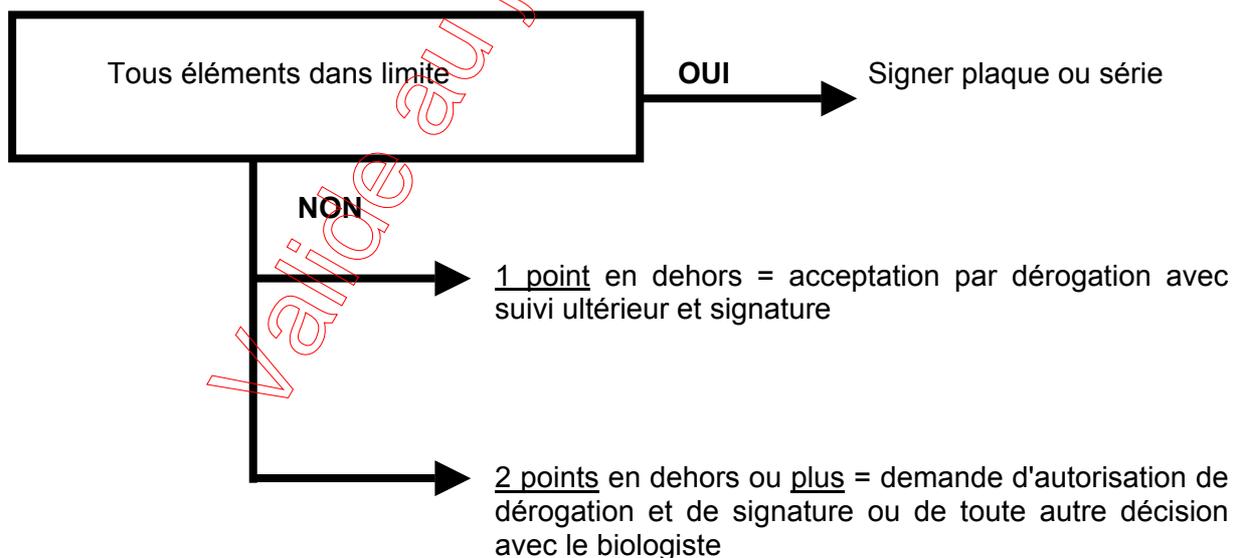
Ces règles s'appliquent couple réactif-automate par couple réactif-automate

1) Règle de validation analytique à chaque série

Eléments pris en compte :

Témoins (moyenne s'il y a lieu) ou contrôles fabricants(moyenne s'il y a lieu),
 CIQ (moyenne s'il y a lieu),
 Moyenne des échantillons négatifs,
 Moyenne des échantillons positifs.

Règles :



2) Règles de suivi : cartes de contrôles

Les cartes de contrôles existent souvent dans le logiciel de pilotage des automates.

Celles-ci suivent alors les règles classiques de Westgard qu'il suffit d'appliquer.

Certains logiciels existent sur le marché pour permettre la gestion de ces cartes de contrôles et sont vendus par les distributeur de "contrôles de qualité". Il est alors nécessaire de réaliser une saisie des valeurs quand un transfert automatique n'existe pas.

Si aucun outil n'est disponible dans le laboratoire, un carte de contrôle (avec saisie des valeur à chaque série) peut être réalisée en intégrant des formules conditionnelles sur les cases où seront saisies les valeurs de manière à mettre en alerte le technicien. De plus, imposer une impression des cartes périodiquement (une fois pas semaine par exemple) permet de vérifier la dérive ou non du paramètre suivi et l'on sait l'importance d'un changement de lot, de la maintenance d'un matériel sur le couple réactif- automate. Cette carte est la "vigilance" laboratoire et permet de réagir et de décider des suites à donner.

Attention

Un oubli = un élément pris en compte en moins. Ceci est considéré comme un élément hors limites. Avec deux oublis, la plaque ou la série est à refaire.

Un changement de lot peut entraîner un décalage des valeurs des éléments pris en compte soit vers le haut soit vers le bas. Il est donc particulièrement recommander une grande vigilance au moment des changements de lot . Un re calcul de bornes ne pourra se faire qu'après acquisition des résultats de 20 plaques, voire la possibilité citée ci-dessus telle que pendant la période probatoire.

Pour les automates en système fermé, en plus du changement de lot, les vérifications des optiques peuvent avoir le même effet. Une carte de contrôle réalisée en moyenne cumulée, comme pendant la période probatoire mais de ce fait en continue, peut atténuer cet effet dans le temps.

11.3.2 Assurance de la qualité des résultats en Biologie Moléculaire – Résultats qualitatif obtenus à partir de quantité mesurable - Règles de la maîtrise statistique des procédés lors de la validation des séries

L'exemple pris ici est celui de résultats obtenus en technique TMA, avec comme grandeur mesurable les RLU (unité de luminescence).

11.3.2.1. Objectifs du contrôle de qualité

Le contrôle de qualité permet de :

Réaliser pour chaque série d'analyse la validation analytique du processus analytique,

Repérer les dérives du processus analytique dans le temps.

Pour cela, on part du principe qu'une série d'analyse regroupant les échantillons de patients, les contrôles ou calibrateurs fabricant et le ou les CIQ constituent un processus analytique et que la validation analytique devra se faire non seulement contrôle par contrôle (chaque contrôle fabricant et CIQ) mais aussi dans la globalité (Cf. ci dessous).

11.3.2.2. Organisation du contrôle de qualité

Définition des besoins

Les échantillons de CIQ sont pour la plupart commercialisés sous forme liquide , la charge viral contenu dans l'ampoule y est précisée, la valeur du signal obtenu ne l'est pas. En biologie moléculaire, il est particulièrement intéressant d'utiliser des échantillons qui donnent

des signaux forts (au moins supérieur à trois fois le seuil de détection de la trousse) et des échantillons de signaux faibles (proche du seuil de détection de la trousse).

Indicateurs de performances à déterminer

Du fait même de la nature non titrée ces CIQ, deux éléments de performances peuvent être suivis :

- La fidélité (reproductibilité grâce au CV),
- La justesse (biais par rapport à la valeur cible calculée après une période probatoire correspondant à l'accumulation d'au moins 20 valeurs).

De plus, il est important de signaler que certains contrôles, tels que les CIQ proches du seuil de détection, pourront faire l'objet d'un suivi en pourcentage de détectabilité (voir ci-dessous).

Mise en œuvre

Le CIQ sera choisi dans la mesure du possible de manière à obtenir un résultat soit (1) à signal fort, soit (2) à signal faible correspondant à un échantillon à détectabilité proche du seuil de détection de la trousse :

- 1- Un résultat positif dans tous les cas (contrôle de série ou "run control"),
- 2- Un résultat positif avec une charge virale plus faible afin d'avoir une idée des variations éventuelles de sensibilité de la méthode. Le niveau de charge virale faible, proche du seuil de détection du fabricant peut se définir en accord avec le fabricant. Le fabricant pourra ainsi concomitamment fournir le % de détectabilité de cet échantillon et le niveau de copies/ml contenu dans l'échantillon qui servira de base au suivi de ce dernier (contrôle de suivi).

Les CIQ doivent être déposés dans chaque série d'analyse en plus des contrôles ou calibrateurs fabriquant.

La périodicité est de ce fait liée à la fréquence de réalisation des analyses à savoir autant de fois que de série. Attention, la taille des séries doit être définie en fonction de l'activité du laboratoire et ceci plus particulièrement sur les automates fermés. Ces séries ne doivent pas être trop grandes, en effet, il est alors pris le risque que lors de la validation analytique (si celle-ci est invalide) l'ensemble des analyses soient à refaire.

Les CIQ sont à positionner soit de manière aléatoire si cela est possible, soit en fin de série (échantillon dit flottant) soit de manière fixe si cela permet de ne pas l'oublier.

Limites acceptables/performances

Les valeurs obtenues pour chaque série seront à confronter aux limites établies (cf. ci dessous). Périodiquement (chaque semaine par exemple) la carte de contrôle sera observée afin de vérifier l'absence de dérive.

Tout écart par rapport aux règles définies doit donner lieu à une décision de la part du biologiste (dérogation, période de surveillance, refaire série, recalculer limites acceptables...).

Il faut noter que la validation initiale sur site permet d'obtenir les éléments nécessaires aux premiers calculs.

11.3.2.3. Rappel de statistique pour le calcul des bornes

Aspect quantitatif

Les limites sont actuellement calculées de la manière suivante : Une extraction est faite vers Excel® des données quotidiennes. A partir de là sont intégrés dans une feuille de calcul :

Moyenne des RLU des témoins négatifs,
Moyenne des RLU des témoins positifs 1,
Moyenne des RLU des témoins positifs2,

Ratio du contrôle de run 1,
Ratio du contrôle de run 2,
Ratio du contrôle de suivi 1,
Ratio du contrôle de suivi2.

Sur l'ensemble des moyennes obtenues sont effectués les calculs suivants :

Moyenne, écart type (SD),
Puis les limites s'établissent ainsi,

Limite supérieure = moyenne + 3 SD/ $\sqrt{\text{effectif de la population}}$,

Limite inférieure = moyenne – 3 SD/ $\sqrt{\text{effectif de la population}}$.

L'effectif de la population est le nombre d'éléments contenu dans cette population, par exemple, si l'on dépose dans une série de trois témoins positifs, l'effectif de cette population est de trois.

Période probatoire

La difficulté est celle de la validation analytique pendant la période probatoire voir au moment de changement de lot quand il y a rupture dans la carte de contrôle. Pendant cette période afin de ne pas se retrouver confronté à un vide dans la validation analytique quant à l'analyse des résultats des valeurs de témoins et contrôle, il est proposé la solution suivante et ceci quelque soit la taille et la périodicité des séries :

Avec les résultats obtenus sur les trois première séries, réaliser un premier calcul de moyenne, écart type et calcul de limites. Puis, lors de la série suivante, cumuler les valeurs de témoins et contrôles avec les trois séries précédentes. On cumulera les valeurs avec un réajustement des limites à chaque série jusqu'à l'obtention minimale des 20 qui permettront de considérer le processus stabilisé pour obtenir des bornes définitives.

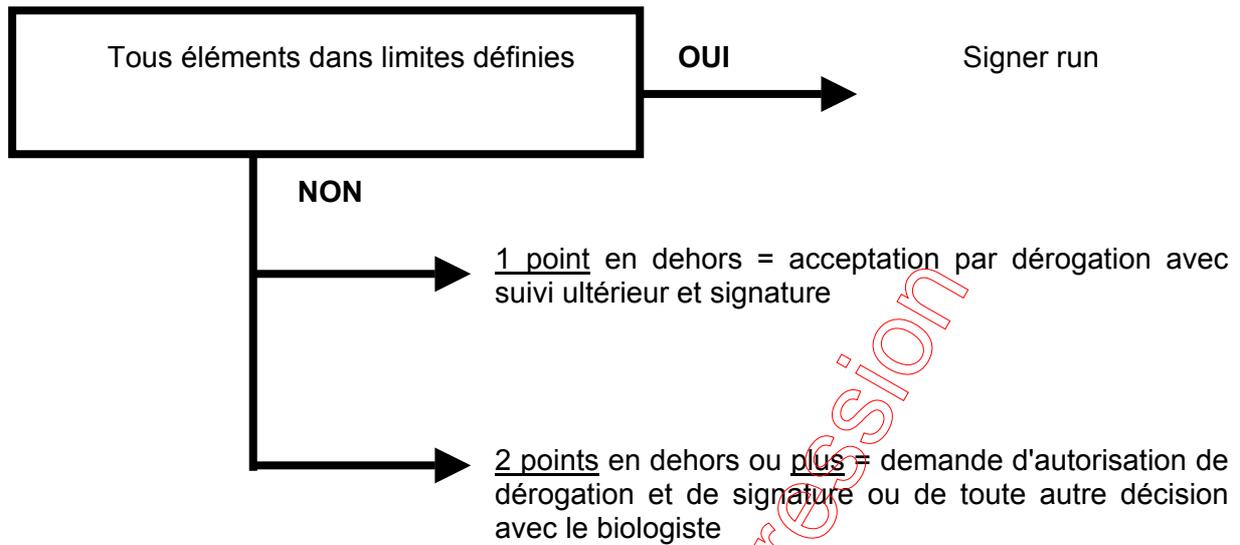
Aspect qualitatif

Pour les contrôles de suivi il est possible que certains résultats soient négatifs. En effet pour de faibles charges virales cela est possible et correspond à ce que l'on appelle simplement la loi du tout ou rien. Pour ce type d'échantillon un taux de détectabilité peut-être suivi. Ce taux est en accord avec celui qui aura été indiqué par le fabricant par exemple :

30% de rejet ou de non détectabilité sur le contrôle à 30 UI/ml d'ARN,
30% de rejet ou de non détectabilité sur le 55 copies/ml d'ARN du HIV1.

Il faut , pour considérer une série valide qu'au fur et à mesure ce pourcentage soit suivi et reste dans les limites définies.

11.3.2.4 Règles



Attention

Un oubli = un élément pris en compte en moins. Ceci est considéré comme un élément hors borne. Avec deux oublis, la série est à refaire.

Un changement de lot peut entraîner un décalage des valeurs des éléments pris en compte soit vers le haut soit vers le bas. Il est donc particulièrement recommandé une grande vigilance au moment des changements de lot. Un re-calcul de bornes ne pourra se faire qu'après acquisition des résultats de 20 séries, voire la possibilité citée ci-dessus telle que pendant la période probatoire.

Valide au jour de l'impression

12 MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE

Cette partie du guide est importante car si beaucoup d'informations et résultats sont collectés, ceux-ci doivent faire l'objet d'une procédure et document cohérent et clair, avec une acceptation formelle par le laboratoire de la validité opérationnelle de ses techniques.

- Présentation de la stratégie du contrôle de qualité. Les buts et les objectifs à atteindre.
- Détermination des spécifications ou limites acceptables (objectifs à atteindre).
- Mise en œuvre : matériaux, fréquence, règles, conduite à tenir en cas de rejets, ...
- Enregistrement et traitement statistique des données obtenues.
- Conclusion et décision quant à la validation opérationnelle de la technique au regard des limites acceptables fixées.

Valide au jour de l'impression

13 ANNEXE I – TABLEAUX DES SPECIFICATIONS POUR LES PRINCIPALES ANALYSES

13.1 Tableaux pour les principaux analytes de Biochimie (Vassault *et al.*, SFBC)

Ces tableaux de spécifications sont accessibles librement par le lien suivant,

[Ann Biol Clin 1999, 57 : 685-95.](#)

13.2 Tableaux pour les principaux analytes de Biologie Médicale (Ricos *et al.*)

Ces tableaux de spécifications, revus et mis à jour, sont accessibles librement par le lien suivant,

<http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.

Dans ces tableaux, seuls les limites souhaitables sont indiquées. Pour calculer les limites optimales et minimales, il convient d'utiliser les formules du § 9.6.1.3.1.

13.3 Tableaux pour les principales analyses de Biologie Médicale (CLIA)

Ces tableaux de spécifications sont accessibles librement par le lien suivant,

<http://www.westgard.com/clia.htm>.

Valide au jour de l'impression

14 ANNEXE II - DEFINITIONS

N.B. : Les définitions indiquées ci-après sont celles utilisées dans le présent guide, à l'exception de celles déjà mentionnées dans le "guide de validation des méthodes en Biologie Médicale" (LAB GTA 04).

Calibrage (d'un instrument de mesure) (4.29 VIM) : Positionnement matériel de chaque repère (éventuellement de certains repères principaux seulement) d'un instrument de mesure en fonction de la valeur correspondante du mesurande. Note Ne pas confondre "calibrage" et "étalonnage".

Echantillon : une ou plusieurs parties prélevées sur un système en vue de fournir des informations sur ce système, souvent pour servir de base à la décision concernant le système ou sa production.

Echantillon primaire (NF EN ISO 15189) : Spécimen = une ou plusieurs parties prélevées sur un système.

Etalon (VIM) : Mesure matérialisée, appareil de mesure, matériau de référence ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs d'une grandeur pour servir de référence.

Etalonner : réalisation d'étalonnage.

Etalonnage (VIM) : Ensemble des opérations établissant, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs de la grandeur indiquées par un appareil de mesure ou un système de mesure ou les valeurs représentées par une mesure matérialisée ou par un matériau de référence, et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisées par des étalons.

Sensibilité d'un signe biologique : C'est le rapport du nombre de malades qui présentent le signe sur le nombre total de malade. Un signe est d'autant plus sensible qu'il est souvent présent dans la population de malade. Idem sensibilité diagnostique.

Sensibilité d'une technique : Rapport de la variation de signal mesuré à l'unité de concentration de l'analyte étudié. Idem sensibilité analytique.

Spécificité analytique (NF EN ISO 17511) : Capacité d'un mode opératoire de mesure à déterminer le mesurande.

Spécimen (NF EN ISO 15189) : Pour éviter une confusion avec le terme échantillon (au sens : groupe d'individus extrait d'une population), il est préférable de parler de spécimen pour désigner un prélèvement biologique (spécimen de sang, spécimen d'urines...).

Vérification (NF EN ISO 9000) : Confirmation par des preuves tangibles que les exigences spécifiées ont été satisfaites.

15 ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE

15.1 Références réglementaires

Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. (GBEA), J.O. Numéro 287 du 11 décembre 1999, page 18441 ([NOR : MESP9923609A](#)).

Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. Numéro 104 du 4 Mai 2002, page 8375 ([NOR : SANP0221588A](#)).

Directive [98/79/CE](#) du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998, relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, JOCE 7.12.98, L.3317 1-37.

Statistical Quality Control for Quantitative measurements: Principle and Définitions, 2nd edition (février 1999), C24-A2, vol 19 (5), NCCLS.

Essential Criteria for Quality Systems of Medical Laboratories ([Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35\(2\): 123-132 © 1997](#)) Walter de Gruyter Berlin New York.

[CLIA](#) (Clinical Laboratory Improvement Amendments) regulation, (www.westgard.com/cliainfinalrule4.htm).

15.2 Références normatives générales

Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. NF EN ISO/CEI 17025: Mai 2000 ([AFNOR](#)).

Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 15189: Octobre 2003 ([AFNOR](#)).

Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM). NF ENV 13005: Août 1999 ([AFNOR](#)).

Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1-6, NF ISO 5725 (1-6): Décembre 1994 et rectificatifs techniques ([AFNOR](#)).

Application de la statistique – Carte de contrôle - Parties 0-4, NF X 06-031 (0-4): 1995 ([AFNOR](#)).

Estimer l'incertitude, Mesures et Essai. C. Perruchet et M. Priel, 2000, ([AFNOR](#)).

Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure. ISO/TS 21748: Mars 2004 ([AFNOR](#)).

Essais d'aptitude des laboratoires par intercomparaison - Partie 1 : développement et mise en oeuvre de systèmes d'essais d'aptitude. ISO/CEI GUIDE 43-1: Janvier 1997 ([AFNOR](#)).

Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire. NF EN ISO 9000 : Décembre 2000 ([AFNOR](#)).

Le REMIC, Référentiel en Microbiologie médicale (Bactériologie et Mycologie humaine), 2eme édition, janvier 2004 ([2M2](#)).

15.3 Documentation Cofrac - EA

[Document Cofrac LAB REF 02](#), "Accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 – Prescriptions".

[Document Cofrac LAB LABM REF 02](#), "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale selon la norme NF EN ISO 15189 – Prescriptions", en projet à la date de parution de ce guide.

[Document Cofrac LAB GTA 04](#), "Guide de validation des méthodes en Biologie Médicale".

Documents Cofrac d'accréditation Cofrac en Biologie Médicale (Programmes n° [143](#), [145](#), [147](#), [155](#) et [168](#), respectivement, [Analyses en Biochimie](#), [Analyses en Hématologie](#), [Analyses en Immunologie](#), [Analyses en Bactériologie](#), et [Analyses en Toxicologie et suivi thérapeutique pharmacologique](#)).

[Document Cofrac LAB REF 05](#), "Règlement d'accréditation", document décrivant le processus d'accréditation des laboratoires par le Cofrac.

[Document Cofrac LAB LABM REF 04](#), "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale suivant la norme ISO 15189 - Politique Cofrac".

Document [EA-4/16](#) "Lignes directrices d'EA pour l'expression de l'incertitude des résultats d'essais quantitatifs".

15.4 Contrôle de qualité

Cartes de contrôle de Shewhart, ISO 8258: Décembre 1991 et rectificatif technique 1, ISO 8258/AC1: Avril 1993 ([ISO](#)).

Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires. ISO/FDIS 13528: 2005 ([ISO](#)).

Guide pratique pour la validation, le contrôle qualité, et l'estimation de l'incertitude d'une méthode d'analyse analytique usuelle. M. M Dubernet, juin 2003, FV 1189, [OIV](#).

Guide EURACHEM/CITAC, Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques, 2eme édition, 2000 (www.lne.fr).

15.5 Contrôle de qualité en Biologie Médicale

The use of control charts in the clinical laboratory, S. Levey et E.R. Jennings, AM J Clin Pathol 1950, 20 : 1059-66.

Graphical diagnosis of interlaboratory test results, W.J. Youden, Industrial Quality Control, 1959, 15 : 24-28.

The sample, the procedure, and the laboratory, W.J. Youden, Anal Chem, 1960. 13 : 23-37.

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.](#)

Internal quality control: planning and implementation strategies, J.O. Westgard, Ann Clin Biochem, 2003, 40 : 593-611.

A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry, J.O. Westgard, P.L. Barry, M.R. Hunt, T. Groth, Clin Chem, 1981, 27/1 : 493-501.

Cost-effective quality control : managing the quality and productivity of analytical processes, J.O. Westgard, P.L. Barry, AACC Press, 1986, ISBN 0 915274 35 3.

Power functions for statistical control rules, J.O. Westgard, T. Groth, Clin Chem, 1979, 25/6 : 883-889.

Charts of operational process specifications ("OPSpecs Charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria, J.O. Westgard, Clin Chem, 1992, 38/7 : 1226-1233.

Six sigma quality design & control – Desirable precision and requisite QC for laboratory measurement processes, J.O. Westgard, Westgard QC Inc., 2001, ISBN 1 886958 16 5.

Biological Variation: From Principles to Practice, C.G. Fraser, Washington, DC: AACC Press, 2001, ISBN 1-890883-49-2.

Current databases on biological variation : pros, cons and progress, C. Ricos, V. Alvarez, F. Cava, J.V. Garcia-Lario, A. Hernandez, C.V. Jimenez, J. Minchinela, C. Perich, M. Simon, Scand J Clin Lab Invest 1999, 59 : 491-500.

Requirements for Reproducibility, Trueness and Error of Measurement in Internal Quality Control Schemes, P. Bonvicini, P. Merus, M.A. Pavon, T. Massimo, Clin Chem Lab Med 2003, 41 (5) : 693-699.

Proposed quality specifications for the acceptability of analytical systems for clinical chemistry, C.G. Fraser, P. Hyltoft Petersen, C. Ricos, R. Haeckel, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992, 30 : 311-317.

Variability of the biological variation, X. Fuentes-Arderiu, Scand J Clin Lab Invest 2002, 62 : 561-564.

CLIA Final Rule, Part IX – Appropriate QC Procedures, <http://www.westgard.com/cliainfinalrule9.htm>

Démystifier Six Sigma, comment améliorer vos processus, James Lamprecht, 2003, Edition AFNOR.

The Use of Patient Data for Process Control: It's Time has Arrived, G.S. Cembrowski, Clin Chem 2000, 46(No. 6 Supplement) : S18-S19.

The 'average of normals' method of quality control, R.G. Hoffman et M.E. Waid, Am J Clin Pathol 1984, 81 : 492-499.

Assessment of "average of normals" quality control procedures and guidelines for implementation, G.S. Cembrowski, E.P. Chandler, J.O. Westgard, Am J Clin Pathol 1984, 81 : 492-497.

Design and assessment of average of normals (AON) patient data algorithms to maximize run lengths for automatic process control, J.O. Westgard, F.A. Smith, P.J. Mountain, S. Boss, Clin Chem 1996, 42 : 1683-1688.

Exponentially adjusted moving mean procedure for quality control: an optimized patient sample control procedure, F.A. Smith, S.H. Kroft, Am J Clin Pathol, 1996, 105 : 44-51.

Le contrôle de qualité interne au laboratoire : progrès et perspective, Ph. Marquis, 2002, JIB, Paris.

Contrôle de qualité interne : faux rejets et période préliminaire P. Marquis, Ann Biol Clin. Volume 59, Numéro 2, 214-8, Mars - Avril 2001

Clinicals Laboratory Standards Institute (ex NCCLS) : Quality control commercially prepared M22 A3, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility, tests M2 A8.

NCCLS Guidelines: EP-10-T 1989 (clinical chemistry). LA1-A2 1994 (radioimmunoassays). EP5-T2 1992 (clinical chemistry analysers).

Manual of clinical Microbiology, Balows, A. Hausler, W.J. Hermann, K.L. Iseberg, H.D. Ishadomy, H.J. 1991., (5ed). ASM, Washington, DC.

Evolving approaches to management of Quality in clinical microbiology, Bartlett R.C., MarySullivan M., Clin. Microbiol. Review, janv 1994, 7, 1: 55-88.

Anticrobial susceptibility testing, New item in the field of European standardisation, Charler-Bret N., Poisson F., dec 2004, RICAI congrès, Paris.

Résultats d'une étude multicentrique (pour les automates), Quentin C., Flandrois J.-P., Sirot J., in Flandrois J.-P., Courvalin, l'Antibiogramme Automatisé 1988, Vigot éditeur.

Technical recommendations for *in vitro* susceptibility testing, Clinical Microbiology and Infection, dec 1996, S16 Vol 2 supplement 1.

Practical application of an internal Quality Control using Sirscan 200 automatic system for antibiotic susceptibility tests, Honderlick P, Baheux S, Vignon D, Ghnassia JC, dec 2004, RICAI Congrès, Paris.

Disk Diffusion Susceptibility Testing, Quality Control in Clinical Microbiology Procedures Handbook, editor H.D. Iseberg ASM Press, Washington DC Suppl. Chap 5.1.10 - 5.1.12.

15.6 Sites Internet

James O. Westgard, PhD, www.westgard.com

Ph. Marquis, www.multiqc.com, www.marquis-soft.com

Société Française de Microbiologie, www.sfm.asso.org

LABAC, Réseau National des Laboratoires accrédités, www.labac.org

Cofrac, Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr

AFNOR, Association Française de Normalisation, www.afnor.fr

HAs, Haute Autorité de santé (ex ANAES), www.has-sante.fr

EA, European co-operation for Accreditation, www.european-accreditation.org

Valide au jour de l'impression