



HAL
open science

Mise en place de la norme NF EN ISO 15189 au laboratoire : application à la gestion des contrôles de qualité et à un changement de méthode de dosage

Rémi Seguès

► To cite this version:

Rémi Seguès. Mise en place de la norme NF EN ISO 15189 au laboratoire : application à la gestion des contrôles de qualité et à un changement de méthode de dosage. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01167478

HAL Id: dumas-01167478

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01167478>

Submitted on 24 Jun 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES MÉDICALES

Année 2015

N° 3032

**Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ÉTAT de DOCTEUR EN MÉDECINE**

Présentée et soutenue publiquement

Par SEGUÈS Rémi

Né le 07 Mai 1987 à Bordeaux

Le 05 Juin 2015

**MISE EN PLACE DE LA NORME NF EN ISO 15189
AU LABORATOIRE**

**APPLICATION À LA GESTION DES CONTROLES DE QUALITÉ
ET À UN CHANGEMENT DE MÉTHODE DE DOSAGE**

Directeur de thèse

Docteur Agnès GEORGES

Jury

Madame Laurence BORDENAVE, Professeur	Président
Monsieur Jean-Benoît CORCUFF, Docteur	Juge
Madame Sandrine DABERNAT, Docteur	Juge
Madame Emmanuelle CHAUZIT, Docteur	Juge
Madame Agnès GEORGES, Docteur	Juge
Madame Marie-Laure CURUTCHET-BURTIN, Docteur	Juge

REMERCIEMENTS

A Marina

Pour ton soutien de tous les jours. Tu remplis ma vie de bonheur.

A mes parents

Pour l'aide et le soutien que vous m'apportez.

A mon frère Vincent et ma sœur Elodie

Vous êtes des frères et sœurs idéaux pour moi.

Aux parents de Marina

Pour votre gentillesse et votre générosité.

A Marc et Vicky

Pour votre aide.

A mes amis, Jonathan, Denis et Cyril

Pour tous nos bons moments passés ensemble.

A mes oncles et tantes

Pour votre présence.

Aux biologistes et techniciens du service de médecine nucléaire

Pour votre aide précieuse dans la réalisation de ce travail.

Aux biologistes de Bayonne

Pour votre transmission de la passion de la biologie.

A mes collègues internes et chefs

Qui m'ont accompagné, initié et soutenu au cours de mon internat.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Madame le Professeur Laurence BORDENAVE

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef de service

Service de médecine nucléaire, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux

Nous tenons à vous remercier pour l'accueil que vous nous avez accordé au sein de votre service.

Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Recevez l'assurance de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A NOTRE DIRECTEUR DE THÈSE ET JUGE

Madame le Docteur Agnès GEORGES

Praticien Hospitalier

Service de médecine nucléaire, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux

Nous vous remercions de nous avoir confié ce travail et de nous avoir guidé tout au long de sa réalisation avec patience et bienveillance.

Nous avons été très sensible à votre grande disponibilité et aux précieux conseils que vous nous avez prodigués.

Que ce travail soit l'occasion de vous exprimer notre amitié et notre sincère gratitude.

A NOTRE RAPPORTEUR ET JUGE

Madame le Docteur Sandrine DABERNAT

Maitre de conférences des universités, Praticien Hospitalier

Service de biochimie, Hôpital Saint-André, CHU de Bordeaux

Vous avez accepté avec bienveillance de vous prononcer sur l'intérêt de ce travail.

Soyez assurée de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.

A NOS JUGES

Monsieur le Docteur Jean-Benoît CORCUFF

Maitre de conférences des universités, Praticien Hospitalier

Service de médecine nucléaire, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux

Nous vous remercions pour l'expertise que vous avez apportée dans la réalisation de ce travail.

Vous nous faites le grand plaisir de juger cette thèse.

Veillez recevoir le témoignage de notre profond respect.

Madame le Docteur Emmanuelle CHAUZIT

Praticien Hospitalier

Service de pharmacologie médicale, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux

Nous vous remercions d'avoir participé à l'encadrement de ce travail en tant que responsable assurance qualité.

Nous sommes sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de participer à ce jury.

Madame le Docteur Marie-Laure CURUTCHET-BURTIN

Praticien Hospitalier

Laboratoire de biologie médicale, Centre Hospitalier de la Côte Basque, Bayonne

Vous nous avez transmis de précieuses connaissances durant notre stage à Bayonne.

Vous avez accepté avec gentillesse de bien vouloir juger ce travail.

Nous vous en remercions très sincèrement.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES MATIÈRES	5
TABLE DES ILLUSTRATIONS	8
LISTE DES ABRÉVIATIONS	10
INTRODUCTION.....	12
PARTIE I : L'ACCREDITATION DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE MÉDICALE ..	14
1. Historique.....	15
1.1. Le contrôle national de qualité (1975).....	15
1.2. Le guide de bonne exécution des analyses (1994)	16
1.3. L'accréditation des établissements de santé (1996)	17
1.4. Les procédures volontaires d'accréditation ou de certification	18
1.5. Le rapport de l'inspection générale des affaires sociales (2006).....	19
1.6. Le rapport Ballereau (2008)	21
1.7. La réforme de la biologie médicale (2010)	22
2. L'accréditation	24
2.1. Définition.....	24
2.2. Le Comité Français d'Accréditation (COFRAC).....	25
2.3. La portée d'accréditation [20]	26
2.4. Traitement d'une demande d'accréditation [19,21]	27
2.5. Surveillance de l'accréditation	30
2.6. Suspension, résiliation et retrait de l'accréditation.....	30
3. Les documents de référence	31
3.1. Les référentiels opposables.....	31
3.2. La norme NF EN ISO 15189.....	32
3.3. Exigences relatives au management de la norme NF EN ISO 15189	32
3.4. Exigences techniques de la norme NF EN ISO 15189.....	33
3.5. Les guides techniques d'accréditation (GTA).....	34
4. Démarche d'accréditation du pôle de biologie du CHU de Bordeaux [29]	35
4.1. Le pôle de Biologie et Pathologie du CHU de Bordeaux.....	35
4.2. Le système de management de la qualité	37
4.3. Le système d'amélioration continue.....	39

PARTIE II : MISE EN OEUVRE DE L'ACCREDITATION AU LABORATOIRE D'HORMONOLOGIE – MARQUEURS TUMORAUX.....	40
1. Contexte	41
2. Performance des méthodes de dosage.....	42
3. Contrôles internes de qualité	44
3.1. Exigences.....	44
3.2. Objectifs du contrôle interne de qualité.....	45
3.3. Le programme de CIQ préexistant du laboratoire	46
3.4. Dispositions à mettre en place.....	47
3.5. Les échantillons de CIQ [32].....	48
3.6. Définition des séries de dosage et du rythme de passage des CIQ.....	49
3.7. Détermination des limites acceptables	49
3.8. Contrôle des performances de fidélité.....	50
3.9. Règles d'interprétation	51
3.10. Interprétation immédiate	52
3.11. Causes d'erreurs	52
3.12. Etude d'impact sur les échantillons des patients	54
3.13. Revue des CIQ.....	55
3.14. Paramétrage informatique	56
3.15. Révision de la procédure	57
3.16. L'évaluation sur site du COFRAC	58
3.17. Discussion	59
4. Comparaisons inter-laboratoires et évaluation externe de la qualité.....	67
4.1. Exigences.....	67
4.2. Définitions.....	68
4.3. Objectifs des CIL.....	69
4.4. Organisation initiale de la gestion des EEQ au laboratoire	69
4.5. Dispositions à mettre en place.....	70
4.6. Programmes d'EEQ et plan de participation	70
4.7. Prise en charge des échantillons d'EEQ.....	71
4.8. Interprétation des résultats et limites d'acceptabilité	72
4.9. Conduite à tenir en cas d'EEQ non-conforme.....	73
4.10. Traçabilité des non-conformités	74
4.11. Information du personnel	74

4.12.	Revue des résultats d'EEQ et évaluation des organisateurs	74
4.13.	Autres données obtenues à partir des résultats des EEQ	74
4.14.	Discussion	75
5.	Vérification initiale d'une méthode analytique : cas du changement de méthode de dosage de la thyroglobuline.....	78
5.1.	La thyroglobuline : physiologie et intérêt clinique [54].....	78
5.2.	Dosage de Tg ultrasensible.....	78
5.3.	Vérification de méthode : exigences [57].....	79
5.4.	Intérêt de la vérification de méthode	79
5.5.	Matériel et méthodes	80
5.6.	Résultats (hors comparaison de méthode).....	83
5.7.	Comparaison des 2 méthodes de dosage	84
5.8.	Impact des performances observées sur le suivi des patients	85
5.9.	Mise en routine de la nouvelle méthode.....	85
5.10.	Discussion	86
	CONCLUSION	90
	BIBLIOGRAPHIE	92
	SERMENT D'HIPPOCRATE	97

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Organisation du COFRAC.....	25
Figure 2 : Cycle de vie d'une accréditation [18].....	29
Figure 3 : Organigramme du Pôle de Biologie et Pathologie	35
Figure 4 : Organisation qualité du pôle de biologie et pathologie	37
Figure 5 : Cartographie des processus.....	37
Figure 6 : Organisation matricielle.....	38
Figure 7 : Roue de Deming et principe de l'amélioration continue	39
Figure 8 : Système d'amélioration continue (niveau stratégique)	39
Figure 9 : Système d'amélioration continue (niveau opérationnel).....	39
Figure 10 : Performances d'une technique évaluables à partir des données de CQ.....	42
Figure 11 : Influence de la fidélité et de la justesse [61].....	42
Figure 12 : Représentation de Levey-Jennings	51
Figure 13 : Les règles de Westgard.....	51
Figure 14 : Interprétation immédiate des CIQ (version 1).....	52
Figure 15 : Interprétation des diagrammes de Levey-Jennings.....	53
Figure 16 : Tableur utilisé pour les comparaisons de résultats d'échantillons de patients	55
Figure 17 : Module CQ de RIALISME.....	56
Figure 18 : Traçabilité des règles d'alarme de Westgard dans RIALISME.....	57
Figure 19 : Logigrammes d'interprétation des CIQ en début (haut) et en fin de série (bas) ...	58
Figure 20 : Logigramme d'interprétation des CIQ de début de série (version 3)	59
Figure 21 : Exemple de tableur de suivi des EEQ pour la 25-OH-vitamine D	72
Figure 22 : Suivi du z-score pour la 25-OH-vitamine D.....	72
Figure 23 : Conduite à tenir en cas d'EEQ non-conforme.....	73
Figure 24 : Système de notation de ProBioQual	76
Figure 25 : Comparaison des dosages de Tg : Diagramme des différences.....	84
Figure 26 : Comparaison des dosages de Tg : Régression de Passing-Bablok	84
Figure 27 : Comparaison des moyennes des paires des 2 méthodes de dosage de Tg sur les échantillons d'EEQ de ProBioQual	85
Figure 28 : Dispersion de valeurs de Tg observées sur un échantillon d'EEQ de ProBioQual	89
Figure 29 : Schéma hypothétique de la sécrétion de la Tg selon la situation de la thyroïde....	89

Tableau 1 : Différence certification – accréditation.....	18
Tableau 2 : Conclusions de l'analyse de risque.....	41
Tableau 3 : Nombre de niveaux de CIQ par paramètre.....	48
Tableau 4 : Rythme de passage des CIQ sur les automates DXI et LIAISON	49
Tableau 5 : Rythme de passage des CIQ sur l'automate IMMULITE.....	49
Tableau 6 : Limites acceptables de fidélité intermédiaire.....	50
Tableau 7 : Rythme de passage des CIQ sur les automates DXI et LIAISON (version 2).....	57
Tableau 8 : Etude d'impact sur les échantillons de TSH	59
Tableau 9 : Exigences cliniques [49]	63
Tableau 10 : Modèle de CG Fraser [44].....	63
Tableau 11 : Programme d'EEQ du laboratoire.....	71
Tableau 12 : Suivi de non-conformité des EEQ.....	74
Tableau 13 : Vérification/validation initiale d'une méthode quantitative.....	80
Tableau 14 : Limites acceptables de CV de fidélité pour la thyroglobuline	81
Tableau 15 : Performances observées de fidélité et d'incertitude de mesure du kit <i>thyroglobulin</i> Beckman	83
Tableau 16 : Evaluation de l'exactitude du kit <i>thyroglobulin</i> Beckman.....	83
Tableau 17 : Etude de la contamination inter échantillon du kit <i>thyroglobulin</i> Beckman.....	83
Tableau 18 : Limite de quantification basse du kit <i>thyroglobulin</i> Beckman	83
Tableau 19 : Etude de la limite supérieure de linéarité du kit <i>thyroglobulin</i> Beckman.....	83
Tableau 20 : Valeurs moyennes de Tg obtenues sur les 2 solutions de contrôle du kit CisBio IRMA	85
Tableau 21 : Comparaison d'échantillons contenant des anticorps anti-thyroglobuline	85
Tableau 22 : Valeurs attendues de Tg dans les solutions de contrôle commerciales.....	87
Tableau 23 : Comparaison de méthode : résultats des dosages de Tg par échantillon	88

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
APLAC : Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation
ARS : Agence Régionale de Santé
CAQ : Correspondant Assurance Qualité
CDT : Cancer Différencié de la Thyroïde
CE (marquage) : Conformité Européenne
CEN : Comité Européen de Normalisation
CIL : Comparaison inter-laboratoire
CNQ : Contrôle National de Qualité
CIQ : Contrôle de Qualité Interne
CIQE : Contrôle de Qualité Interne Externalisé
COFRAC : Comité Français d'Accréditation
CQ : Contrôle de qualité
CS : Comité de Section
CSP : Code de la Santé Publique
CTA : Comité Technique d'Accréditation
DGS : Direction Générale de la Santé
DM-DIV : Dispositif Médical de Diagnostic In Vitro
EA : European co-operation for Accrediation
ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines
EEQ : Evaluation Externe de la Qualité
EPO : Erythropoïétine
FIV : Fécondations In Vitro
GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses
GTA : Guides Techniques d'Accréditation
HAS : Haute Autorité de Santé
HPST (loi) : loi « Hôpital, Patients, Santé, Territoires »
IGAS : Inspection Générale des Affaires Sociales
ILAC : International Laboratory Accreditation Cooperation
INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

IRMA : Immuno Radio Metric Assay
ISO : International Organisation for Standardization
JO : Journal Officiel
LABM : Laboratoire d'Analyse de Biologie Médicale
LBM : Laboratoire de Biologie Médicale
NFS : Numération Formule Sanguine
RAQ : Responsable Assurance Qualité
SIL : Système Informatique de Laboratoire
SMQ : Système de Management de la Qualité
T21 : Trisomie 21
Tg : Thyroglobuline
VPN : Valeur Prédictive Négative

INTRODUCTION

L'acte de biologie médicale s'inscrit dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique. Le biologiste assure la responsabilité de cet acte qui inclut le prélèvement, l'exécution de l'analyse, la validation des résultats, et si nécessaire leur confrontation avec les données cliniques et biologiques des patients. Il participe par ses commentaires, le cas échéant, à l'interprétation des résultats de l'analyse de biologie médicale. Ces résultats concourent au diagnostic et à la prescription des soins. C'est pourquoi la recherche de la qualité doit être une préoccupation essentielle et constante du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire [1].

La qualité se définit comme l'aptitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu, à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur. Dans le domaine de la biologie médicale, c'est l'adéquation entre les moyens mis en œuvre et les informations attendues par le médecin prescripteur, ainsi que la réponse aux attentes du patient [1].

L'objectif de l'accréditation en biologie médicale est de garantir la fiabilité des examens de biologie médicale réalisés et la qualité de la prestation médicale offerte par un laboratoire de biologie médicale [2].

La loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale (L.6221-1 CSP) rend obligatoire l'accréditation des laboratoires de biologie médicale sur l'ensemble de l'activité qu'ils réalisent [2]. Cette accréditation est délivrée par le Comité français d'accréditation (COFRAC) et repose sur des normes internationales (ISO) validées par l'union européenne (EN) et la France (NF) : NF EN ISO 15189 pour les laboratoires de biologie médicale (LBM) et NF EN ISO 22870 pour les examens de biologie médicale délocalisés [3].

Le pôle de biologie et pathologie (PBP) du CHU de Bordeaux, considéré comme une seule entité « *Laboratoire* », a reçu la visite initiale du COFRAC en Septembre 2014. Nous avons effectué un stage d'interne dans le laboratoire d'Hormonologie – Marqueurs Tumoraux du CHU de Bordeaux du 1^{er} mai 2014 au 31 octobre 2014. Ce laboratoire faisant partie du

périmètre des secteurs devant être audités, il était nécessaire de le mettre en conformité avec les exigences de la norme NF EN ISO 15189. La maîtrise du processus analytique est une des exigences clé de cette norme. Ainsi, après vérification ou validation initiale d'une méthode, le contrôle de qualité constitue un moyen de vérification en continu de la maîtrise de ce processus. Cette vérification continue apporte une confirmation et une preuve permanentes de la fiabilité des résultats rendus.

L'objet de ce travail est de présenter les moyens que nous avons mis en œuvre pour répondre à certaines exigences de la norme au laboratoire d'hormonologie – Marqueurs Tumoraux en vue de la visite d'accréditation du mois de septembre 2014.

Dans la première partie du document, nous décrivons le contexte historique et les modalités générales pour l'obtention d'une accréditation par les laboratoires de biologie médicale, ainsi que la mise en œuvre de la démarche d'accréditation du pôle de biologie du CHU de Bordeaux.

Dans une deuxième partie plus personnelle, nous présenterons les différentes actions que nous avons menées dans le laboratoire d'hormonologie et qui ont contribué à la mise en œuvre d'une procédure de gestion des contrôles de qualité ainsi qu'à une vérification initiale de méthode à l'occasion du changement de technique de dosage pour la thyroglobuline.

PARTIE I : L'ACCRÉDITATION DES
LABORATOIRES DE BIOLOGIE MÉDICALE

1. Historique

1.1. Le contrôle national de qualité (1975)

La loi du 11 Juillet 1975 relative aux « laboratoires d'analyses de biologie médicale et à leurs directeurs et directeurs adjoints » définit le fonctionnement et l'organisation de la biologie médicale [4]. Elle impose aux laboratoires français d'analyses médicales de participer à une évaluation externe de la qualité.

Article L. 761-13 CSP – « Le contrôle des laboratoires est assuré par les médecins et pharmaciens inspecteurs de la santé et par l'inspection générale des Affaires Sociales. Il est institué, en outre, un contrôle de la bonne exécution des analyses de biologie médicale, dont les modalités sont fixées par décret. »,

Article L. 761.14 CSP – « Le contrôle de qualité des analyses est, selon les modalités fixées par décret, assuré par des organismes publics ou privés agréés par le ministre de la santé, après avis de la Commission Nationale permanente de biologie médicale [...] »,

Article L. 761-20 CSP – « Quiconque ne se soumet pas au contrôle institué par l'article L. 761.14 ou fait obstacle aux fonctions des inspecteurs mentionnés à l'article L. 761-13 est passible des peines prévues à l'article L. 761-18 ».

Ce n'est qu'en 1978 que le Contrôle national de qualité (CNQ) est devenu légalement obligatoire (décret du 7 décembre 1978) [5]. Ce contrôle était alors organisé par le laboratoire national de la santé avec l'assistance de sociétés savantes agréées.

Article 1 – « Le contrôle de qualité des analyses de biologie médicale institué par l'article L. 761-14 du code de la santé publique a pour but de déterminer la valeur des résultats des analyses exécutées par chacun des laboratoires qui y est soumis, compte tenu des techniques, des réactifs et du matériel employés, en les comparant le cas échéant avec les résultats obtenus par l'ensemble des laboratoires habilités à exécuter les mêmes catégories d'analyses.

Il tend, d'une part, à assurer la fiabilité et le perfectionnement des analyses de biologie médicale dans l'intérêt général de la santé publique et, d'autre part, à permettre à chaque laboratoire de vérifier la valeur de ses techniques et son bon fonctionnement. »

Article 7 - « Lorsque les résultats d'un laboratoire présentent des anomalies répétées et importantes au regard de leur utilisation médicale, le cas de ce laboratoire est soumis anonymement à la commission du contrôle de qualité, dont l'avis est transmis au ministre chargé de la santé publique. »

L'Agence du médicament a repris cette activité lors de sa création en 1993 (loi 93-5 du 4 janvier 1993). L'organisation de ce contrôle a été définie dans le décret 94-1049 du 2 décembre 1994 (décret relatif au contrôle de qualité des analyses de biologie médicale) ainsi que dans le Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA).

1.2. Le guide de bonne exécution des analyses (1994)

Le 2 Novembre 1994, l'arrêté relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale paraît dans le Journal Officiel [1]. Le guide de bonne exécution des analyses, texte de spécificité française, impose un système d'assurance qualité aux laboratoires de biologie médicale. Une première version du guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale est donnée par cet arrêté. Une deuxième version en est donnée par l'arrêté du 26 novembre 1999 (JO 11 déc.). Les évolutions portent principalement sur l'instrumentation, notamment le suivi métrologique des équipements, la gestion des réactifs, l'informatique, le transport des échantillons biologiques et la mise en œuvre des techniques moléculaires. Cette deuxième version a été modifiée par arrêté du 26 avril 2002 (J.O. du 4 mai 2002), prenant alors en compte les secteurs d'immunohématologie.

Le Guide de bonne exécution des analyses (GBEA) est un référentiel officiel et opposable qui impose aux laboratoires de biologie médicale publics et privés la mise en place d'une réflexion et d'une formalisation des pratiques dans un cadre obligatoire et réglementaire. Ce guide porte aussi bien sur le personnel (organigramme, compétence, sécurité) que sur les installations (aménagement, entretien, sécurité) ou les équipements (instrumentation, matériels et réactifs, informatique) sans oublier l'élimination des déchets. Le champ d'application du GBEA s'étend à l'ensemble des opérations réalisées au sein du laboratoire pour permettre une maîtrise de la plupart des événements pré et post-analytiques :

- prélèvement, identification, transport et conservation des échantillons biologiques
- validation des résultats
- expression des résultats et comptes rendus d'analyses
- transmission des résultats

Pour chacune de ces étapes, il doit être établi des procédures et des modes opératoires, ce qui implique le passage de la tradition orale à une communication écrite (« écrire ce que l'on fait »), à la mise en œuvre de la documentation externe (« faire ce que l'on écrit ») et à la traçabilité des activités (« apporter la preuve de ce qui a été fait »). Les règles et recommandations contenues dans ce guide de bonne exécution des analyses de biologie

médicale n'ont pas pour but d'imposer au biologiste l'emploi de telle ou telle technique, choix qui relève de la compétence du biologiste.

Le GBEA bouscule les habitudes des biologistes quant à leur perception de la qualité. Le contrôle de bonne exécution des analyses vise à vérifier non pas le résultat de l'acte de biologie mais les pratiques qui ont permis d'y arriver. Ce contrôle de bonne exécution des analyses se fonde sur l'obligation de moyens à laquelle est soumis le biologiste dans l'exécution des actes : mise en œuvre d'une technique correcte, d'un personnel qualifié, de fourniture convenable et réelle exécution de l'examen [6]. La partie assurance qualité du GBEA est très succincte. Le GBEA impose au biologiste d'organiser des contrôles internes de qualité (CIQ) et de participer au contrôle national de qualité (CNQ) obligatoire. Par ailleurs, il recommande que le LABM participe à des programmes d'EEQ organisés par des sociétés scientifiques, des groupements de biologistes ou tout autre organisme présentant les garanties nécessaires.

Le contrôle de la conformité des LABM au GBEA est prévu par les articles L. 6213-1 et suivants du CSP. Il est assuré par les Pharmaciens Inspecteurs de Santé Publique, les Médecins Inspecteurs de Santé Publique et par l'IGAS [7]. Deux types d'inspections sont à distinguer : les inspections de routine et les inspections «signalement» (enquêtes CNQ, plaintes, etc.). Une procédure nationale explicite la méthodologie d'inspection et inclut un guide d'inspection des laboratoires.

Dans l'attente de l'accréditation obligatoire qui repose sur les normes NF EN ISO 15189 et NF EN ISO 22870, le Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) reste le référentiel opposable à tout laboratoire de biologie médicale.

1.3. L'accréditation des établissements de santé (1996)

Introduite au sein du système de santé français par l'ordonnance n° 96-346 du 24 avril 1996 portant réforme hospitalière et précisée par le décret n° 97-311 du 7 avril 1997, la procédure d'accréditation est une procédure d'évaluation externe effectuée par des professionnels de façon indépendante de l'établissement et de ses organismes de tutelle. L'évaluation concerne l'ensemble de son fonctionnement et de ses pratiques [8]. Elle a pour objectif de s'assurer que les établissements de santé développent une démarche d'amélioration continue de la qualité et de la sécurité des soins délivrés aux patients. Pour mener à bien cette mission d'accréditation, l'ANAES s'appuie sur un manuel d'accréditation [9] composé, d'une part, de l'exposé des objectifs et des principes de conduite de la démarche, d'autre part, des référentiels, élaborés

Accréditation - certification : similitudes et différences

	Certification (Qualité)	Accréditation
Démarche volontaire/réglementaire	Oui	Oui
	<ul style="list-style-type: none"> - Apporte un plus en interne - Meilleure réponse aux clients - Instauration dans le travail réalisé grâce à l'organisation - Exigence par certains clients et bailleurs de fonds 	<ul style="list-style-type: none"> - Apporte un plus en interne - Meilleure réponse aux clients - Instauration dans les prestations réalisées grâce au contrôle de conformité du produit du point de vue de la compétence technique - Exigence par les pouvoirs publics comme préalable à un agrément, application d'une réglementation nationale
Délivrance	<ul style="list-style-type: none"> - Organisme certificateur, lui-même accrédité - Activité lucrative, politique commerciale - Audit de conformité à une norme - Auditeur 	<ul style="list-style-type: none"> - Organisme d'accréditation : en France le Comité Français d'Accréditation - Activité à but non lucratif - Audit de conformité à une norme - Experts indépendants
Ce qui est attesté	Attestation qu'une organisation est conforme aux exigences d'un référentiel	Attestation que l'organisme est convenablement organisé pour remplir ses tâches et techniquement compétent dans le domaine. Pour les laboratoires, elle atteste également du raccordement des mesures effectuées au Système International d'Unités (SI)
Activités concernées	Concerne toute activité sur un périmètre choisi	Concerne les activités d'essais, d'étalonnage ou d'inspection sur une portée choisie (souvent qu'une partie des activités d'essais, d'étalonnage ou d'inspection)
Logo	Ne jamais apposer le logo du certificateur sur le produit (rapport de résultats, etc.)	Toujours apposer le logo de l'accréditeur sur le produit (rapport d'essais, d'étalonnage etc) pour que la prestation soit bien considérée comme étant couverte par l'accréditation.

Eva Giesen, Réseau Inserm Qualité, mars 2011

Tableau 1 : Différence certification – accréditation

par des professionnels du système de santé, qui seront utilisés pour apprécier la dynamique qualité de chaque établissement de santé. Les laboratoires implantés dans un établissement de santé doivent prendre en compte les exigences de ce manuel : il s'agit d'une accréditation qui concerne l'établissement dans sa globalité et met l'accent sur la coordination des différents secteurs entre eux, dans le cadre de la prise en charge du patient.

Cette mission a été reprise par la HAS créée par la loi n°2004-810 du 13 Aout 2004. Une nouvelle version du manuel est publiée [10]. Le manuel de la deuxième procédure d'accréditation s'adresse aux établissements ayant achevé leur première procédure d'accréditation. Il renforce les références sur l'évaluation des pratiques professionnelles et celles sur la gestion des risques. Cette loi a également choisi de remplacer le terme « accréditation » par « certification ».

1.4. Les procédures volontaires d'accréditation ou de certification

En complément des démarches qualité obligatoires (GBEA, Manuel d'accréditation de l'ANAES), les laboratoires peuvent choisir d'approfondir leur démarche en s'engageant dans des procédures volontaires de :

- certification basée sur la norme NF ISO 9001 (*Systèmes de management de la qualité - Exigences*) dès 1987
- accréditation basée sur les normes NF ISO/CEI 17025 (*Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*) dès 2000 ou NF ISO 15189 (*Laboratoires d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence*) à partir de 2003.

Si l'accréditation et la certification sont complémentaires et procèdent de la même méthodologie, elles n'ont pas les mêmes objectifs ni la même finalité (Tableau 1) [11] :

La certification est une attestation réalisée par une tierce partie relative à des produits, des processus, des systèmes ou des personnes.

L'accréditation est une attestation délivrée par une tierce partie, ayant rapport à un organisme d'évaluation de la conformité, constituant une reconnaissance formelle de la compétence de ce dernier à réaliser des activités spécifiques.

L'accréditation va donc plus loin en apportant, outre la reconnaissance de la conformité du système qualité, celle de la compétence des personnels, hommes et femmes du site concerné. Elle vise à faire reconnaître non seulement que le postulant est organisé, mais aussi qu'il

exerce son activité selon une déontologie et des règles de l'art internationalement acceptées (impartialité, indépendance, compétence).

En France, la démarche d'accréditation est motivée par le souci de prouver la mise en place d'un système qualité et d'éliminer les risques et les coûts de la « non qualité ». Les bénéfices attendus sont la reconnaissance formelle des compétences techniques et du système de management de la qualité du laboratoire ainsi que l'amélioration des conditions de travail (gestion des dossiers, relation avec le personnel et leur implication dans la qualité).

L'organisme chargé de l'accréditation des LABM est le COFRAC, créé par les pouvoirs publics en 1994. Le LABM élabore un dossier de demande d'accréditation précisant notamment la (les) portée(s) d'accréditation souhaitée(s). S'en suit la signature d'une convention d'accréditation stipulant les engagements mutuels de l'organisme et du laboratoire candidat ainsi que le projet de portée d'accréditation accepté par le COFRAC. La visite d'évaluation, en accord avec le laboratoire, s'effectue par des auditeurs (qualiticiens et experts techniques). Le LABM, accrédité pour 5 ans (renouvelables), est soumis à des visites de surveillance tous les 18 mois et à une réévaluation quinquennale dont les résultats conditionnent le maintien, la suspension ou le retrait de son accréditation.

1.5. Le rapport de l'inspection générale des affaires sociales (2006)

En 2006, l'inspection générale des affaires sociales (IGAS) publie un rapport intitulé : « La biologie médicale en France : bilan et perspectives » [12]. Dans ce rapport, l'IGAS dresse un état des lieux de la biologie médicale, trente ans après la publication de la loi du 11 juillet 1975, afin de faire des propositions d'actualisation. A cette date, les laboratoires privés d'analyse de biologie médicale (LABM) sont au nombre de 3900.

Les principaux constats de ce rapport sont :

- l'obsolescence du cadre juridique tel qu'il résulte de la loi de 1975 : l'autorisation d'ouvrir un LABM est subordonnée à des normes anciennes qui sont devenues inadaptées au regard de l'évolution technologique de la biologie (automatisation).
- le coût élevé des actes de biologie médicale : Les modalités de prise en charge par l'assurance maladie sont coûteuses et critiquables. Les examens les plus couramment prescrits (NFS, ECBU, glycémie) sont deux à trois fois plus chers dans notre pays que chez nos voisins.
- une proximité et un service rendu inhomogènes : la présence du biologiste n'est pas toujours effective pendant les heures d'ouverture du laboratoire ; le délai de compte

rendu est variable ; la permanence du service n'est assurée que dans les grands LABM travaillant avec des cliniques privées. Enfin la liberté d'installation conduit à ce que les biologistes installent les LABM là où ils le souhaitent, et notamment dans les villes de faculté et les régions méditerranéennes côtières, mais pas forcément là où ils sont utiles.

- les lacunes en matière de qualité :

- manque de maîtrise des trois phases de l'examen biologique et en particulier du prélèvement des personnes les plus malades (erreurs fréquentes à ce stade)
- formation continue insuffisamment suivie (39% seulement des biologistes libéraux en 2003)
- retard à la mise en œuvre des bonnes pratiques du GBEA pour 2700 LABM sur 3900.
- seulement 2% des LABM sont accrédités volontairement selon la norme qui s'applique aux laboratoires d'échantillonnage (ISO 17 025) ou celle spécifique aux LABM (ISO 15189), ce qui place notre pays en retard par rapport à nos voisins
- concernant le contrôle national de qualité obligatoire, chaque année 200 à 500 LABM n'y participent pas. Quand il y a participation, l'importance des erreurs faites dans le cadre des réponses au CNQ est sous-estimée. Des erreurs graves ont pu être effectuées sans que les corrections ne soient systématiques.
- les inspections ne sont pas conduites en nombre suffisant pour empêcher les LABM posant problème de poursuivre leur activité sans, pour autant, modifier leurs pratiques (une inspection tous les 20 ans pour chaque LABM compte tenu du faible effectif d'inspecteurs). Par ailleurs Ordres et tribunaux sanctionnent peu les dysfonctionnements graves constatés.
- au total en matière de qualité, on estime qu'environ 100 LABM totalement ou partiellement accrédités ISO remplissent les critères, que 2000 LABM réalisent de vrais efforts pour appliquer les bonnes pratiques et qu'en revanche entre 200 et 500 laboratoires ont un fonctionnement à risque. Quant aux 1300 à 1500 restants, souvent petits et dirigés par un seul biologiste, ils ne sont pas en mesure de remplir les conditions de qualité.

Le rapport propose donc de réaliser une réforme de grande ampleur avec comme principal objectif la qualité des examens au meilleur coût.

Les principales propositions sont de :

- réguler l'évolution des dépenses en conjuguant une évolution étayée du prix du B, utilisé comme un outil de régulation des dépenses, avec la remise à plat de la nomenclature.
- imposer le respect de la qualité comme principale norme en se référant dans un premier temps au seul GBEA, puis à terme (5 ans) à la norme internationale des laboratoires d'analyse médicale, ISO 15189, que les pouvoirs publics devraient rendre obligatoire dans ce délai.
- modifier le régime d'autorisation d'ouverture des laboratoires en rendant obligatoire la conformité au GBEA puis à l'accréditation par le COFRAC après avoir vérifié les diplômes et les effectifs de biologistes.
- renforcer l'efficacité de la tutelle en désignant au sein de l'administration centrale un seul chef de file, qui pourrait être la direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins (DHOS), afin de regrouper les attributions jusqu'ici éparpillées entre les différentes directions.

1.6. Le rapport Ballereau (2008)

Au vu du rapport de l'IGAS, le 9 janvier 2008, Roselyne Bachelot-Narquin, ministre de la santé, de la jeunesse et des sports, confiait par lettre de mission, à Michel Ballereau, conseiller général des établissements de santé, le soin de proposer les réformes nécessaires, et plus particulièrement d'étudier les modalités de garantie de la qualité de la biologie médicale en France, de l'organisation de l'offre de soins de la discipline et les conditions de son financement [6]. Le 23 septembre 2008, M. Ballereau rendait son rapport intitulé « Pour un projet de réforme de la biologie médicale » [13]. Dans ce rapport il propose comme orientations principales :

- la reconnaissance de la biologie médicale comme une discipline médicale, exercée au bénéfice des patients par des médecins et des pharmaciens biologistes auxquels le clinicien communique les éléments de contexte pertinents afin de rendre un résultat, bien sûr validé biologiquement, mais également interprété en fonction des éléments cliniques. Le caractère médical de la discipline doit être renforcé et les compétences des professionnels de santé qui l'exercent, fondés sur plus de dix ans de formation initiale et sur une formation continue obligatoire, doivent être valorisées et mieux utilisées pour améliorer la pertinence du diagnostic et du suivi. Dans un cadre de

coopération avec le clinicien, le biologiste médical acquiert la possibilité d'amender les prescriptions mal adaptées à la question clinique posée. Il est rappelé que la biologie médicale n'est pas un service mais une prestation médicale, et qu'à ce titre la pratique des ristournes doit être supprimée.

- l'accréditation obligatoire pour tous les laboratoires de biologie médicale sur la totalité des examens, dont le but est le passage d'une obligation de moyens à une obligation de résultats tournée vers le patient. Conformément au droit européen qui impose un organisme d'accréditation unique dans chaque pays, le COFRAC est l'organisme d'accréditation en France. Le COFRAC a accepté de créer une section « santé humaine », sortant ainsi les laboratoires de biologie médicale de la section « laboratoires » qui apparaît aujourd'hui inappropriée. La norme de référence sera la norme NF EN ISO 15189.
- la modification de la définition du laboratoire de biologie médicale, hospitalier ou libéral, en imposant au laboratoire de biologie médicale de participer à l'offre de soin et en permettant l'existence de laboratoires multisites sur un territoire de santé. Il en résulte une plus grande liberté d'organisation du biologiste et la fin de règles telles que le rattachement du biologiste à un site (ex laboratoire).
- la mise en place de règles financières et sociales adaptées visant à éviter les situations de position dominante qui entraîneraient notamment une fragilisation de l'offre de biologie médicale en cas de fermeture du laboratoire.
- un arrêt des prescriptions rendues non-pertinentes par l'évolution des connaissances et une diminution sélective de prix portant sur les examens dont les analyses sont automatisées et l'interprétation standardisée, tout en permettant la cotation d'actes récents dont doivent bénéficier les patients.

1.7. La réforme de la biologie médicale (2010)

Dix mois après la remise du rapport Ballereau, le Parlement a adopté la loi portant réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires : loi HPST du 21 Juillet 2009 [14]. L'article 69 de cette loi autorise le gouvernement à prendre par ordonnance, dans un délai de six mois à compter de la publication de cette loi, toutes les mesures réformant les conditions de création, d'organisation et de fonctionnement des laboratoires de biologie médicale.

L'ordonnance relative à la biologie médicale est adoptée le 13 janvier 2010 [15]. Elle prévoit, comme préconisé dans le rapport Ballereau :

- la médicalisation renforcée de la discipline
- la qualité prouvée par l'accréditation
- la pluralité de l'offre de biologie médicale garantie par une organisation territoriale et des règles prudentielles
- l'efficacité des dépenses garantie par une adaptation des prix et des volumes

L'un des principes fondamentaux ressortant de l'ordonnance du 13 janvier 2010 est celui de l'accréditation obligatoire des laboratoires de biologie médicale à défaut de laquelle leur fonctionnement ne sera plus autorisé. Cette nouvelle obligation porte sur les phases pré-analytique, analytique et post-analytique de l'examen de biologie médicale ainsi que, le cas échéant, sur les activités biologiques d'assistance médicale à procréation et les examens d'anatomie et de cytologie pathologique effectués à l'aide de techniques relevant de la biologie médicale. L'ordonnance distingue deux périodes principales pour la mise en œuvre de l'obligation d'accréditation :

- la première période courant de la date de parution de l'ordonnance au 1er novembre 2013, date à compter de laquelle aucun laboratoire de biologie médicale non accrédité ne pourra fonctionner sans justifier de son entrée effective dans une démarche d'accréditation, étant rappelé que la satisfaction aux critères d'accréditation s'apprécie au regard de références fixées par voie réglementaire.
- la seconde période courant du 1er novembre 2013 au 31 octobre 2016, date à compter de laquelle aucun laboratoire de biologie médicale ne pourra fonctionner sans être accrédité, étant précisé que les autorisations administratives autorisant le fonctionnement des laboratoires de biologie médicale seront abrogées à cette date.

En revanche, à compter de la parution de l'ordonnance et avant toute ouverture d'un nouveau laboratoire, une demande d'accréditation devra être formulée par le laboratoire concerné auprès du COFRAC qui délivrera une attestation provisoire d'accréditation dès lors ce laboratoire satisfera aux critères d'accréditation « ...définis par les normes harmonisées en vigueur applicables aux laboratoires de biologie médicale [c'est-à-dire la norme européenne NF EN ISO 15189], dont les références sont fixées par un arrêté des ministres chargés de la santé et de l'industrie, pris après avis de la Haute Autorité de la santé ». Cette même instance nationale d'accréditation prendra, après l'ouverture du laboratoire, la décision d'accréditation relative aux examens ou activités que le laboratoire réalise, et disposera du pouvoir de

suspendre ou retirer l'accréditation du laboratoire, pour une partie ou pour la totalité de son activité dès lors que les critères d'accréditation ne seront plus satisfaits.

L'ordonnance de 2010 est ratifiée par la loi n°2013-442 du 30 mai 2013 [16]. Des modifications sont apportées par rapport à l'ordonnance de 2010 concernant l'accréditation [17] :

- les établissements qui réalisent des examens d'anatomie et de cytologie pathologiques ne sont pas soumis à l'accréditation.
- un nouvel agenda de l'accréditation obligatoire est établi. Pour chacune des familles d'examens de biologie médicale, les laboratoires de biologie médicale ne peuvent fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur :
 - 50% des examens de biologie médicale qu'ils réalisent au 1er novembre 2016
 - 70% des examens de biologie médicale qu'ils réalisent au 1er novembre 2018
 - 100% des examens de biologie médicale qu'ils réalisent au 1er novembre 2020
- les examens innovants hors nomenclature, notamment ceux en cours de validation à l'aide de recherches biomédicales, sont exclus de l'accréditation.
- pour la Guadeloupe, la Guyane, la Martinique, Mayotte, Saint-Barthélemy, Saint-Martin, et Saint-Pierre-et-Miquelon, il est prévu des modalités spécifiques d'aménagement de la procédure d'accréditation. La Réunion n'est pas concernée par ce texte.

2. L'accréditation

2.1. Définition

L'accréditation est une reconnaissance, par un organisme indépendant faisant autorité, de la compétence d'un organisme à réaliser des activités spécifiées.

L'accréditation s'appuie sur les normes internationales (ISO/CEI). Elle est indépendante, impartiale, transparente et non discriminatoire. Le but ultime d'une démarche d'accréditation est l'instauration de la confiance dans les prestations réalisées, l'accréditation devant représenter le dernier niveau de contrôle des activités d'évaluation de la conformité du point de vue de la compétence technique.

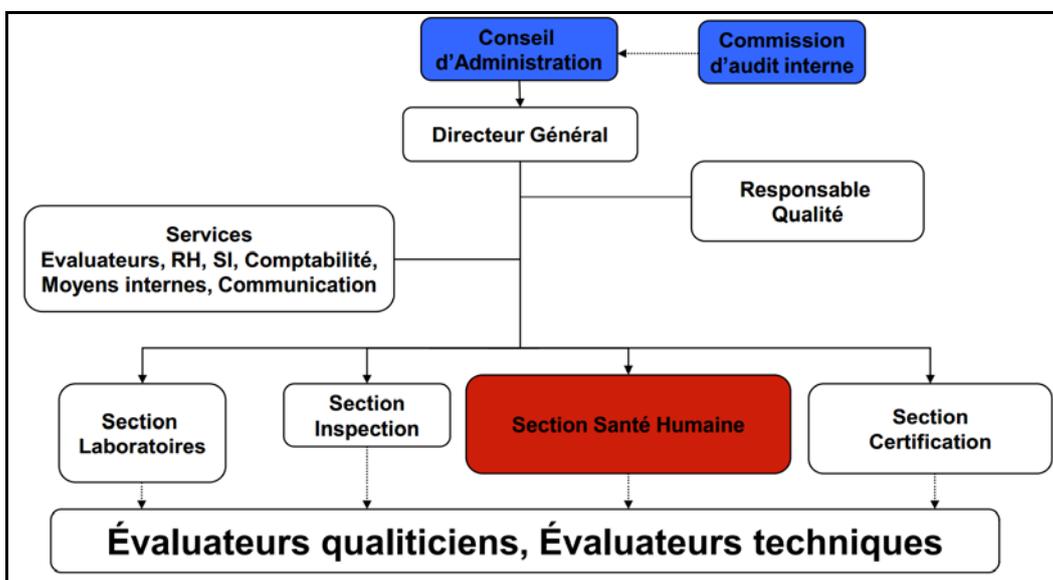


Figure 1 : Organisation du COFRAC

2.2. Le Comité Français d'Accréditation (COFRAC)

Le COFRAC est une association à but non lucratif, créé en 1994 sous le régime de la loi du 1er juillet 1901. Conformément au règlement européen n°765/2008 du 9 Juillet 2008 qui impose un organisme d'accréditation unique pour chaque pays, le COFRAC a été désigné comme unique instance nationale d'accréditation par le décret du 19 décembre 2008 [18]. Le COFRAC est donc l'organisme responsable de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale en France. D'un point de vue organisationnel (Figure 1), les parties intéressées par l'accréditation sont réparties au sein de 3 collèges :

- collège A : candidats à l'accréditation et entités accréditées
- collège B : donneurs d'ordres (entreprises ou fédérations clientes de ces entités du collège A)
- collège C : représentants d'intérêts publics (pouvoirs publics, associations de consommateurs, d'usagers et de protection de l'environnement) assurant soit une fonction régalienne, soit la défense d'intérêts collectifs

Ces 3 collèges sont représentés au sein de l'assemblée générale, du conseil d'administration et des comités de section du COFRAC.

Quatre sections gèrent les accréditations :

- section Laboratoires, elle-même composée de quatre pôles : Biologie-Biochimie, Chimie-Environnement, Mécanique, Physique-Electricité
- section Inspection
- section Certifications
- section Santé Humaine, qui gère l'accréditation des laboratoires de biologie médicale

La section santé humaine comporte 2 instances : le comité de section et la commission technique d'accréditation. Les membres de ces 2 instances sont des représentants de la DGS, des ARS, de l'HAS, des professionnels biologistes et des « clients » (patients et prescripteurs) des LBM. Le Comité de Section (CS) contribue à élaborer la stratégie de l'accréditation des LBM ainsi que les documents utiles à l'évaluation et à l'accréditation. La Commission Technique d'Accréditation (CTA) étudie les rapports d'évaluation et examine les candidatures d'évaluateurs / experts techniques. L'accréditation repose sur des évaluations réalisées par des pairs. Les évaluateurs techniques sont des biologistes médicaux exerçant dans un LBM accrédité ou inscrit dans la démarche d'accréditation, disposant d'une bonne expérience en qualité et si possible d'audit. Le processus d'accréditation est réalisé conformément au document de référence du COFRAC SH-REF-05 Règlement d'accréditation [19].

2.3. La portée d'accréditation [20]

2.3.1. Généralités

L'accréditation des laboratoires se fait selon un périmètre bien défini, appelé « portée » qui est l'énoncé formel et précis des activités pour lesquelles le laboratoire est accrédité ou demande l'accréditation. La portée détermine les possibilités offertes au laboratoire quant à l'utilisation de son accréditation, mais conditionne également les modalités d'évaluation et de suivi de l'accréditation du laboratoire par le COFRAC.

La portée d'accréditation doit couvrir la totalité de l'activité du LBM, de la phase pré-analytique à la phase post-analytique. La norme NF EN ISO 15189 privilégie les méthodes reconnues, mais donne la possibilité d'employer des méthodes développées par le laboratoire, dès lors qu'elles ont été dûment validées. Le COFRAC décrit 2 types de portées pour les laboratoires de biologie médicale : portée flexible standard (A) et portée flexible étendu (B).

2.3.2. Portée fixe et flexible

La portée fixe est une liste de méthodes d'essais/d'étalonnages précisément définies, dont le laboratoire ne peut s'écarter sans accord préalable du COFRAC.

La portée flexible est une portée dont l'expression permet au laboratoire une certaine flexibilité quant à l'utilisation de son accréditation. Le laboratoire est alors accrédité non pas sur un ensemble d'analyses listées précisément, mais sur un ensemble défini de champs de possibilités techniques et analytiques : ensemble de natures d'échantillon biologique, ensemble de natures d'examen, ensemble de principes de méthode tels que définis dans sa portée d'accréditation. Les ensembles d'échantillons biologiques et/ou d'examens peuvent être définis selon l'activité actuelle du laboratoire, mais également en tenant compte des évolutions à venir, voire des examens qu'il ne réalise pas encore, et qu'il est susceptible de réaliser dans le futur pour ses clients (patients/prescripteurs, ...). Le laboratoire est évalué sur sa compétence à valider des méthodes et à gérer sa portée.

Le COFRAC recommande la portée flexible : « Pour les laboratoires pratiquant des méthodes amenées à évoluer, une accréditation en portée flexible s'impose »[20].

2.3.3. Portée flexible standard A

Dans le cadre de ce type de portée, le laboratoire est autorisé à réaliser des analyses selon un ensemble de techniques validées, à partir de méthodes définies, suivant le même principe, ou de leurs révisions dès lors qu'elles n'impliquent pas de nouvelles compétences. En biologie

médicale, les LBM utilisent en général des méthodes/équipements/réactifs « fournisseurs », correspondant à l'utilisation de DM-DIV marqués CE au titre de la directive 98/79/CE. L'accréditation selon ce type de portée se justifie pleinement, puisque ces méthodes commercialisées sont considérées comme des méthodes reconnues. Les méthodes reconnues, comme les normes, sont a priori validées dans leur domaine d'application. Le laboratoire doit confirmer et vérifier que ces méthodes sont bien utilisées dans leur domaine d'application, qu'elles correspondent bien aux besoins de ses clients (patients/prescripteurs, ...) et qu'elles sont maîtrisées par le laboratoire (dossier de vérification de méthodes).

2.3.4. Portée flexible étendue B

Dans le cadre de ce type de portée, le laboratoire est de plus autorisé à réaliser des analyses selon un ensemble de techniques validées, à partir des méthodes définies qu'il pourra adapter, voire développer, suivant le même principe. Ces méthodes sont souvent des méthodes internes mises au point par le LBM pour lesquelles il n'existe pas d'équivalent « fournisseur », ou encore des méthodes adaptées à partir de ces méthodes « fournisseurs », en fonction des besoins. Le laboratoire doit valider la méthode c'est-à-dire confirmer que ses caractéristiques et ses performances conviennent pour l'emploi prévu (dossier de validation de méthode).

2.4. Traitement d'une demande d'accréditation [19,21]

La procédure d'accréditation initiale peut se décomposer en 3 grandes étapes :

- phase d'instruction et de contractualisation de la demande d'accréditation
- phase d'évaluation
- phase de décision

2.4.1. Instruction et contractualisation de la demande d'accréditation

Cette étape permet une analyse et une formalisation de la demande du LBM.

Le laboratoire envoie une demande écrite d'accréditation au COFRAC.

Cette demande écrite doit préciser :

- des informations d'ordre administratif : formulaire de renseignement SH-FORM-05 [22]
- des informations d'ordre technique : questionnaire d'autoévaluation SH-FORM-03 [23]
- la portée d'accréditation sollicitée, exprimée suivant les exigences du document SH-REF-08 [20] déclinées dans le document SH-INF-50 [24] (voir chapitre précédent).

La réception au COFRAC d'une demande exprimée par écrit marque le début de l'instruction de la demande d'accréditation par le COFRAC. Un examen de recevabilité administrative et technique est réalisé. En cas d'avis favorable, une convention est établie entre le COFRAC et l'organisme dont dépend juridiquement le LBM candidat à l'accréditation. En cas d'avis défavorable, le demandeur est informé de l'arrêt de l'instruction de sa demande et des raisons de cet arrêt.

2.4.2. Phase d'évaluation

La phase d'évaluation comprend une étape d'expertise documentaire (recevabilité opérationnelle) suivie d'une étape d'évaluation au sein du laboratoire (évaluation sur site). L'expertise documentaire est réalisée par la structure permanente du COFRAC. Elle a pour objectif d'examiner la pertinence et l'adéquation des dispositions documentées d'ordre organisationnel et technique par rapport aux référentiels. Cet examen est réalisé sur la base du formulaire de renseignements, du questionnaire d'autoévaluation, du manuel qualité, des principales procédures du demandeur, des éléments de validation/vérification des méthodes pour lesquelles l'accréditation est demandée, des éléments de maîtrise de la flexibilité de la portée revendiquée, des données relatives à la performance du LBM (participation et résultats aux comparaisons interlaboratoires, ...), des éléments de maîtrise des phases pré-analytique et post-analytique (gestion des échantillons, ...). En cas d'avis favorable, l'évaluation initiale sur site peut être programmée dans un délai convenu entre le demandeur et le COFRAC.

L'évaluation sur site est réalisée par une équipe d'évaluation composée d'un évaluateur qualitatif, plus particulièrement chargé d'examiner les dispositions organisationnelles, et d'un ou plusieurs évaluateurs techniques.

Elle consiste à :

- vérifier la pertinence, la conformité et l'application des dispositions préétablies d'ordre organisationnel et technique (consultation de documents sur place, traçabilité documentaire des examens réalisés)
- examiner l'adéquation des moyens du LBM pour réaliser les examens objet de sa demande d'accréditation
- évaluer la maîtrise technique : compétence du personnel (entretiens), observation de tout ou partie d'un examen, maîtrise de la phase pré-analytique avec notamment le recueil effectif des renseignements cliniques, maîtrise de la phase post-analytique avec

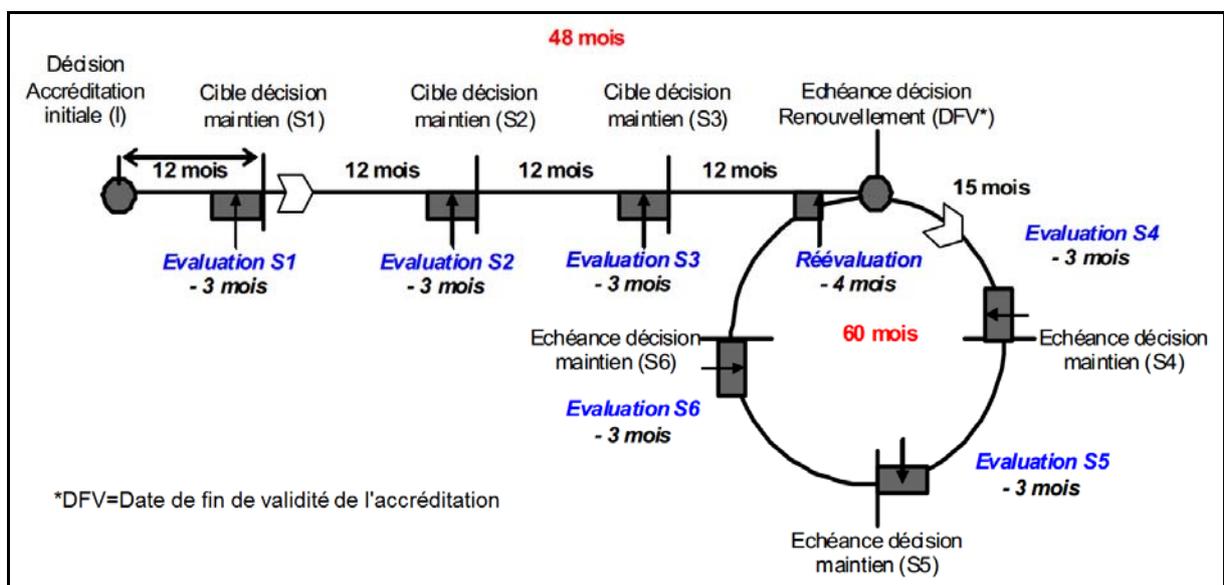


Figure 2 : Cycle de vie d'une accréditation [18]

notamment la communication de résultats interprétés, procédures et dossiers de vérification/validation de méthodes

- évaluer la qualité des résultats (exploitation des résultats de comparaisons interlaboratoires, de contrôle interne de qualité ...)

Au cours de l'évaluation, des écarts aux exigences d'accréditation peuvent être identifiés par l'équipe d'évaluation. Les écarts sont divisés en 2 catégories :

- écart critique : Écart dont le résultat met en cause la fiabilité des résultats ou l'aptitude du système de management à maintenir le niveau de qualité des examens. Une décision favorable d'accréditation ne pourra être prise qu'après la constatation de la mise en œuvre des actions nécessaires à la maîtrise de la situation.
- écart non critique : Écart dont le résultat n'affecte pas ou n'est pas susceptible d'affecter directement et immédiatement la qualité des examens.

Pour chaque écart, il est demandé au LBM d'établir un plan d'actions (analyse de l'étendue de l'écart, ses causes et de la nécessité de mettre en place des actions pour éviter la reproduction de cet écart, les actions décidées pour maîtriser la situation constatée et leurs délais de mise en œuvre). L'évaluation sur site n'est pas une inspection. Le biologiste-responsable du LBM ou le représentant légal de la structure ont la possibilité de faire part de ses commentaires en fin d'évaluation et de contester les constats et écarts proposés par l'évaluateur COFRAC.

Au terme de la phase d'évaluation, le responsable de l'équipe d'évaluation délivre un rapport d'évaluation au COFRAC ainsi qu'une copie de ce rapport au le LBM. Ce rapport fournit une description, la plus fidèle possible, de la situation constatée lors de l'évaluation. En particulier, l'appréciation générale est élaborée à partir des points forts, des points sensibles (soulignés par des écarts relevant de constats factuels) et des axes d'amélioration.

2.4.3. Phase de décision

Lors de la phase de décision, le rapport d'évaluation complété le cas échéant par les preuves documentaires de réalisation des plans d'actions est examiné par une commission spécifique, le comité technique d'accréditation (CTA) [25] qui émet un avis. La décision finale d'accréditation, sur la base de cet avis, revient au Directeur Général du COFRAC. En cas de décision favorable, l'accréditation prend effet à la date de notification de la décision. Elle est délivrée pour une durée maximale de 4 ans, renouvelable par périodes de 5 ans au maximum. La décision d'accréditation est accompagnée d'une attestation précisant le périmètre et la durée de l'accréditation. Un plan de surveillance, incluant des évaluations périodiques sur site, est mis en œuvre afin de maintenir et renouveler l'accréditation du LBM (Figure 2).

2.5. Surveillance de l'accréditation

La surveillance de l'accréditation est réalisée :

- par des évaluations sur site périodiques, dans le cadre d'un plan de surveillance individuel
- par des évaluations complémentaires et supplémentaires, si nécessaire

Le plan de surveillance de l'accréditation est défini par le COFRAC de telle sorte que :

- pendant le premier cycle d'accréditation (4 ans),
 - la première évaluation de surveillance sur site soit réalisée au plus dans les 12 mois suivant la prise d'effet de l'accréditation initiale
 - le LBM soit évalué sur site tous les 15 mois au plus
- pendant les cycles suivants (5 ans), le LBM soit évalué sur site tous les 18 mois au plus

Le déroulement de l'évaluation de surveillance, la restitution des conclusions et le traitement du dossier d'évaluation jusqu'à la notification de décision sont identiques à ceux de l'évaluation initiale.

2.6. Suspension, résiliation et retrait de l'accréditation

Le COFRAC peut décider à tout moment de suspendre ou de retirer tout ou partie de l'accréditation si des manquements ou non-conformités aux exigences d'accréditation sont constatés :

- non-conformités relevées sous forme de fiches d'écart lors des évaluations sur site
- manquements ou non-conformités constatés par d'autres moyens : constat fait par le personnel de la structure permanente du COFRAC à la suite du traitement de plaintes, ou sur la base d'informations transmises par le LBM accrédité ou de toute autre source après vérification des données
- impossibilité d'assurer la surveillance du LBM accrédité : l'accréditation est suspendue ou non renouvelée si le LBM n'a pas été évalué sur site dans les 2 ans suivant sa dernière évaluation sur site

Le COFRAC informe l'ARS de ses décisions relatives à l'accréditation.

Le LBM a également la possibilité de réduire volontairement la portée de son accréditation, ou la résilier en totalité.

3. Les documents de référence

3.1. Les référentiels opposables

L'arrêté du 5 août 2010 [26], fixant les références des normes d'accréditation applicables aux laboratoires de biologie médicale, définit la norme NF EN ISO 15189 en vigueur comme norme d'accréditation applicable aux laboratoires de biologie médicale, complétée le cas échéant par la norme NF EN ISO 22870 en vigueur pour les examens de biologie médicale délocalisés. La loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 [16] portant réforme de la biologie médicale comporte des dispositions législatives et réglementaires concernant la qualité des pratiques en biologie médicale qui complètent les exigences des deux normes précédemment citées.

La satisfaction des exigences normatives et des dispositions législatives et réglementaires est la condition de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. Leur non-respect constitue un écart. L'ensemble de ces exigences constituent les exigences d'accréditation.

Un document du COFRAC, le SH-REF-02 « Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189 : 2012 » [2], rassemble les exigences organisationnelles et techniques générales nécessaires et suffisantes pour la réalisation d'examens de biologie médicale. Il est opposable dans le cadre de l'accréditation. C'est un outil d'harmonisation des pratiques sur le territoire national. Il cite en parallèle les dispositions législatives et réglementaires applicables pour l'accréditation, présentes pour la plupart dans le Code de la santé publique ainsi que les règles relevant du COFRAC, établies en accord avec les positions adoptées par l'European co-operation for Accreditation (EA) et l'International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC).

Pour les laboratoires effectuant des dosages de plombémie, des exigences spécifiques s'ajoutent aux précédents, répertoriées dans un document du COFRAC : SH-REF-20 « Exigences spécifiques et recommandations d'accréditation en plombémie » [27].

A ces exigences s'ajoute le document SH-REF-04 [28]. Ce document du COFRAC n'apporte pas d'exigences supplémentaires mais il ajoute des précisions sur certains aspects du référentiel sous forme de notes de doctrine. Il est destiné aux évaluateurs COFRAC dans le but d'harmoniser l'évaluation pour les structures accréditées ou candidates à l'accréditation.

Dans sa version actuelle il compte deux notes :

- Validation des résultats d'examens de biologie médicale et communication appropriée des résultats interprétés au prescripteur et au patient
- Conditions d'exercice des biologistes médicaux

3.2. La norme NF EN ISO 15189

La norme NF EN ISO 15189 « Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence » a été fondée à partir des normes NF EN ISO 9001 « Système de management de la qualité, exigences » et NF EN ISO 17025 « Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais » dans le but d'harmoniser les pratiques en matière d'accréditation des laboratoires de biologie médicale. Elle fournit les exigences de compétence et de qualité propres aux laboratoires d'analyses de biologie médicale. La première version de cette norme date de 2003. La version actuellement en vigueur date de 2012.

Les exigences d'accréditation sont divisées en 2 grandes parties :

- Une partie relative au management de la qualité
- Une partie relative aux exigences techniques

3.3. Exigences relatives au management de la norme NF EN ISO 15189

Les exigences développées dans cette partie concernent :

- la responsabilité en matière d'organisation et de management : entité légale, conduite éthique, responsabilité de la direction notamment en terme de politique qualité et désignation d'un responsable qualité
- le système de management de la qualité : exigences générales et exigences relatives à la documentation (manuel qualité ...)
- la maîtrise des documents : contrôle des documents requis par le SMQ, actions pour éviter l'utilisation de documents obsolètes entre autres
- les contrats de prestations : établissement et revue de contrats (toute demande d'examen est considérée comme contractuelle)
- les examens transmis à des laboratoires sous-traitants : sélection et évaluation de laboratoires sous-traitants et consultants, compte-rendu des résultats d'examens
- les services externes et l'approvisionnement : sélection, gestion, évaluation
- les prestations de conseils : elles concernent le pré-analytique et l'interprétation des résultats entre autres
- le traitement des réclamations : enregistrements, enquêtes, actions correctives entreprises

- l'identification et la maîtrise des non-conformités : documentation, enregistrement, prise en compte de leur signification médicale, actions immédiates
- les actions correctives : revue des non-conformités dans le but de déterminer et d'éliminer leurs causes profondes
- les actions préventives : revue des données et informations de laboratoire dans le but de déterminer et d'éliminer les causes profondes de non-conformités potentielles
- l'amélioration continue : au moyen de revues effectuées par la direction, avec plan d'action dans des domaines à la priorité la plus élevée en fonction de la gestion des risques
- la maîtrise sûre des enregistrements qualité et technique
- les évaluations et audits : revue périodique des prescriptions, revue de la pertinence des procédures et exigences concernant les échantillons, évaluation des retours d'information de la part des utilisateurs, suggestions du personnel, audit interne, gestion des risques, indicateurs qualité, revues par des organisations externes
- la revue de direction : éléments d'entrée de la revue, activités de la revue, éléments de sortie de la revue

3.4. Exigences techniques de la norme NF EN ISO 15189

Les exigences développées dans cette partie concernent :

- le personnel : qualification, définitions de fonctions, accueil dans l'environnement organisationnel, formation, évaluation de la compétence, revue des performances, formation continue et développement professionnel, enregistrements relatifs au personnel
- les locaux et les conditions environnementales : laboratoires et bureaux, locaux de stockage, locaux du personnel, locaux de prélèvement d'échantillons de patients, entretien des locaux et conditions environnementales

- le matériel de laboratoire, les réactifs et les consommables :
 - o pour l'équipement : essais d'acceptation, mode d'emploi, étalonnage et traçabilité métrologique, maintenance et réparation du matériel, compte rendu des événements indésirables, enregistrement des matériels
 - o pour les réactifs et consommables : réception, stockage, essais d'acceptation, gestion des stocks, mode d'emploi, compte rendu d'un événement indésirable, enregistrements
- les processus pré-analytiques : informations pour les patients et utilisateurs ; informations de prescription, instructions relatives au prélèvement et à la manipulation des échantillons primaires, transport des échantillons, réception des échantillons, manipulation pré-analytique, préparation et entreposage
- les processus analytiques : sélection, vérification ou validation des procédures analytiques, détermination de l'incertitude de mesure, définition des intervalles de référence biologique et des valeurs de décision clinique, documentation des procédures analytiques
- la garantie de qualité des résultats : contrôle de qualité (interne), comparaisons inter-laboratoires, comparabilité des résultats d'examens
- les processus post-analytiques : revue des résultats, entreposage, conservation et élimination des échantillons biologiques
- le compte-rendu des résultats : attributs et contenu
- la diffusion des résultats : exigences générales (communication d'un résultat urgent notamment), exigences concernant les systèmes de sélection et de compte-rendu automatique des résultats, exigences concernant les comptes rendus révisés
- la gestion des informations de laboratoire : confidentialité, autorités et responsabilités, gestion du système d'information de laboratoire

3.5. Les guides techniques d'accréditation (GTA)

Disponibles sur le site du COFRAC à la section santé humaine, ces documents sont des outils d'aide à l'accréditation. Ils proposent des recommandations reconnues par le COFRAC comme étant suffisantes et appropriées pour répondre aux exigences sur des sujets techniques particuliers. L'application des recommandations des GTA n'est pas obligatoire : ils ne sont pas opposables. Le LBM garde en effet la possibilité de répondre d'une autre manière aux exigences à condition de présenter les éléments de preuve appropriés (recommandations ou



Pilotage
 Chef de pôle Pr M Molimard / Adjointe au chef de pôle Dr A Georges / Directeur médico-technique J-C Cazeneuve / Assistant de gestion C Becker
 Cadres supérieurs de santé S Pommiers D Brüggmann / Directeur des Soins medico-technique F Desplat

Service Responsable ou coordinateur médical	PTRR / LRR		Dr E Peachant	PTBM Dr P Trimaulet V Blanchy	PTMI Dr B de Barbeyrac C Lemieur J-C Carlier J Nunez R Vissud	PTMP Dr K Tillet C Rodriguez	PTCT Pr A Vital / Pr J-P Merlio V Colantiz	LMN Dr A Georges Dr A Popaxanthos R Vissud	LBR Dr A Georges M Mercier	LGC Pr R Saura C Rodriguez	
	Dr B Colombiez	Dr C Moulon									
Cadre de santé	S Decauxant	C Méhaye	X Dehilloste	V Blanchy	C Lemieur J-C Carlier J Nunez R Vissud	C Rodriguez	V Colantiz	C Delage	R Vissud	M Mercier	C Rodriguez
Bactériologie - Pr F Megraud											
Biochimie - Pr H Huard de Verneuil											
Biologie des tumeurs - Pr J-P Merlio											
Biologie de la reproduction - Pr C Jimenez											
Génétique moléculaire - Pr B Anvelier											
Génétique chromosomique - Pr R Saura											
Hématologie biologique - Pr F-X Mahon											
Hormonologie - Marqueurs tumoraux - Pr L Bordenave											
Hygiène - Pr A-M Raque											
Immunologie et Immunogénétique - Pr J-L Taupin											
Parasitologie - Mycologie - Pr P Vincendeau											
Pathologie - Pr A Vital											
Pharmaco-Toxicologie - Pr M Molimard											
Virologie - Pr H Fleury											
Service commun - Coordinateur médical / Cadre de santé											
Biologie médicale multidisciplinaire - Dr I Combourieu											
Accueil de Biologie Centralisé (ABC) / de Site - Dr S Picard / S Lahens - C Méhaye - X Dehilloste											
Centre d'envoi des échantillons biologiques (CEEB) - Dr S Picard / S Lahens											
Cellule Qualité - unité de métrologie - Dr E Chouzi / P Vanicotte											
Cellule recherche (CR PBP) - Dr E Chouzi / V Blanchy											
Cellule Bioinformatique (CBI) - Dr E Chouzi / J Dusseau											
Poste de prélèvement - Unité de surveillance biologique (USB) - Pr F Megraud - Pr H Fleury / S Lahens - X Dehilloste											
Centre Régional de Traitement de l'Hémophilie (CRTH) - Pr F-X Mahon / S Lahens											
Cellule Stock - K Plessis / Scute - C Méhaye											
Centre de Ressources Biologiques Bordeaux Biothèque Santé - Dr I Pellegrin / V Blanchy - C Delage											



Légende : PTRR Plateau Technique réponse rapide ; LRR Laboratoire réponse rapide ; PTBM Plateau Technique Biologie moléculaire ; PTMI Plateau Technique Microbiologie Immunologie ; PTMP Plateau Technique Mesures Physiques ; PTCT Plateau Technique Cellule Tissu ; PTMN Plateau Technique Médecine Nucléaire ; LBR Laboratoire Biologie de la reproduction ; LGC Laboratoire Génétique chromosomique

15.9.14 v7

Figure 3 : Organigramme du Pôle de Biologie et Pathologie

documents de sociétés savantes nationales, européennes ou internationales sur l'accréditation ou sur des aspects techniques des pratiques professionnelles en biologie médicale).

Six GTA sont disponibles sur le site du COFRAC :

- LAB-GTA-12 Guide Technique d'Accréditation en parasitologie et mycologie médicale
- SH-GTA-01 Guide Technique d'Accréditation en biologie médicale
- SH-GTA-02 Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des systèmes informatiques en biologie médicale
- SH-GTA-04 Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes de biologie médicale
- SH-GTA-06 Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en biologie médicale
- SH-GTA-14 Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale

4. Démarche d'accréditation du pôle de biologie du CHU de Bordeaux [29]

4.1. Le pôle de Biologie et Pathologie du CHU de Bordeaux

Le laboratoire du CHU de Bordeaux est organisé sous la forme d'un pôle : le pôle de Biologie et Pathologie (PBP). Il réalise les examens de biologie médicale et d'anatomie et cytologie pathologique pour les patients accueillis au CHU de Bordeaux mais également pour certains établissements externes. Il constitue l'un des 3 pôles médicotechniques transversaux de l'établissement et est présent sur 3 sites : groupes hospitaliers Saint André, Sud et Pellegrin. Son management est assuré par le pilotage du pôle qui rassemble les acteurs définis dans le projet managérial d'établissement (chef de pôle, cadres supérieurs de santé, assistant de gestion et directeur référent) complété par le directeur des soins médicotechniques et un biologiste adjoint au chef de pôle.

Le pôle de biologie et pathologie comprend 14 unités fonctionnelles couvrant les disciplines de la biologie médicale et l'anatomie et cytologie pathologique (Figure 3) :

- bactériologie
- biochimie
- biologie des tumeurs
- biologie de la reproduction

- génétique moléculaire
- génétique chromosomique
- hématologie biologique
- hormonologie - marqueurs tumoraux
- hygiène
- immunologie et immunogénétique
- parasitologie – mycologie
- pathologie
- pharmaco – toxicologie
- virologie

Chaque discipline est placée sous la responsabilité d'un chef de service.

Les disciplines réalisant des analyses biologiques suivant des techniques similaires sont regroupées au sein de plateaux techniques, afin de mutualiser des compétences et des ressources techniques et humaines. Il en existe 5 à ce jour :

- Plateau Technique Réponse Rapide (PTRR)
- Plateau Technique Biologie Moléculaire (PTBM)
- Plateau Technique Mesures Physiques (PTMP)
- Plateau Technique Microbiologie Immunologie (PTMI)
- Plateau Technique Cellule Tissu (PTCT)

Un sixième plateau regroupant les examens d'anatomie et cytologie pathologique et d'hématologie cytologique est en cours de constitution.

Ces 6 plateaux sont complétés par 3 laboratoires mono-disciplinaires (laboratoire d'hormonologie – marqueurs tumoraux, laboratoire de biologie de la reproduction, laboratoire de génétique chromosomique) et un Laboratoire à Réponse Rapide (LRR).

Les activités des plateaux sont coordonnées par un cadre de santé et un responsable biologiste qui s'assure de la communication entre les équipes médicales des différentes disciplines.

Des structures de soutien viennent compléter cette organisation :

- postes de prélèvement et unité de surveillance biologique (Groupe Hospitalier Pellegrin)
- accueils de biologie assurant la réception des examens de biologie médicale
- Centre d'Envoi des Echantillons Biologiques (CEEB Pellegrin)
- cellule bio-informatique en charge du maintien des Système Informatique de Laboratoire (SIL)

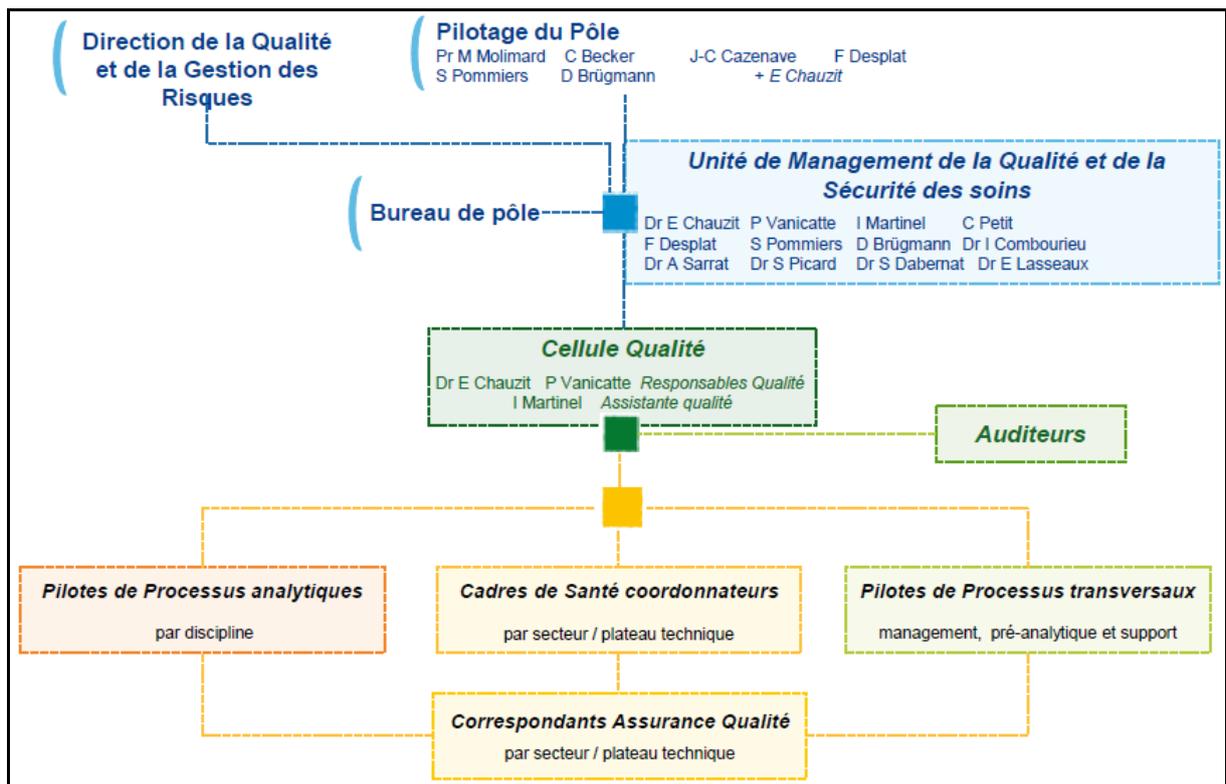


Figure 4 : Organisation qualité du pôle de biologie et pathologie

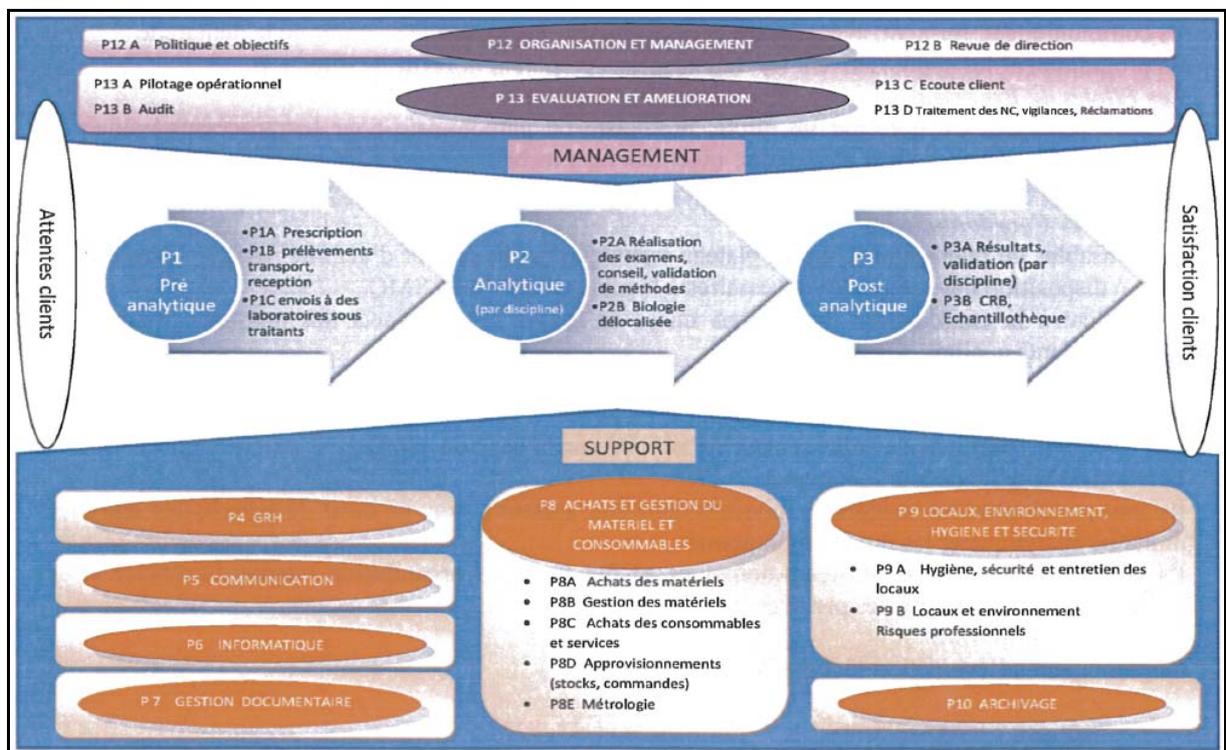


Figure 5 : Cartographie des processus

- cellule de gestion du stock (Groupe Hospitalier Pellegrin) et soute (Groupe Hospitalier Sud) en charge de l'approvisionnement des laboratoires en réactifs, consommables et solvants
- cellule recherche facilitant la prise en charge des examens et prélèvements réalisés dans le cadre de projets de recherche.
- cellule métrologie qui s'assure de la maîtrise des équipements de mesures critiques
- la Cellule Qualité
- centre de ressources biologiques plurithématique

4.2. Le système de management de la qualité

Le management du PBP s'articule autour de 2 niveaux organisationnels (Figure 4) :

- **Le management stratégique** : pilotage du pôle de biologie dans son ensemble
- **Le management opérationnel** : pilotage au sein des processus

Le management stratégique est basé sur :

- La mise en place d'une Unité de Management de la Qualité et de la Sécurité des Soins (UMaQS)
- La constitution d'une cellule qualité
- Le découpage de l'activité par processus et leur pilotage (management opérationnel)
- L'organisation matricielle et la formation d'acteurs spécifiques aux missions et responsabilités définies

L'Unité de Management de la Qualité et de la Sécurité des Soins a pour mission de coordonner la démarche qualité au sein du pôle, de veiller à la communication autour de la démarche et à sa cohérence, et de soutenir l'action des responsables assurance qualité. Elle est composée des professionnels de la cellule qualité et de professionnels missionnés ou invités.

La cellule qualité est constituée des deux responsables qualité (médical et para médical) et de l'assistante qualité. La cellule qualité s'occupe en particulier de la mise en œuvre du SMQ et de l'amélioration continue. Ses missions consistent à déployer les outils, la communication et suivre les plans d'action mis en œuvre au sein du pôle.

L'approche processus : Le système de management de la qualité est basé sur l'identification de 12 processus principaux dont les plus importants sont découpés en sous processus. La cartographie des processus (Figure 5) identifie ceux qui sont nécessaires au fonctionnement du pôle de biologie et pathologie.

Ils sont regroupés en trois catégories : management, réalisation, support.

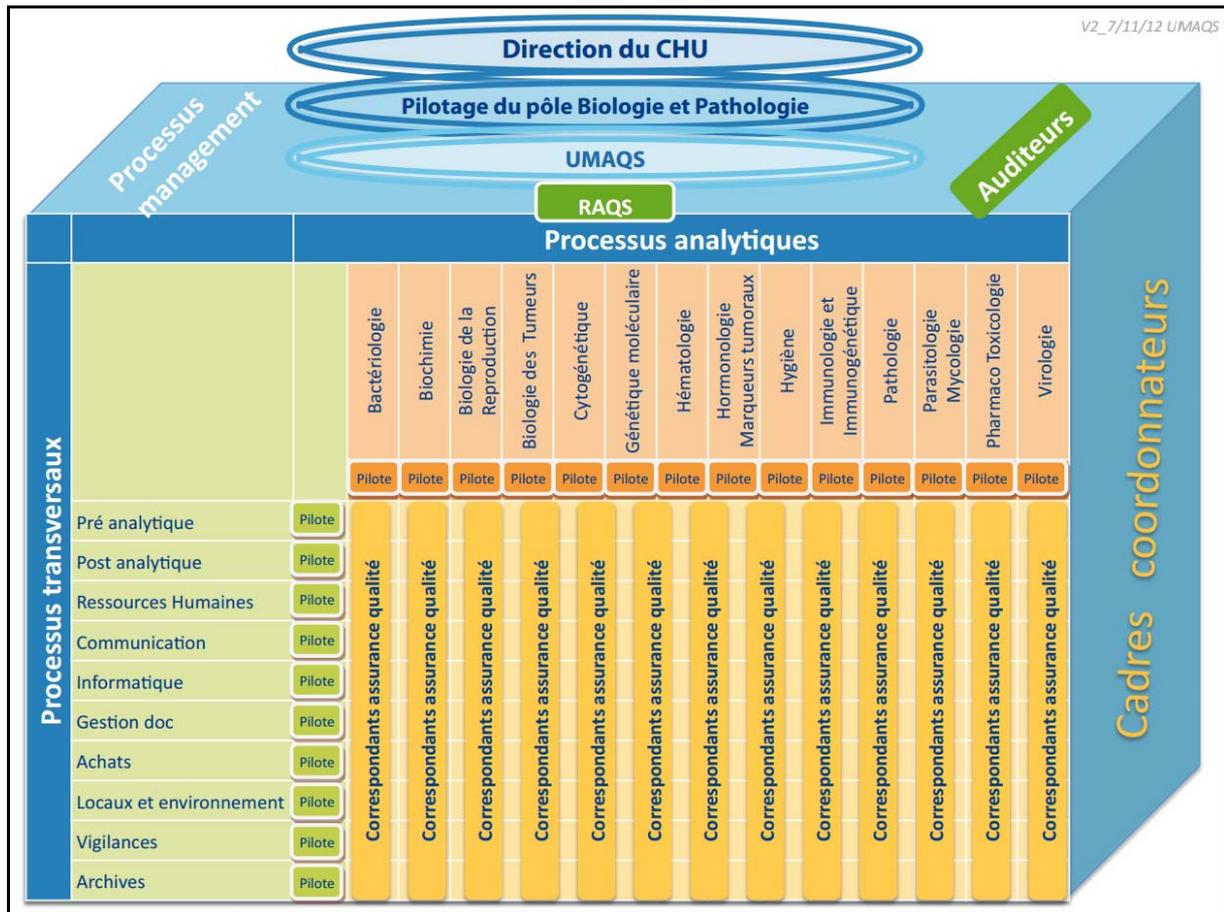


Figure 6 : Organisation matricielle

Catégorie réalisation :

- P1 : Pré-analytique
- P2 : Analytique
- P3 : Post-analytique

Catégorie support :

- P4 : Gestion des ressources humaines
- P5 : Communication
- P6 : Informatique
- P7 : Gestion documentaire
- P8 : Achat et gestion des réactifs et consommables
- P9 : Hygiène et sécurité, locaux, environnement et risques professionnels
- P10 : archivage

Catégorie management :

- P12 : Organisation et Management
- P13 : Evaluation et Amélioration

Chaque processus est géré par un pilote, en lien avec le responsable d'activité, les processus en interface et les prestataires de service du CHU. Il traduit les objectifs du pôle en objectifs opérationnels propres à son processus. Le fonctionnement du processus est évalué une fois par an lors de la revue de processus. A cette occasion des actions d'amélioration sont proposées et l'ensemble des données est transmise aux responsables qualité avant la revue de direction.

L'organisation matricielle et la formation d'acteurs spécifiques :

Compte tenu de la taille de la structure et afin de faire fonctionner le système de management de la qualité efficacement il s'est avéré nécessaire de former des acteurs spécifiques. Cinq fonctions spécifiques permettent de mettre en œuvre le système de management de la qualité au travers d'une organisation matricielle (Figure 6). Le schéma ci-contre présente l'organisation bidirectionnelle dans laquelle sont positionnées les différentes fonctions et leurs interactions :

- les responsables qualité: Ils mettent en œuvre et sont garants du fonctionnement de la démarche. Ils communiquent, informent, forment et mobilisent les personnels autour de la démarche. Ils programment les audits, suivent les indicateurs et préparent la revue de direction.
- les pilotes de processus : Chaque processus est géré par un pilote. Sur les processus métiers découpés en secteurs d'activité, les pilotes sont des biologistes ou

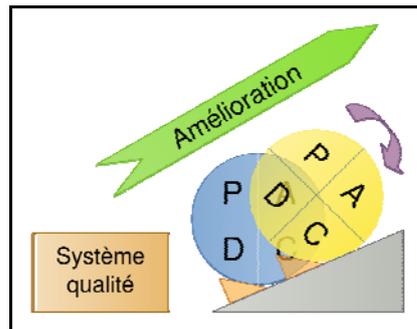
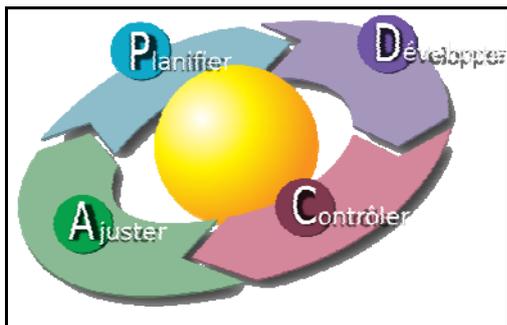


Figure 7 : Roue de Deming et principe de l'amélioration continue

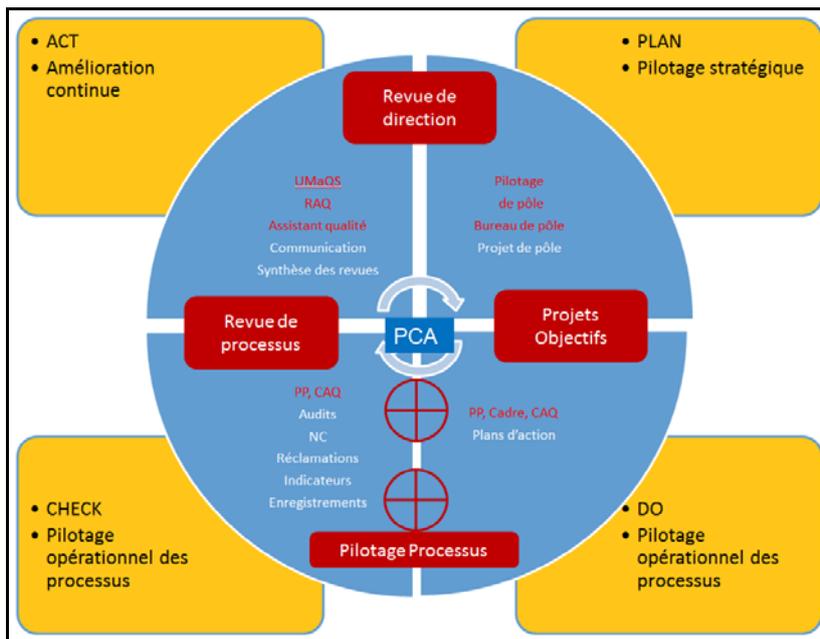


Figure 8 : Système d'amélioration continue (niveau stratégique)

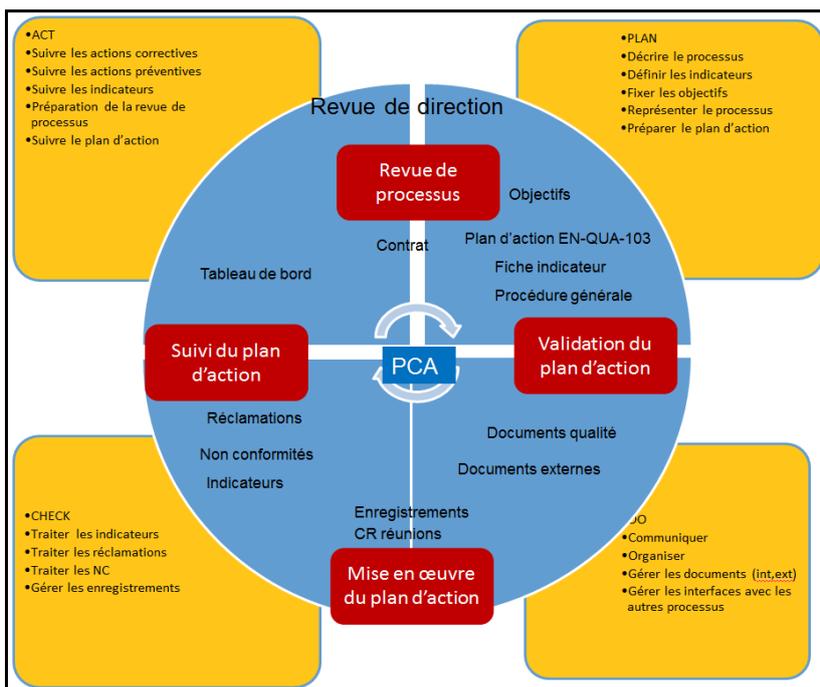


Figure 9 : Système d'amélioration continue (niveau opérationnel)

pathologistes. Sur les processus management ou supports, les pilotes peuvent être des cadres ou des techniciens ayant la compétence requise.

- les cadres coordonnateurs : Responsables du management sur un plateau technique ou un secteur d'activité, ils sont chargés de la mise à disposition des ressources nécessaires à la mise en œuvre du SMQ. Ils veillent à la coordination des actions mises en œuvre et au respect des missions données aux correspondants qualité. Ils coordonnent la démarche d'autoévaluation en lien avec le pilote de processus.
- les correspondants qualité (CAQ) : Les CAQ sont nommés dans les secteurs d'activité sur la base du volontariat et leur nombre varie en fonction de la taille de leur laboratoire. Ils sont principalement chargés de missions dans leur secteur d'activité ou/et de faire le lien entre leur domaine analytique et les processus supports. Ils sont référents d'un ou plusieurs domaines en fonction de l'organisation interne du service et des tâches qui leur sont attribuées par le cadre coordonnateur.
- les auditeurs internes : Ils participent à l'évaluation globale du système.

4.3. Le système d'amélioration continue

Sa mise en œuvre est basée sur le principe de la roue de Deming qui comporte 4 étapes (Figure 7) [30] :

- *Plan* : préparer, planifier (ce que l'on va réaliser)
- *Do* : développer, réaliser, mettre en œuvre
- *Check* : contrôler, vérifier
- *Act* : agir, ajuster, réagir (si on a testé à l'étape *Do*, on déploie lors de la phase *Act*)

Le système d'amélioration continue est piloté dans les 2 niveaux : stratégique (Figure 8) et opérationnel (Figure 9). Les responsables qualité récupèrent les données issues des revues de processus et les synthétisent afin de préparer la revue de direction. Celle-ci est réalisée une fois par an en présence des membres du pilotage, de l'UMaQS et si nécessaire de représentants des directions fonctionnelles.

PARTIE II : MISE EN OEUVRE DE
L'ACCRÉDITATION AU LABORATOIRE
D'HORMONOLOGIE – MARQUEURS TUMORAUX

Etape / Elément à maîtriser	Point critique à maîtriser	Modalité de maîtrise
Réception des échantillons/Prélèvement	<ul style="list-style-type: none"> - identification des tubes non-conformes - inversion étiquettes patients entre tube et prescription - contenant, volume, aspect non conforme - tube périmé - délai de transport dépassé - remplissage du bon de demande non conforme 	<p>Vérification à réception Cf. PR-LAB-002 "Réception, tri et pré-analytique" IN-LAB-002 "Type de support de prélèvement et traitement/dosage"</p> <p>Habilitation du personnel sur le poste de travail</p>
Réception des échantillons / Centrifugation, Enregistrement, Etiquetage	<ul style="list-style-type: none"> - centrifugation (vitesse et température) - erreur de saisie d'identité patient - erreur de saisie du prescripteur - analyse mal enregistrée - inversion étiquette (identification patient) - inversion étiquette (temps tests dynamiques) 	<p>Vérification à réception Cf. PR-LAB-002 "Réception, tri et pré-analytique" Centrifugation Cf. IN-LAB-060 "Centrifugation des échantillons biologiques" Saisie des demandes dans SIL RIALISME IN-INF- Enregistrement d'une demande d'examen - S.I.L. RIALISME</p> <p>Habilitation du personnel sur le poste de travail</p>
Réception des échantillons / Conservation avant analyse et sérothèque	<ul style="list-style-type: none"> - conditions ambiantes - suivi des enceintes réfrigérées 	<p>Suivi quotidien des températures</p> <p>Habilitation du personnel sur le poste de travail</p>
Analyse/Réactifs, calibrateurs, CIQ	<ul style="list-style-type: none"> - conservation - reconstitution - péremption 	<p>Suivi quotidien des températures</p> <p>Vérification de la date de péremption et/ou date limite d'utilisation après ouverture</p> <p>Habilitation du personnel sur le poste de travail</p>
Analyse/Automate	<ul style="list-style-type: none"> - conditions ambiantes - maintenance - dilution 	<p>Relevé quotidien des températures</p> <p>Classeur de vie de l'automate</p> <p>Habilitation du personnel sur le poste de travail</p>
Analyse/exigences spécifiques	<ul style="list-style-type: none"> - facteur de dilution - saisie manuelle - CIQ 	<p>Habilitation du personnel sur le poste de travail</p>
Informatique	<ul style="list-style-type: none"> - sauvegarde des données - des échanges de données entre l'automate et le S.I.L RIALISME 	<p>Contrôle des sauvegardes</p> <p>Vérification des échanges de données lors de changement de version</p>

Tableau 2 : Conclusions de l'analyse de risque

1. Contexte

L'obtention de l'accréditation du PBP a été actée pour le CHU de Bordeaux dans le contrat de pôle de 2010. L'engagement dans la démarche s'est fait en 2 temps : 7 secteurs d'activités, nommés « laboratoires pilotes » se sont engagés dès 2010 puis l'ensemble du pôle en 2011. Le laboratoire d'hormonologie, présent au sein du service de Médecine Nucléaire, fait partie de ces 7 secteurs d'activités. Parmi les autres secteurs d'activités engagés dès 2010, on retrouve le plateau technique mesures physiques, la génétique moléculaire, la tumorothèque, l'hygiène hospitalière, le centre de référence des campylobacters et la biologie de la reproduction. Ces 7 secteurs d'activité ont été choisis parce qu'ils étaient déjà engagés dans une démarche qualité volontaire avec une reconnaissance externe des certaines activités. Les autres secteurs d'activité du PBP ont pris du retard dans la démarche d'accréditation en raison de restructurations. Lors de la visite initiale du COFRAC de Septembre 2014, ce sont uniquement les 7 laboratoires pilotes qui ont été évalués. Au sein du laboratoire d'hormonologie, c'est le dosage de la TSH qui a été présenté. Le périmètre de la visite a concerné toutes les étapes de la prescription jusqu'au rendu des résultats. Elle a porté sur la phase analytique des dosages présentés, mais également les phases pré-analytique et post-analytique de l'ensemble des examens réalisés de la même portée d'accréditation que la TSH, ainsi que les autres processus transversaux du système de management de la qualité du pôle de biologie.

Les travaux confiés dans le cadre de cette thèse ont été motivés par le fait que deux des principaux objets de l'évaluation sur site par le COFRAC concernent :

- l'évaluation de la qualité des résultats par l'exploitation des données des contrôles internes de qualité et des comparaisons inter laboratoires
- l'évaluation de la maîtrise technique par l'étude des dossiers de vérification/validation de méthode

L'analyse de risque réalisée au laboratoire identifie les CIQ comme point critique à maîtriser (Tableau 2).

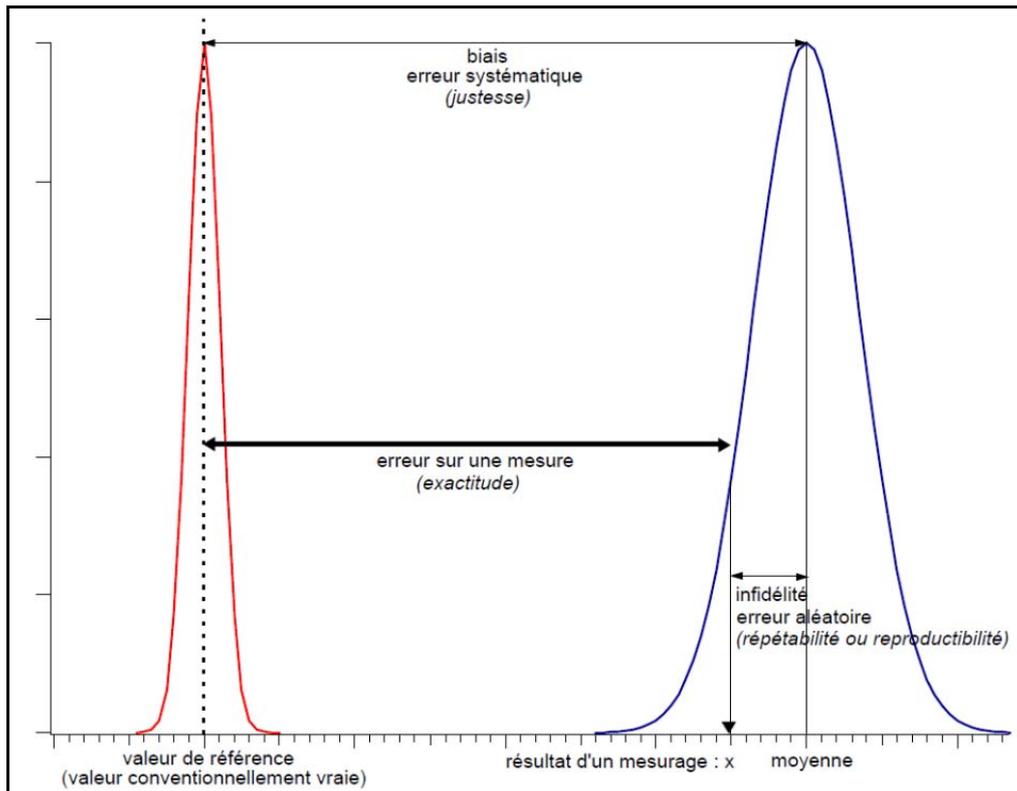
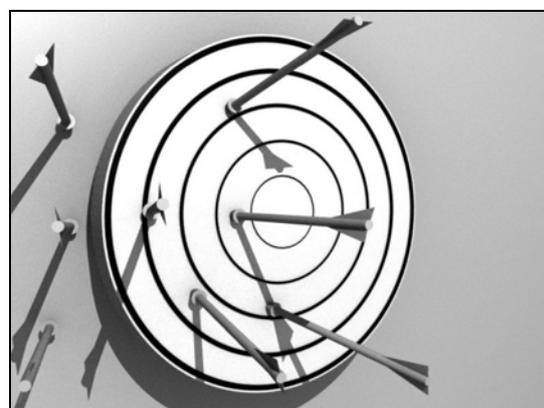
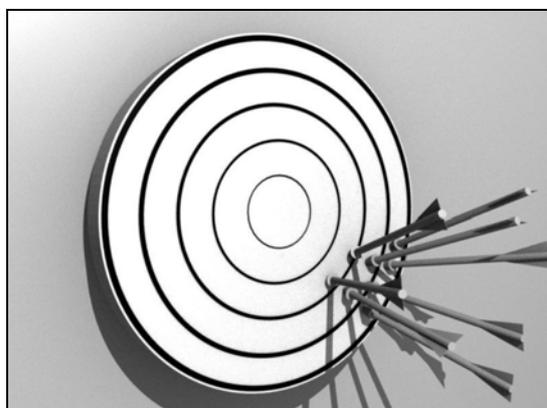
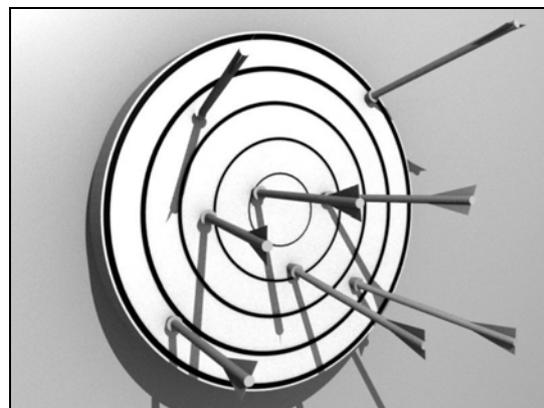


Figure 10 : Performances d'une technique évaluables à partir des données de CQ

Mesure juste et fidèle

Mesure juste mais peu fidèle



Mesure fidèle mais peu juste

Mesure peu fidèle et peu juste

Figure 11 : Influence de la fidélité et de la justesse [61]

2. Performance des méthodes de dosage

Les systèmes de dosage ne sont pas parfaits : pour un échantillon et une grandeur donnés, il existe une différence entre la valeur mesurée au laboratoire et la valeur attendue¹. L'erreur totale analytique représente cette différence. Elle est la somme de l'erreur systématique (erreur de justesse) et de l'erreur aléatoire (défaut de fidélité) [32] (Figure 10 et Figure 11). L'incertitude de mesure analytique permet d'estimer l'erreur totale analytique. La vérification/validation des méthodes de dosage ainsi que l'utilisation et la gestion des contrôles de qualité (CIQ, EEQ) permettent de connaître et de maintenir le niveau d'erreur du système analytique du laboratoire dans un niveau acceptable. Ce niveau acceptable doit être déterminé.

La fidélité :

Elle représente l'étroitesse de l'accord entre les valeurs mesurées obtenues par des dosages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées.

Le vocabulaire international de métrologie propose de distinguer :

- répétabilité : même procédure opératoire, mêmes opérateurs, même système de mesure, mêmes conditions de fonctionnement, même lieu pendant une courte période de temps (la même série analytique)
- fidélité intermédiaire (souvent dénommée reproductibilité intra-laboratoire) : même procédure opératoire, même lieu, pendant une période de temps étendue
- reproductibilité (reproductibilité inter-laboratoire) : lieux, opérateurs et/ou systèmes de mesure différents.

Il est nécessaire de considérer la fidélité car les analyses exécutées sur des matériaux dans des conditions similaires ne donnent pas des résultats identiques. Ceci est attribué aux erreurs aléatoires inévitables. Cette variabilité peut être exprimée sous forme d'écart-type, de variance ou de coefficient de variation. Le coefficient de variation (CV) est classiquement utilisé pour l'exprimer. Il est calculé en divisant l'écart-type (ET) par la moyenne (m) et en reportant le résultat sous forme de pourcentage : $CV = 100 \times ET/m$

¹ La valeur attendue d'un résultat peut différer sensiblement de la valeur vraie de ce même résultat. Cette dernière est obtenue à partir d'une méthode de référence, en revanche la valeur attendue est associée à un protocole opératoire donné. Pour le paramètre biologique d'un échantillon, il n'existe qu'une valeur vraie, mais autant de valeurs attendues qu'il existe de méthodes de dosage. [31]

Classiquement, la fidélité intermédiaire est évaluée de façon initiale à l'aide du coefficient de variation calculé à partir des résultats des CIQ sur au moins 15 jours et 30 déterminations.

La justesse :

Elle représente l'étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence. L'erreur de justesse peut être liée à l'erreur relative au titre attribué à l'étalon. La justesse peut être calculée en comparant la valeur de référence avec la moyenne des résultats donnés d'une méthode de mesure. Elle est normalement exprimée en termes de biais en valeur absolue ou en pourcentage. L'estimation du biais de justesse peut être établie par l'externalisation des CIQ :

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

m : valeur moyenne trouvée sur des échantillons de CIQ au laboratoire

v : valeur cible qui correspond à la moyenne des valeurs du groupe de pair

L'exactitude :

Elle représente l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur de référence. Dans la pratique en biologie médicale, la valeur de référence acceptée remplace la valeur vraie puisque la valeur exacte est le plus souvent inconnue. L'exactitude évalue un résultat alors que la justesse évalue une technique. L'exactitude correspond à la somme de l'erreur systématique (justesse) et l'erreur aléatoire (fidélité). L'écart observé correspond à l'inexactitude (erreur d'exactitude) ou erreur totale analytique. A ce jour, les LBM évaluent l'exactitude à partir des données des évaluations externes de la qualité [33]. L'inexactitude est exprimée en valeur absolue ou en pourcentage de la valeur cible à partir des résultats des EEQ ponctuels selon le calcul suivant :

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

x : valeur trouvée pour un échantillon d'EEQ

v : valeur cible à la moyenne des valeurs du groupe de comparaison

L'incertitude de mesure :

L'incertitude est un indicateur de la qualité d'un résultat et de la fiabilité qu'on peut lui accorder, elle est associée à tout résultat de mesure. Elle représente un intervalle de valeur dans lequel la valeur vraie peut raisonnablement se trouver. La connaissance de l'incertitude constitue une aide pour le clinicien dans sa prise de décision diagnostique ou thérapeutique et

apporte au biologiste médical un élément important pour l'interprétation du résultat, par exemple lorsque ce dernier est comparé à un résultat antérieur ou à un seuil de décision reconnu. Plusieurs approches sont proposées pour la détermination de l'incertitude dans le document du COFRAC SH-GTA-14 « Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale ». La méthode d'évaluation de l'incertitude retenue ici repose sur l'exploitation des données internes (CIQ) et des données externes telles que les EEQ ou les CIQ externalisés. L'incertitude combinée sur le résultat d'analyse est estimée en prenant la racine carrée de la somme quadratique des composantes de l'incertitude issues du CIQ et de l'EEQ :

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

- $u^2(CIQ)$ représente la variance (carré de l'écart-type) de l'ensemble des résultats du CIQ
- $u^2(EEQ)$ représente la variance liée à la justesse (biais)

Dans la plupart des situations, l'incertitude de la mesure est estimée à un niveau de confiance de 95%. L'incertitude élargie U représente cette estimation. Elle est calculée en multipliant l'incertitude combinée $u(C)$ obtenue par un facteur d'élargissement k égal à 2.

Le résultat de la mesure analytique, R , s'exprimera alors comme suit :

$R = \text{valeur mesurée} \pm U$ (unité)

3. Contrôles internes de qualité

3.1. Exigences

Le chapitre 5.6 « garantie de qualité des résultats » de la norme NF EN ISO 15189 [34] décrit les exigences en matière de contrôle interne de qualité :

- concevoir des procédures de contrôle de qualité
- utiliser des matériaux de contrôle qualité : qui se comportent de façon la plus fidèle par rapport aux échantillons des patients, de concentration proche des seuils de décision clinique et indépendants du fournisseur de réactifs ou d'instruments
- inspecter de façon régulière des contrôles de qualité en fonction de la stabilité et de l'impact des résultats sur la prise en charge du patient
- disposer d'une procédure visant à éviter de libérer les résultats des patients en cas de défaillance du contrôle qualité

- réanalyse des échantillons si un résultat de contrôle de qualité est invalide et étude d'impact sur les résultats d'échantillons de patients jusqu'au dernier contrôle valide
- revue régulière des données de contrôle de qualité pour détecter les tendances et prendre des mesures préventives le cas échéant

Le COFRAC, dans le SH-REF-02 [2], précise les exigences suivantes :

- définir la fréquence de passage, les niveaux de concentration, les bornes d'acceptabilité, les règles de validation (dont les seuils d'alarme et d'action), les limites de performance de fidélité, les série de dosage
- analyse régulière des CIQ sur plusieurs niveaux de concentration
- analyse en début et en fin de série ou à fréquence définie ou en cas d'intervention sur le processus analytique
- si le LBM dispose de plusieurs systèmes analytiques pour un même examen les CIQ sont utilisés pour apporter la preuve que les résultats fournis par ces différents instruments ou méthodes sont compatibles

3.2. Objectifs du contrôle interne de qualité

L'échantillon de CIQ est le support d'une ou plusieurs grandeurs qui, mesurées avec un même système analytique aux performances parfaitement stables, donne des résultats identiques. En conséquence, si des variations sont observées dans les résultats, elles correspondent à des variations du système analytique [35]. La finalité du CIQ est d'assurer la fiabilité des résultats rendus [32], en maîtrisant le niveau d'erreur du système analytique du laboratoire.

1er objectif : contrôle de l'étalonnage

La plupart des méthodes quantitatives sont régulièrement étalonnées, la conformité des résultats des échantillons de CIQ apporte la preuve de la maîtrise de cet étalonnage (improprement appelé calibration). Les échantillons de patients ne peuvent être analysés qu'après la vérification de la conformité de l'étalonnage.

2ème objectif : maîtrise du suivi du processus analytique

La mise en œuvre du CIQ vise à vérifier la conformité analytique des résultats en temps réel, détecter les erreurs et les corriger immédiatement.

A moyen terme, le CIQ permet de prévenir les erreurs par l'observation d'un certain nombre de phénomènes (dérives, variabilité, tendances ...).

3ème objectif : vérification des performances de la méthode

- Contrôle de la fidélité intermédiaire :

Les résultats des CIQ sont analysés périodiquement (généralement mensuellement) avec comparaison des coefficients de variation pour vérifier que la technique est reproductible dans le temps.

- Contrôle de la justesse :

Les résultats des CIQ externalisés peuvent constituer une approche de la justesse.

3.3. Le programme de CIQ préexistant du laboratoire

Une étude du programme de CIQ initial a été effectuée au laboratoire au moyen d'observations aux postes techniques et d'entretiens avec les personnels technique et biologique. Le dosage de la TSH étant présenté à la visite du COFRAC, notre objectif a été d'appliquer la nouvelle gestion des CIQ à l'ensemble des examens réalisés au laboratoire d'hormonologie compris dans la même portée d'accréditation que la TSH : code BB1 selon le document du COFRAC SH-INF-50 [24]. Les examens concernés sont ceux réalisés sur les automates DXI 800 BECKMAN, LIAISON DIASORIN et IMMULITE SIEMENS.

Il est apparu que conformément au GBEA, un programme de CIQ existait au laboratoire mais sans qu'une procédure correspondante n'ait été rédigée. Pour la plupart des examens, les sérums contrôles utilisés sur les automates sont des contrôles indépendants du fournisseur. Concernant le rythme de passage, les CIQ étaient dosés tous les matins avant le passage des échantillons de patients, mais la notion de série de dosage n'était pas définie. Tous les niveaux de CIQ étaient dosés. Il n'y avait cependant pas de dosage de CIQ le soir donc pas d'encadrement des séries de dosage qui ne soit effectué. Les résultats des dosages de CIQ sont transmis et interprétés dans le système informatique du laboratoire (SIL) : RIALISME et les limites acceptables étaient établies à partir de la moyenne et de l'écart-type cumulés calculés au fur et à mesure des dosages de la solution de contrôle et sur un même lot de réactif. L'interprétation immédiate consistait à considérer un résultat de CIQ comme conforme s'il était situé entre -2 écart-types et +2 écart-types par rapport à la moyenne (règle de Westgard 1_{2s}). Un résultat de CIQ situé en-dehors des 2 écart-types était considéré comme non-conforme. En cas de CIQ non-conforme, aucune conduite à tenir n'était formalisée. Dans la

plupart des cas, un redosage de la solution de CIQ était réalisé et un étalonnage du paramètre effectué si le résultat du redosage était non-conforme. Il n'y avait pas d'étude d'impact sur les résultats des patients en cas de CIQ non-conforme. Il n'existait pas de revue à moyen et long terme des résultats de CIQ. Dans le cas de changement de lot de solution de contrôle, il existait une période probatoire : la valeur cible (moyenne obtenue) et les limites acceptables (+/- 2 fois l'écart-type obtenu) étaient calculées après dosage de la solution de CIQ 5 à 10 fois dans la même journée.

3.4. Dispositions à mettre en place

Une procédure au sein du PBP existait déjà et décrivait de façon générale les règles à appliquer pour le choix, la réalisation et l'exploitation des contrôles de qualité. Cette procédure prévoyait la rédaction d'un document qualité spécifique à chaque discipline qui fixe les modalités pratiques du programme de gestion des CIQ :

- le nombre de niveaux à passer (minimum 2)
- la fréquence et répartition des contrôles, avec encadrement des séries de dosage
- les situations nécessitant le passage de contrôles supplémentaires
- la gestion des changements de lots de CIQ
- les limites d'acceptations

La rédaction d'une procédure spécifique au laboratoire d'hormonologie a été décidée pour préciser les points ci-dessus.

Pour compléter la procédure, les éléments suivants ont été définis :

- les examens du laboratoire concernés par le programme de CIQ
- le début et la fin d'une série de dosage
- les règles d'interprétation pour l'exploitation immédiate des résultats de CIQ
- la conduite à tenir en cas de CIQ non-conforme
- les modalités d'évaluation de l'impact sur les échantillons de patients en cas de CIQ non-conforme
- les modalités de la revue régulière des résultats de CIQ à moyen et long terme pour le suivi des tendances et phénomènes de dérive
- les moyens permettant d'assurer la traçabilité de toutes les étapes de la gestion des CIQ

Différentes modifications ont été apportées au programme initial de CIQ afin d'être en conformité avec les exigences normatives. Pour mesurer l'impact de ces changements,

Abréviation	Paramètre	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau spécial
T3L	T3 libre	IAP-1	IAP-2		
T4L	T4 libre	IAP-1	IAP-2		
TSH	thyroïdostimuline	IAP-1	IAP-2		
FSH	hormone folliculostimulante	IAP-1	IAP-3		
PRL	prolactine	IAP-1	IAP-3		
SDHA	sulfate de déhydroépiandrosterone	IAP-1	IAP-2		
CORT	cortisol	IAP-1	IAP-2	IAP-3	
FIVO2	œstradiol (pour les FIV)	IAP-1	IAP-2	FIV-3	
PRGE/FIVPRG	progestérone	IAP-1	IAP-2		
LH/FIVLH	hormone lutéinisante	IAP-1	IAP-2		
INS	insuline	IAP-1	IAP-2	IAP-3	
PE	peptide C	IAP-1	IAP-3		
ALDO	aldostérone sérique / urinaire	IAP-1	IAP-2	IAP-3	
ALDOU	aldostérone urinaire	UC-1	UC-2		
ATG/ATC	anticorps anti-thyroglobuline	SPE-1	SPE-3		
TPO	anticorps anti-thyropéroxydase	SPE-1	SPE-3		
EPO	érythropoïétine	SPE-1	SPE-3		
PTH	parathormone	SPE-1	SPE-3		
ACE	antigène carcino-embryonnaire	TM-1	TM-2		
AFP	α-foetoprotéine	TM-1	TM-2		
CA15.3	carbohydre antigen 15.3	TM-1	TM-2		
CA19.9	carbohydre antigen 19.9	TM-1	TM-2		
CA125	carbohydre antigen 125	TM-1	TM-2		
HCG	HCG totale	TM-1	TM-2		
PSAL	PSA libre	TM-1	TM-2		
PSAT	PSA total	TM-1	TM-2		
TG	thyroglobuline	TM-1	TM-2		
AI	anticorps anti-facteur intrinsèque	AI-1	AI-2		
PAO	phosphatase alcaline osseuse	PAO-1	PAO-2		
25D	25-hydroxy-vitamineD	25D-1	25D-2		
OSTEO	ostéocalcine	OST-1	OST-2		
HGH	hormone de croissance	HGH-1	HGH-2		
IGF1	insulin-like growth factor-1	IGF1-1	IGF1-2		
FBC	sous-unité β libre de l'HCG	FBC-1	FBC-2	FBC-3	MSM-3
PAA	pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA)	PAA-1	PAA-2		MSM-3
HTAFP	dosage de l'alpha-foeto-protéine pour la trisomie 21	BIO-1	BIO-2	BIO-3	MSM-3
HTHCG	dosage de l'HCG totale pour la trisomie 21	BIO-1	BIO-2	BIO-3	MSM-3

Tableau 3 : Nombre de niveaux de CIQ par paramètre

l'applicabilité de la procédure a été examinée pendant une période de 2 mois. Durant cette période, l'interprétation des CIQ a été effectuée en parallèle par le technicien de la paillasse et un biologiste. La bonne application de la procédure était vérifiée. Les suggestions du personnel et les difficultés rencontrées ont été notées. En fonction de ces éléments, une modification éventuelle de la procédure a été prévue.

3.5. Les échantillons de CIQ [32]

Les critères de choix des solutions de CIQ, exigés par la norme, sont rappelés dans la procédure générale du pôle de biologie PR-LAB-105 « Gestion des contrôles de qualité » :

- matrice proche des échantillons de patients pour que les erreurs détectées à l'aide des échantillons de contrôle soient le reflet exact de celles qui se produisent avec les échantillons de patient (pas d'effet matrice²)
- pas de prétraitement nécessaire (évite les erreurs de reconstitution)
- contrôles indépendants du fournisseur du système analytique et présentant des garanties de stabilité, de sécurité ...
- possibilité de réserver les lots sur une longue période (un an), donnant au laboratoire la capacité de détecter des écarts qui peuvent survenir avec de nouveaux réactifs et solutions d'étalonnage
- valeurs cibles ayant une signification clinique (physiologique/pathologique) ou couvrant l'étendue de la gamme
- coût

Les examens concernés par la procédure ont été définis dans un tableau mentionnant également le nombre de niveaux de CIQ utilisés (Tableau 3). Les valeurs des niveaux de concentrations n'ont pas été précisées. En effet, ces valeurs étant le reflet des performances du laboratoire, elles sont susceptibles de varier de façon régulière en fonction des changements de lots de contrôle et des mises à jour des valeurs cibles.

² Effet-matrice : Effet physico-chimique ou interférence de la matrice sur la capacité de la méthode analytique à mesurer correctement un analyte [36].

	Début de série	Milieu de série*	Fin de série
	Le matin, après maintenances et calibrations	Juste après la dernière FIV	16H Ne plus mettre d'échantillons après
LUNDI	Tous les niveaux	Niveaux 2 et 3	Niveau 1
MARDI	Tous les niveaux	Niveau 1	Niveaux 2 et 3
MERCREDI	Tous les niveaux	Niveaux 2 et 3	Niveau 1
JEUDI	Tous les niveaux	Niveau 1	Niveaux 2 et 3
VENDREDI	Tous les niveaux	Niveaux 2 et 3	Niveau 1

*Si la série débute après 11h30, notamment les jours de maintenances, ne pas passer de contrôles intermédiaires. Passer tous les niveaux en début de série et tous les niveaux en fin de série.

Tableau 4 : Rythme de passage des CIQ sur les automates DXI et LIAISON

Paramètres	Début de série	Fin de série
HCG	TM-1 TM-2	TM-1 TM-2
Trisomie 21	FBC-1 FBC-2 PAA-1 BIO-1 BIO-2 MSM-3	FBC-3 PAA-2 BIO-3 MSM-3

Tableau 5 : Rythme de passage des CIQ sur l'automate IMMULITE

3.6. Définition des séries de dosage et du rythme de passage des CIQ

Une série a été définie comme étant l'ensemble des dosages réalisés dans une même journée après les opérations de maintenance du matin et avant les opérations de maintenance du soir. Pour l'automate IMMULITE l'organisation est différente car il effectue le dosage des examens du dépistage prénatal de la trisomie 21. Les contraintes réglementaires imposent son utilisation par une personne habilitée pour la trisomie 21. La série, qui comprend le passage des CIQ, ne peut donc être réalisée que durant les heures de travail du personnel habilité.

Pour permettre un encadrement des séries de dosage, le rythme de passage des CIQ prévoit un dosage le matin et le soir, ainsi qu'un intermédiaire pour les automates DXI et LIAISON étant donné le nombre important d'échantillons dosés par jour (supérieur à 100). Lorsqu'un examen comporte 3 niveaux de CIQ, les niveaux 2 et 3 de CIQ sont regroupés. Le rythme de passage des CIQ pour les automates DXI et LIAISON a été défini dans le Tableau 4. Pour l'automate IMMULITE, étant donné le faible nombre d'échantillons, il n'y avait pas de contrôle intermédiaire en milieu de série. Le rythme de passage des CIQ de l'automate IMMULITE a été défini dans le Tableau 5.

Des dosages de CIQ supplémentaires sont prévus en cas de changement des conditions analytiques pendant la journée : clôture de série avant changement de lot de réactif, vérification d'un étalonnage après un changement de lot de réactif, reprise d'activité après une maintenance/réparation.

3.7. Détermination des limites acceptables

3.7.1. Période de qualification

Les valeurs de limites acceptables éventuellement indiquées par le fournisseur doivent être considérées comme une indication et ne doivent pas être utilisées pour interpréter les résultats de CIQ au quotidien [35]. Il appartient au laboratoire de définir ses propres tolérances (bornes) pour chaque contrôle mis en œuvre, en adéquation avec les performances analytiques du laboratoire, c'est-à-dire moyenne et CV de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) [37]. Pour cela, une période de qualification des nouveaux lots de contrôles, aussi appelée période probatoire, est effectuée. Durant cette période, la conformité de la technique est assurée par le lot de contrôle en cours [32].

La méthodologie appliquée au laboratoire pour la qualification des lots de CIQ consiste à doser en parallèle l'ancien et le nouveau lot de contrôle pendant 10 jours de façon à obtenir 20

Paramètre	Niveau 1 CV (%)	Niveau 2 CV (%)	Niveau 3 CV (%)	Niveau spécial CV(%)	Source
T3L	11	8			SFBC
T4L	10	8			SFBC
TSH	20	7			SFBC
ATC/ATG	11.5	11.5			Groupe de pair
TPO	9.2	9.2			Groupe de pair
TG	9.6	9.6			Groupe de pair
ACE	15	8			SFBC
AFP	15	8			SFBC
CA15.3	9	9			SFBC
CA19.9	12	10			SFBC
CA125	7	7			SFBC
PSAL	5.8	5.8			Groupe de pair
PSAT	20	7			SFBC
AI	7.3	6.3			Fournisseur
EPO	4.6	4.4			Fournisseur
FSH	10	8			SFBC
PRL	15	10			SFBC
SDHA	6.6	6.6			Groupe de pair
CORT	15	10	10		SFBC
FIVO2	25	10	10		SFBC
PRGE/FIVPRG	25	10			SFBC
LH/FIVLH	10	8			SFBC
INS	10	8	8		SFBC
PAO	4.4	4.9			Fournisseur
PTH	15	8			SFBC
25D	10.2	10.2			Groupe de pair
OSTEO	6.9	6.9			Groupe de pair
PE	15	8			SFBC
HGH	10	6			SFBC
IGF1	13.4	13.4			Groupe de pair
ALDO	9	6.9	5.8		Fournisseur
ALDOU	9.8	8.6			Fournisseur
FBC	8.1	8.1	8.1	8.1	Groupe de pair
PAA	8.4	8.4		8.4	Groupe de pair
HTAFP	15	8	8	8	SFBC
HTHCG	10	10	10	10	SFBC
HCG	15	10			SFBC

Tableau 6 : Limites acceptables de fidélité intermédiaire

valeurs du nouveau lot de CIQ. A partir de ces données, calcul de la moyenne, du CV et de l'écart-type directement dans le SIL.

Si aucun lot de CIQ qualifié ne peut être dosé en parallèle du nouveau lot de CIQ, les valeurs fournisseurs sont utilisées comme limites acceptables pour couvrir la période de qualification. Les limites acceptables fournisseurs étant très larges, les règles d'interprétation sont plus strictes sinon nous risquons des fausses acceptations. Si le CIQ est en-dehors des bornes fournisseurs, cela est considéré comme une règle de rejet et déclenchera une action.

3.7.2. Mise à jour des limites acceptables (« reciblage »)

Pour un examen et un lot de CIQ donné, après la période de qualification, nous utilisons une moyenne et un écart-type cumulés : les valeurs de la moyenne et de l'écart-type sont recalculées par le SIL dès qu'une nouvelle valeur de dosage de CIQ est incrémentée. La valeur cible retenue doit prendre en compte l'ensemble des sources normales de variations du système analytique au laboratoire [32]. Le logigramme décrivant la conduite à tenir pour la validation des CIQ indique les valeurs à inclure ou exclure des calculs de moyenne et écart-type (Figure 14).

3.8. Contrôle des performances de fidélité

Pour un examen donné, le CV obtenu par le laboratoire pour chaque lot de CIQ est un indicateur de la fidélité intermédiaire du système. Il peut être utilisé pour le suivi du bon fonctionnement du système analytique. La fidélité intermédiaire est un paramètre important du calcul de l'incertitude de mesure. La conformité de la fidélité intermédiaire d'une technique est établie en comparant le CV de fidélité intermédiaire mesuré par rapport au CV limite acceptable préétabli. Un CV au-delà de la limite acceptable peut être associé à un excès d'erreurs aléatoires. Cette vérification est réalisée systématiquement lors de la revue des résultats de CIQ à moyen et long terme, et au cas par cas lors de l'interprétation immédiate. Les limites de CV de fidélité intermédiaire sont définies dans le Tableau 6.

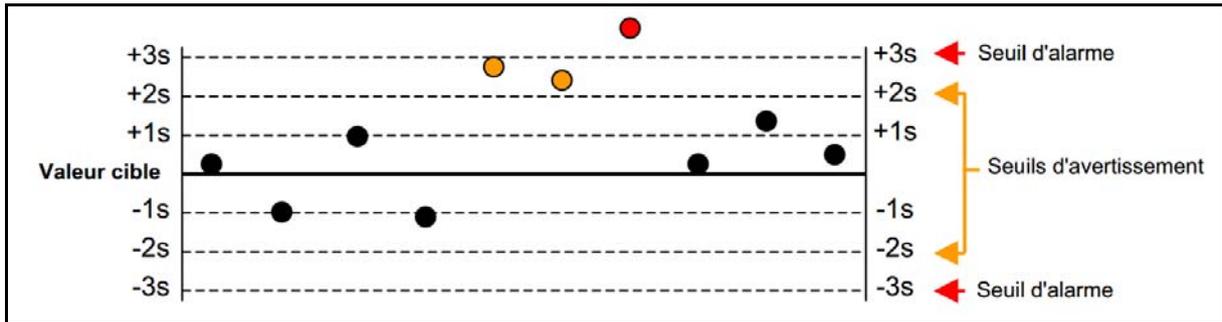


Figure 12 : Représentation de Levey-Jennings

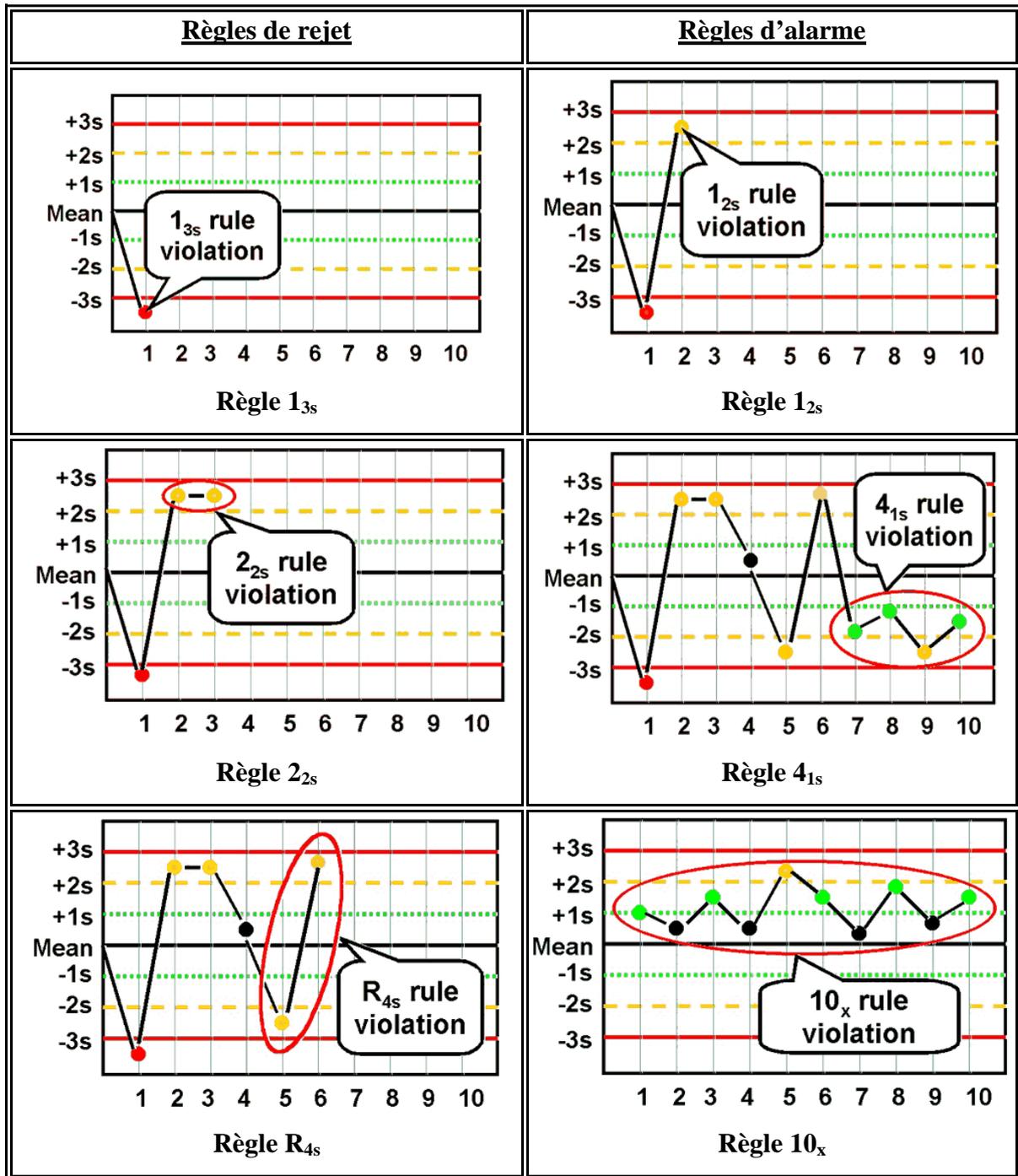


Figure 13 : Les règles de Westgard

3.9. Règles d'interprétation

Les résultats des CIQ sont représentés sous la forme de cartes de contrôles de type Levey-Jennings (Figure 12). Cette représentation permet de situer le résultat obtenu par rapport à la valeur cible, aux limites acceptables ainsi qu'aux résultats antérieurs [38]. L'acceptabilité des résultats est déterminée à partir des règles de Westgard.

Il existe six règles de base (Figure 13) :

- Règles d'alarmes :
 - 1_{2s} si 1 valeur est éloignée de plus de 2 ET de la moyenne
 - 4_{1s} si 4 valeurs consécutives sont éloignées de plus de 1 ET du même côté de la moyenne
 - 10_x si 10 valeurs consécutives sont situées du même côté de la moyenne
- Règles de rejet :
 - 1_{3s} si 1 valeur est éloignée de plus de 3 ET de la moyenne
 - 2_{2s} si 2 valeurs consécutives sont éloignées de plus de 2 ET du même côté de la moyenne
 - R_{4s} si 2 valeurs consécutives sont éloignées l'une de l'autre de plus de 4 ET

Les règles de Westgard permettent de détecter les erreurs aléatoires et les erreurs systématiques et de les distinguer (1_{3s} et R_{4s} pour détecter les premières et 2_{2s} , 4_{1s} et 10_x pour détecter les secondes).

S'il n'y a aucune règle d'alarme ni de rejet, les CIQ sont conformes et la série peut être validée.

Pour les règles d'alarme, la série peut être validée mais une surveillance est nécessaire. Parmi les règles d'alarme, il est nécessaire de différencier la règle 1_{2s} des règles 4_{1s} et 10_x . La règle 1_{2s} demande une surveillance particulière du système analytique puisque selon le résultat du CIQ suivant, il peut être généré une règle de rejet 2_{2s} ou R_{4s} .

En cas de règle de rejet, une action immédiate est nécessaire pour pouvoir valider la série.

3.10. Interprétation immédiate

La conduite à tenir en cas de transgression d'une ou plusieurs règles devait être formalisée pour les cas les plus fréquemment rencontrés. Un logigramme (Figure 14) représente de façon synthétique la conduite à tenir en fonction des règles de Westgard générées. Il est indiqué si les valeurs de CIQ doivent être incluses ou exclues des calculs de moyenne et écart-type cumulés (« valider » ou « invalider » les résultats de CIQ). Lorsque des précisions supplémentaires sont nécessaires, des renvois vers des chapitres de la procédure sont indiqués. Le biologiste n'est prévenu qu'après un certain nombre d'étapes ne posant pas de difficultés particulières. Les actions à mener sont décrites selon un ordre précis. Les erreurs qui ne nécessitent pas la reprise des échantillons de patients (erreur statistique, mauvaise solution de contrôle, effet matrice de la solution de contrôle) sont recherchées en premier. Lorsque la reprise d'échantillons de patients est nécessaire, une étude d'impact est prévue et le biologiste est prévenu.

3.11. Causes d'erreurs

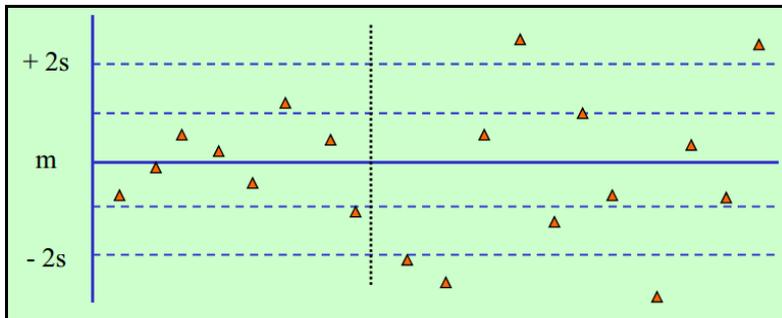
Les erreurs ont été regroupées en 2 catégories :

- Erreurs ne nécessitant pas la reprise des échantillons de patients : la série de patients peut être validée
- Erreurs pouvant nécessiter la reprise des échantillons de patients : la série de patients ne peut pas être validée sans qu'une étude d'impact n'ait été réalisée

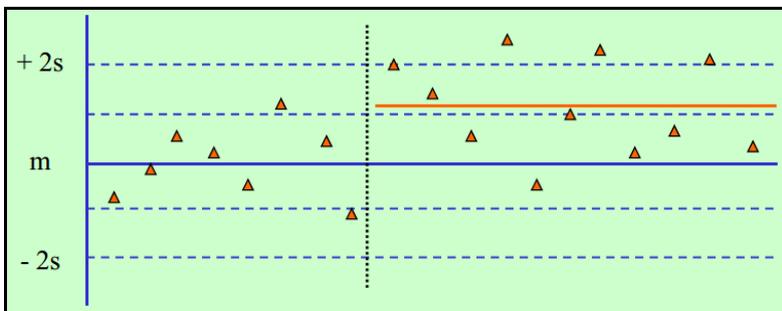
3.11.1. Erreurs ne nécessitant pas la reprise des échantillons de patients

Variations statistiques

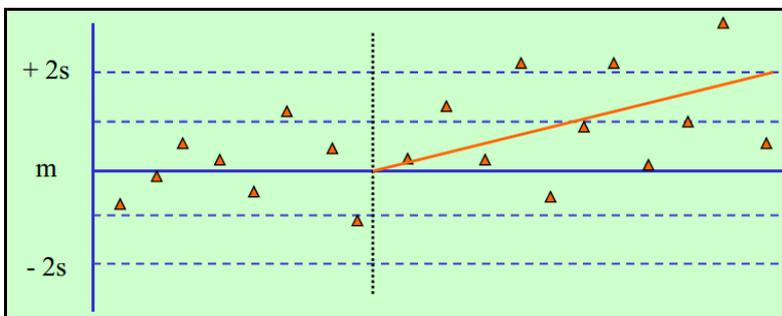
Statistiquement, environ 1 mesure sur 20 peut s'éloigner de façon aléatoire entre 2 et 3 ET (répartition gaussienne des résultats). On peut retrouver des mesures au-delà des 3 ET avec des probabilités encore plus faibles. Si la règle de rejet est due à une erreur statistique, le résultat du CIQ est valide lors du repassage et permet de valider la série. Le résultat en erreur est validé et intégré dans le calcul de la moyenne et de l'écart-type, sauf les valeurs aberrantes (au-delà de 5 écarts-types).



Erreur aléatoire



Erreur systématique constante



Erreur systématique progressive

Figure 15 : Interprétation des diagrammes de Levey-Jennings

Problèmes de solution de contrôle

Les autres paramètres de la même solution de CIQ sont le plus souvent impactés. Le dosage d'une nouvelle solution de contrôle correcte permet de valider la série. Les causes à rechercher sont le passage du mauvais niveau de solution de contrôle, le passage du mauvais lot de solution de contrôle, une erreur de reconstitution de la solution de contrôle, une mauvaise conservation de la solution de contrôle, une mauvaise homogénéisation de la solution de contrôle, la stabilité dépassée de la solution de contrôle ou le temps de remise à température insuffisant de la solution de contrôle.

Effet matrice de la solution de contrôle

Le plus souvent, une erreur systématique constante et un changement récent de lot de réactif (< 7 jours) sont évocateurs. Même si l'on utilise des solutions de contrôle de composition la plus proche possible des échantillons de patients, elles peuvent se comporter différemment en raison de la différence de composition de la matrice. Les CIQ peuvent être plus sensibles que les échantillons de patients aux changements des conditions analytiques. En cas de suspicion, une étude comparative des résultats d'échantillons de patients de l'hormonothèque avant et après changement de lot de réactif est réalisée. La significativité de la différence entre les 2 résultats est évaluée avec l'incertitude de mesure ou à défaut 2,8 fois l'écart-type de fidélité intermédiaire [39]. S'il n'y a pas de différence significative, l'effet matrice est avéré et les valeurs de CIQ obtenues avec le nouveau lot de réactif sont incluses dans le calcul de moyenne et écart-type cumulé. Dans le cas contraire, il faut rechercher une autre cause d'erreur.

3.11.2. Erreurs pouvant nécessiter la reprise d'échantillons de patients

En fonction de la cause, les erreurs sont aléatoires ou systématiques. L'identification du type d'erreur se fait en fonction de l'analyse des diagrammes de Levey-jennings [40] (Figure 15) et de la nature des règles de Westgard générées.

Les erreurs aléatoires

Elles sont le plus souvent détectées par la violation des règles 1_{3s} et R_{4s} , ou une augmentation du CV de fidélité intermédiaire. Les contrôles sont répartis autour de la moyenne. La moyenne est inchangée. Souvent le résultat d'un seul niveau de contrôle est hors des limites d'acceptabilité, les résultats des deux niveaux de contrôle n'évoluent pas de manière parallèle ou dans le même sens. Les erreurs aléatoires peuvent concerner l'opérateur (exécution

incorrecte du processus de mesure ou maintenances de l'instrument non respectées), les réactifs (changement de lot ou détérioration du réactif lors du stockage ou de l'emploi), les instruments (dérèglement du système de prélèvement, du processus de mélange du milieu réactionnel, du photomètre, cuves sales) ; il peut être nécessaire d'avoir recours au service après-vente de l'instrument pour mettre en évidence ces dysfonctionnements.

Les erreurs systématiques

Elles sont le plus souvent détectées par la violation des règles 2_{2s} , 4_{1s} et 10_x . Les contrôles sont du même côté de la moyenne. Le CV varie selon le nombre de résultats pris en compte. Les résultats des 2 niveaux de contrôle évoluent de manière parallèle ou dans le même sens. On distingue les erreurs systématiques constantes et progressives :

- Erreurs systématiques constantes

Un changement brutal des conditions opératoires est en cause. Il faut vérifier le réactif : son aspect, sa date de péremption, sa stabilité, les conditions de préparation et de stockage, un lot défectueux, un changement récent de lot de réactif (effet matrice). Si nécessaire il faut recharger en réactif neuf, ré-étalonner et contrôler l'étalonnage. Si ce n'est pas le réactif, il faut vérifier les conditions opératoires de la réaction (température ...), la nature du blanc de la réaction.

- Erreurs systématiques progressives

Une telle anomalie oriente vers une altération progressive de tout élément du système. Le plus souvent l'étalonnage est concerné. En première intention il faut ré-étalonner le paramètre et contrôler l'étalonnage. Si l'étalonnage ne règle pas le problème il est nécessaire de s'assurer que l'étalon de travail a été correctement conservé et reconstitué (solvant, pipette, délai) : observer la valeur et l'évolution du signal, la date de péremption, vérifier que le titre de l'étalon de travail a été judicieusement choisi en fonction du lot d'étalon et de la technique utilisée, et qu'il a été correctement programmé. Si ce n'est pas l'étalonnage, il faut vérifier la stabilité des contrôles, de la mesure.

3.12. Etude d'impact sur les échantillons des patients

Lorsqu'il survient une erreur qui peut nécessiter la reprise des échantillons de patients, le biologiste réalise une étude d'impact sur les résultats des échantillons jusqu'au contrôle précédent déclaré conforme [32]. Les dossiers des patients sont examinés au cas par cas au travers des critères suivants : la valeur du biais observé sur le CIQ (au moins au-delà de 3

Date	Opérateur	Analyte	Echantillon patient	Avant	Après	Ecart-Type du CQI	Différence	2.8°ET	Interprétation
29/08/2014	nb	CA19.9	2140828001	24.70	18.9	0.674	5.80	1.8872	Différence significative
29/08/2014	nb	CA19.9	21408280142	21.60	20.1	0.674	1.50	1.8872	Différence non-significative
29/08/2014	nb	CA19.9	21408280160	22.70	21.8	0.674	0.90	1.8872	Différence non-significative
29/08/2014	nb	CA19.9	21408280143	134.00	127.7	4.048	6.30	11.3344	Différence non-significative
29/08/2014	nb	Al	21408270209	1.61	1.62	0.033	-0.01	0.0924	Différence non-significative
29/08/2014	nb	Al	21408280080	1.04	1.04	0.023	0.00	0.0644	Différence non-significative
29/08/2014	nb	Al	21408280195	1.02	1.04	0.023	-0.02	0.0644	Différence non-significative
12/09/2014	rs	tsh	21409090086	4.15	4.33	0.296	-0.18	0.8288	Différence non-significative
12/09/2014	rs	tsh	21409090131	5.87	6.32	0.296	-0.45	0.8288	Différence non-significative
12/09/2014	rs	tsh	21409090194	5.29	6.08	0.296	-0.79	0.8288	Différence non-significative
12/09/2014	rs	tsh	21409090196	0.37	0.4	0.02	-0.03	0.056	Différence non-significative
17/09/2014	nb	25d	21409170195	14.90	16.2	0.598	-1.30	1.6744	Différence non-significative
17/09/2014	nb	25d	21409170199	11.30	12.8	0.598	-1.50	1.6744	Différence non-significative
17/09/2014	nb	25d	21409170226	30.80	31.9	1.843	-1.10	5.1604	Différence non-significative

Figure 16 : Tableur utilisé pour les comparaisons de résultats d'échantillons de patients

écart-types par rapport à la moyenne), la criticité du paramètre mesuré, la situation clinique, les valeurs de référence, les recommandations de sociétés savantes éventuelles, la cohérence avec des valeurs antérieures connues. Si une reprise d'échantillons de patients semble nécessaire, on s'assure au préalable que les échantillons de patients sont affectés. On redose 3 échantillons de patients de la série rejetée dans une série suivante avec CIQ valides puis on compare les résultats obtenus entre les 2 séries. La différence entre les 2 résultats est comparée à $2,8 \times ET$ de fidélité intermédiaire du niveau de contrôle de concentration la plus proche. Si la différence entre les 2 valeurs est inférieure à $2,8 \times ET$ de fidélité intermédiaire, il n'y a pas de différence significative. Les résultats initiaux de tous les patients antérieurs de la série sont conservés. Si la différence entre les 2 valeurs est supérieure à $2,8 \times ET$ de fidélité intermédiaire, il y a une différence significative pour les patients entre les 2 passages. Le nouveau résultat des échantillons de patients remplace l'ancien et il est nécessaire de repasser les autres patients de la série jusqu'au dernier CIQ conforme. En fonction des conditions pré-analytiques (stabilité du paramètre à redoser, quantité d'échantillon restante...), un rappel des patients pour effectuer un nouveau prélèvement pourra être nécessaire. Tout rappel de patients nécessite un contact préalable du biologiste-responsable avec l'ARS afin que son directeur général puisse gérer la crise sanitaire locale [2]. Pour les résultats déjà libérés et à modifier, le biologiste informe le clinicien de la modification des résultats par tous les moyens nécessaires (téléphone, fax, informatique) et envoie un rectificatif qui annulera et remplacera les comptes rendus précédents. Un tableur Excel a été développé pour automatiser les calculs des comparaisons de patients et assurer la traçabilité des études d'impact (Figure 16).

3.13. Revue des CIQ

Une revue à moyen terme est effectuée tous les 2 mois par un biologiste. Pour chaque paramètre, le biologiste vérifie la conformité des CV de fidélité intermédiaire par rapport aux limites pré-établies (Tableau 6). La recherche de règles de Westgard d'alarme 4_{1s} et 10_x est intéressante pour mettre en évidence des tendances ou des phénomènes de dérive [41]. En fonction de la conformité du CV et des règles d'alarme retrouvées, la mise en place d'actions préventives de type maintenance ou autres sont réalisées afin d'éviter les situations « hors-contrôle » [32].

Les non-conformités des CIQ des 2 derniers mois sont revues afin de mettre en œuvre des mesures préventives et correctives si nécessaire (augmenter la fréquence des étalonnages, des

Pools de contrôle "TSH"						
N° lot contrôle		40280	N° lot trousse			
Données		Graphique				
Séries	Lot trousse	Lot contrôle	Valdeur	IAP-1	IAP-2	
Moyenne (Fixe/Calculée)				0.34 C	4.97 C	
Ecart Type				0.022	0.310	
CV				6.4	6.2	
Moyenne ± 2 ET				0.30/0.38	4.35/5.59	
Nombre de valeurs				266	254	
Etat						
DXI (I 1)-29/08/2014	470117	40280	GA		4.82	
DXI (D 1)-29/08/2014	470117	40280	GA	0.33	5.02	
DXI (S 1)-28/08/2014	470117	40280	SP		5.42	
DXI (I 1)-28/08/2014	470117	40280	SP	0.34		
DXI (D 1)-28/08/2014	470117	40280	HD	0.32	4.71	
DXI (S 1)-27/08/2014	470117	40280	HD	0.32		
DXI (I 1)-27/08/2014	470117	40280	NB		5.07	
DXI (D 1)-27/08/2014	470117	40280	SP	0.33	5.00	
DXI (S 1)-26/08/2014	470117	40280	HD		4.63	
DXI (I 1)-26/08/2014	470117	40280	CV	0.31		
DXI (D 1)-26/08/2014	470117	40280	SG	0.34	5.26	
DXI (S 1)-25/08/2014	470117	40280	SG	0.36	5.09	
DXI (I 1)-25/08/2014	470117	40280	SP	0.31	4.97	
DXI (S 1)-22/08/2014	470117	40280	SP	0.32	4.61	
DXI (D 1)-22/08/2014	470117	40280	SG	0.36	5.01	
DXI (S 1)-21/08/2014	470117	40280	NB		5.72	
DXI (I 1)-21/08/2014	470117	40280	SP	0.37		
DXI (D 2)-21/08/2014	470117	40280	NB		5.85	
DXI (D 1)-21/08/2014	470117	40280	SP	0.37	4.02	
DXI (S 2)-20/08/2014	470117	40280	MHC	0.40		
DXI (S 1)-20/08/2014	470117	40280	NB	0.40		
DXI (I 1)-20/08/2014	470117	40280	SP		5.33	

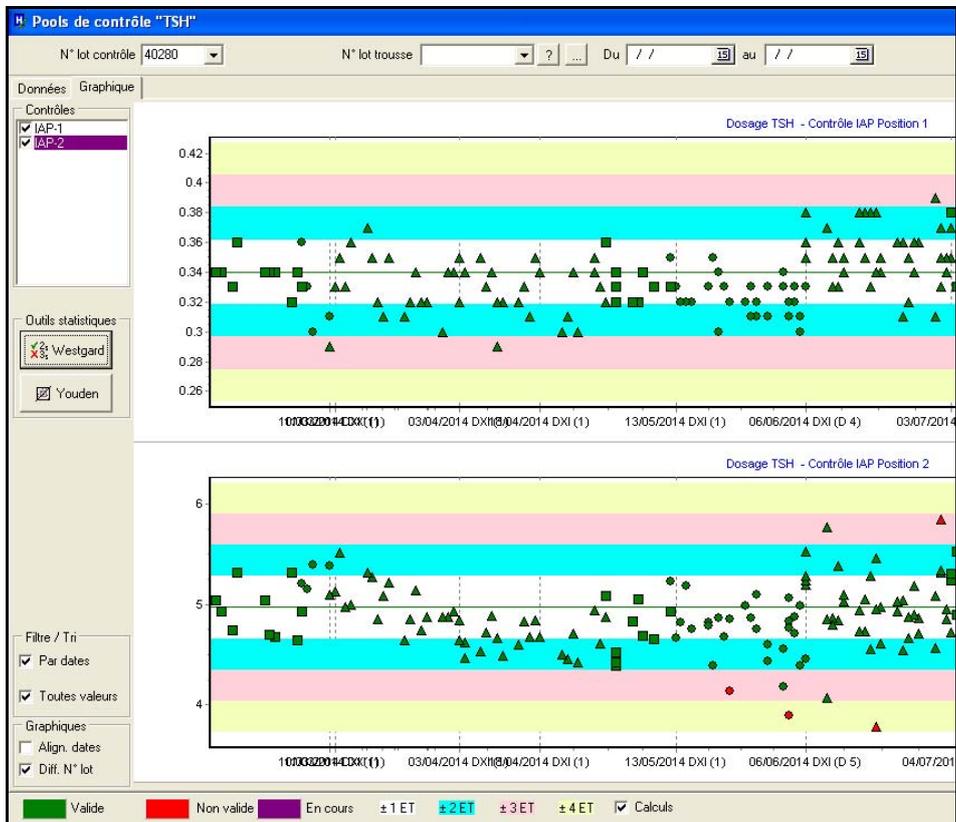


Figure 17 : Module CQ de RIALISME

maintenances ...). Une évaluation de l'efficacité des mesures correctives précédemment menées est également faite.

La revue à long terme consiste en la vérification par le biologiste responsable assurance qualité de la conformité de l'incertitude de mesure, recalculée tous les ans. En effet, le CV de fidélité intermédiaire évaluée par le programme de CIQ constitue la composante la plus importante de l'incertitude de mesure [35].

3.14. Paramétrage informatique

Le SIL du laboratoire possède un module de gestion des CIQ. Les résultats de CIQ sont représentés sous forme de tableaux et de diagrammes de Levey-Jennings (Figure 17).

Des évolutions de ce module ont été nécessaires pour rendre le logiciel plus fonctionnel pour les techniciens et biologistes et conforme à la nouvelle organisation. L'excellente implication des référents informatiques du laboratoire et du développeur du logiciel a permis d'effectuer ces changements de manière rapide et efficace.

Les résultats des CIQ sont triés par dates et peuvent être sélectionnés par numéro de lot de solution de CIQ ou numéro de lot de réactif. La moyenne, l'écart type et le coefficient de variation sont calculés automatiquement en fonction des données sélectionnées. Auparavant les données des CIQ étaient sélectionnées par numéro de lot de réactif, avec les limites acceptables correspondantes. Les limites acceptables étant changées à chaque changement de lot de réactif, il était impossible de détecter des écarts qui peuvent survenir avec de nouveaux réactifs et solutions d'étalonnage. Le nouveau paramétrage a introduit une sélection par défaut du numéro de lot de CIQ, pour permettre une interprétation en intra-lot de CIQ et inter-lot de réactif.

Pour faciliter l'interprétation des CIQ une vérification automatique informatique des règles de Westgard a été mise en place. Pour vérifier la fiabilité de cette nouvelle fonction, des tests ont été réalisés sur des dossiers pour vérifier la concordance entre les règles générées par l'informatique et l'interprétation effectuée par un opérateur entraîné. Il a été mis en évidence que les règles de rejet 2_{2s} n'étaient pas détectées. En conséquence, le logigramme de conduite à tenir immédiate prévoit qu'en cas de règle d'alarme 1_{2s} , il faut vérifier l'absence de règle 1_{2s} sur le CIQ précédent.

La traçabilité des règles de Westgard et des actions menées à la suite d'une anomalie sur le contrôle de qualité s'effectue dans des « mémos » correspondant au passage du CIQ, avec un code couleur pour différencier règles d'alarme en orange et règles de rejet en rouge.

	Début de série Le matin, après maintenances et calibrations	Fin de série 16H Ne plus mettre d'échantillons après
LUNDI	Tous les niveaux	Niveau 1
MARDI	Tous les niveaux	Niveaux 2 et 3
MERCREDI	Tous les niveaux	Niveau 1
JEUDI	Tous les niveaux	Niveaux 2 et 3
VENDREDI	Tous les niveaux	Niveau 1

Tableau 7 : Rythme de passage des CIQ sur les automates DXI et LIAISON (version 2)

Pools de contrôle "FSH"

N° lot contrôle 40280 N° lot trousse [?] ... Du / / [19] au / / [19]

Données | Graphique

Séries	Lot trousse	Lot contrôle	Valideur	IAP-1	IAP-3
Moyenne (Fixe/Calculée)				8.95 C	37.41 C
Ecart Type				0.392	1.949
CV				4.4	5.2
Moyenne ± 2 ET				8.17/9.74	33.52/41.31
Nombre de valeurs				253	252
Etat					
DXI [D 4]-09/10/2014	470105	40280	SP	9.20	
DXI [D 3]-09/10/2014	470105	40280	SP	10.40	
DXI [D 2]-09/10/2014	470105	40280	SP	10.30	38.70
DXI [D 1]-09/10/2014	470105	40280	SP	10.40	37.20
DXI [S 1]-08/10/2014	470105	40280	SP	10x 8.40	
DXI [D 2]-08/10/2014	470105	40280	SP CV	10x12s 8.00	34.40
DXI [D 1]-08/10/2014	470105	40280	CV SP	7.30	12s12s 33.00
DXI [S 1]-07/10/2014	470105	40280	BC		35.00
DXI [D 1]-07/10/2014	470105	40280	SP	10x 8.30	36.60
DXI [S 1]-06/10/2014	470105	40280	SG	10x 8.40	
DXI [D 1]-06/10/2014	470105	40280	CV	10x12s 7.80	34.80
DXI [S 1]-03/10/2014	470105	40280	CV	10x12s 8.10	
DXI [D 1]-03/10/2014	470105	40280	HD	8.20	38.00
DXI [S 1]-02/10/2014	470105	40280	MCC		36.80
DXI [D 1]-02/10/2014	470105	40280	SG	8.60	34.20
DXI [S 1]-01/10/2014	470105	40280	HD	41s 8.40	
DXI [D 1]-01/10/2014	470105	40280	SG	8.20	36.60
DXI [S 1]-30/09/2014	470105	40280	HD		12s 32.00
DXI [D 1]-30/09/2014	470105	40280	GA	12s 8.00	34.80
DXI [S 1]-29/09/2014	470105	40280	MCC	8.30	
DXI [D 1]-29/09/2014	470105	40280	GA	8.40	34.90

Figure 18 : Traçabilité des règles d'alarme de Westgard dans RIALISME

3.15. Révision de la procédure

La procédure a été mise en application dans le laboratoire début Juillet 2014. Une réunion a été organisée pour faire le bilan des différentes observations. A la lumière des observations suivantes, une révision de la procédure a été réalisée début Septembre 2014.

Le passage de CIQ en milieu de série a entraîné une charge de travail supplémentaire au moment où l'activité est maximale. En pratique ces résultats sont peu utilisés quand le CIQ de fin de série n'est pas conforme : étant donné que le niveau de concentration est différent, il ne permet pas de valider significativement plus d'échantillons. Le CIQ de milieu de série a été supprimé. Le nouveau rythme de passage mis en place est défini dans le Tableau 7.

Les règles d'alarme de Westgard sont toutes signalées en orange sur le diagramme de Levey-Jennings et le tableau des résultats. Il était difficile de distinguer l'alarme 1_{2s} des 2 autres alarmes alors que la conduite à tenir est différente. Le personnel technique devait faire beaucoup de manipulations informatiques pour retrouver la nature de la règle d'alarme. Depuis, une mise à jour du SIL permet d'afficher directement dans le tableau les différentes règles de Westgard générées (Figure 18). Cette mise à jour allège le travail du personnel technique qui n'a plus à noter manuellement les différentes règles.

La règle de Westgard 2_{2s} était d'interprétation variable à cause de sa définition trop imprécise : « 2_{2s} si 2 valeurs consécutives sont éloignées de plus de 2 écart-types du même côté de la moyenne ». Certains l'appliquaient sur un seul niveau de CIQ, d'autres sur plusieurs niveaux de CIQ en même temps. Il y avait également des interrogations sur son application en inter-série ou uniquement en intra-série. La bibliographie ne donne pas de définition consensuelle. Pour harmoniser les pratiques, une définition plus précise a été donnée : « 2_{2s} : 2 valeurs consécutives éloignées de plus de 2 écart-types du même côté de la moyenne, sur le même niveau de CIQ, en intra-série ou en inter-série. ».

Un problème de surconsommation de réactif a été signalé par le personnel technique pour des examens rarement dosés : érythropoïétine, phosphatase alcaline osseuse, anticorps anti-facteur intrinsèque. En effet, pour en moyenne 2 dosages d'échantillons de patients par jour, 4 dosages de CIQ sont réalisés en ajoutant les redosages éventuels. Au total, 70% d'une cartouche de réactif servait uniquement pour doser les CIQ. Ces examens étant non-urgents, les dosages ont été regroupés pour réaliser seulement 2 séries par semaine.

Pour d'autres examens non-urgents avec un nombre limité d'échantillons journaliers à doser, la possibilité de reporter des séries lorsque les CIQ de début de série sont non-conformes a été

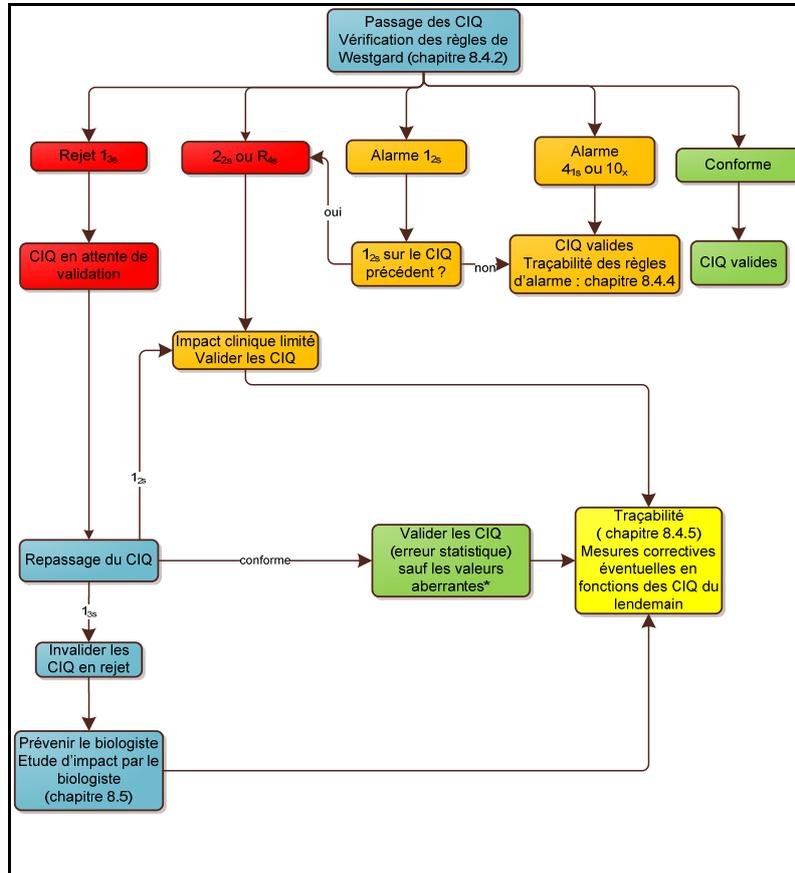
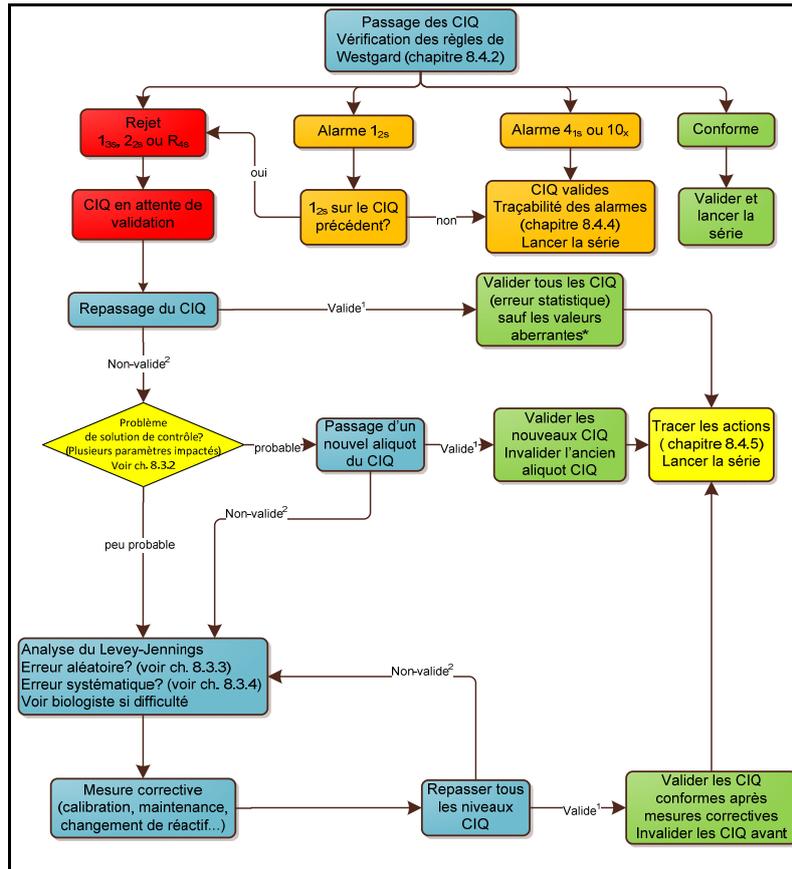


Figure 19 : Logigrammes d'interprétation des CIQ en début (haut) et en fin de série (bas)

introduite dans la procédure. En effet, la charge de travail ne permet pas toujours de réaliser les actions correctives (étalonnage) immédiatement en plus du reste de l'activité.

En fin de série, le logigramme de conduite à tenir est difficilement applicable par manque de temps. Pour remédier à cela, le nouvel aliquot était dosé le lendemain après les opérations de maintenance, ce qui n'était pas très rigoureux puisque ces opérations de maintenance pouvaient masquer le problème pré-existant. Le logigramme a été scindé en 2 pour différencier la conduite à tenir en début de série et en fin de série (Figure 19). En début de série, l'objectif est d'obtenir un système analytique conforme avant de commencer à doser les patients. Les éléments qui concernent l'impact sur les échantillons de patients ont été supprimés (les patients analysés précédemment sont couverts par le CIQ de fin de série). En fin de série, la conduite à tenir est orientée vers la validation de la série d'échantillons de patients.

3.16. L'évaluation sur site du COFRAC

L'évaluation sur site s'est déroulée dans le laboratoire les 22 et 23 Septembre 2014. L'évaluateur technique a jugé la procédure de gestion des CIQ très aboutie. Elle a été citée comme point fort lors de la réunion de clôture. Cependant l'analyse des résultats de CIQ lors de la visite a généré un écart critique de la part de l'évaluateur technique :

Constat : La stratégie de passage des CIQ prévoit le passage de 2 niveaux de contrôle le matin et un niveau de contrôle le soir (TSH). Le 15 septembre, le contrôle bas de fin de journée est correct mais le lendemain matin le contrôle bas est correct mais le contrôle niveau normal présente une alarme rejet 3s. Aucune non-conformité n'est tracée et aucune étude d'impact n'a été réalisée (repassé des patients de la veille).

Conséquence avérée : Non prise en compte d'un CQ non-conforme.

Risque induit : Rendu de résultats erronés pour les patients de la série de la veille.

En réponse, une analyse de l'impact sur les résultats de TSH des échantillons de patients du 15 septembre a été réalisée. 3 patients de la série du 15 septembre ayant une concentration normale de TSH ont été repassés dans une autre série, et les résultats ont été comparés entre eux par rapport à la valeur approchée de l'incertitude de mesure (2,8 fois l'écart-type de fidélité intermédiaire). Il n'y avait pas de différence significative donc pas d'impact de la non-conformité du CIQ sur les résultats des échantillons de patients de la série du 15 septembre

Date	Opérateur	Analyte	Echantillon patient	Avant	Après	Ecart-Type du CIQ	Différence	2.8*ET	Interprétation
15/09/2014	RS	TSH	██████	3,16	2,94	0,316	0,22	0,8848	Différence non-significative
15/09/2014	RS	TSH	██████	3,39	3,09	0,316	0,30	0,8848	Différence non-significative
15/09/2014	RS	TSH	██████	3,25	3,33	0,316	-0,08	0,8848	Différence non-significative

Tableau 8 : Etude d'impact sur les échantillons de TSH

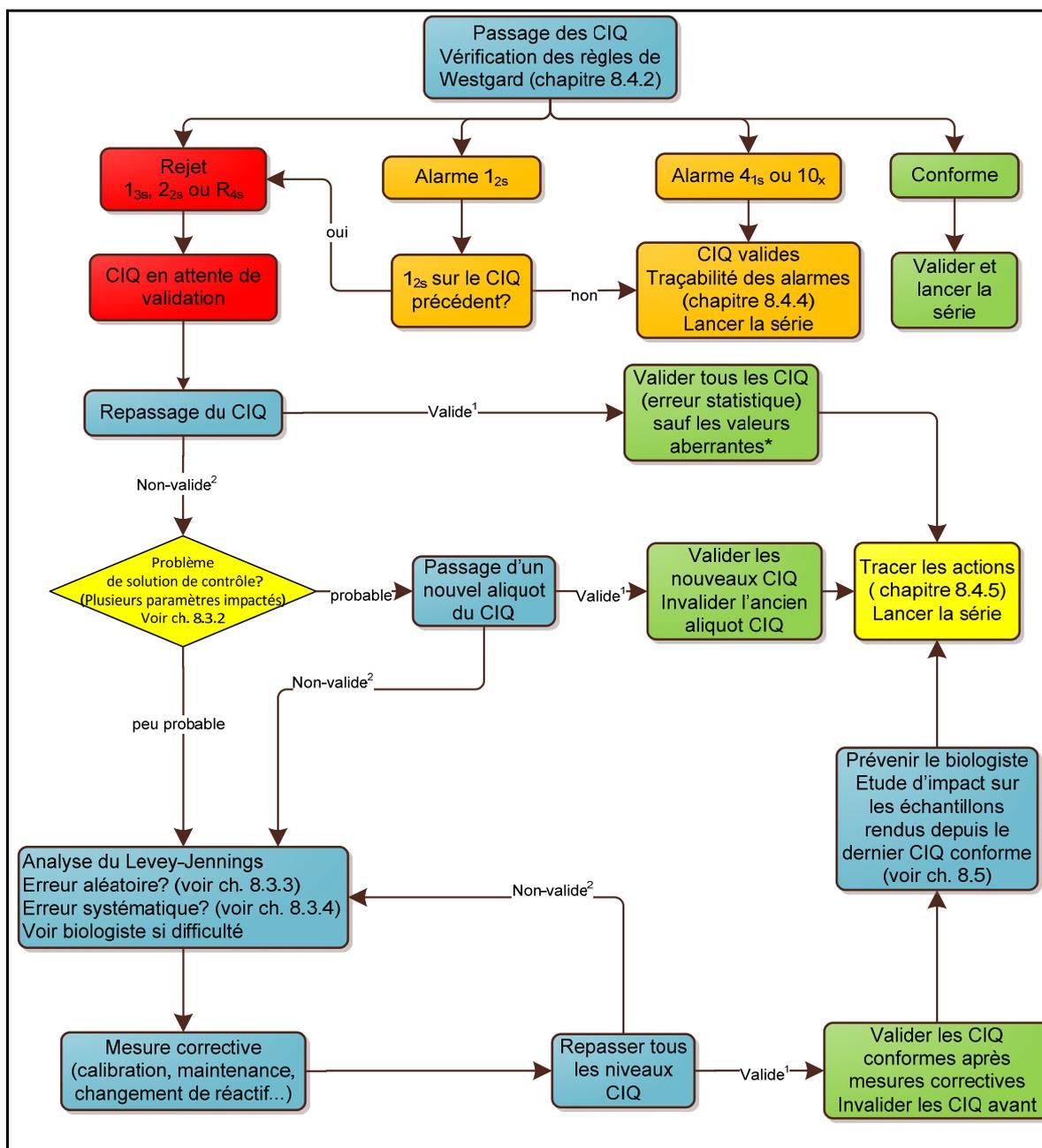


Figure 20 : Logigramme d'interprétation des CIQ de début de série (version 3)

(Tableau 8). La correction de cet écart a fait l'objet d'une 2^{ème} révision de la procédure de gestion des CIQ : le logigramme de gestion des CIQ de début de série a été modifié pour y intégrer l'étude d'impact sur les échantillons rendus depuis le dernier CIQ conforme (Figure 20).

3.17. Discussion

3.17.1. Choix des échantillons de CIQ

Il n'a pas été possible de satisfaire à l'ensemble des exigences de la norme portant sur le choix des échantillons de CIQ. En effet le choix de fournisseurs de CIQ est restreint puisque notre laboratoire est rattaché à une structure publique : tout achat est encadré par le code des marchés publics et passe par des appels d'offres.

Selon la norme il est préférable d'utiliser un matériau de CIQ mis au point et fabriqué indépendamment de toute trousse spécifique d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro* et fourni isolément. En effet, les contrôles dépendant des fournisseurs sont conçus pour être utilisés uniquement sur leurs propres systèmes de tests. Ils sont souvent fabriqués à partir des mêmes matériaux que les solutions d'étalonnage. En conséquence, le contrôle peut mimer la solution d'étalonnage, le rendant moins sensible aux changements de performances du dispositif [42]. Pour des examens peu courants comme la phosphatase alcaline osseuse et les anticorps anti-facteur intrinsèque, seuls des CIQ dépendant du fournisseur sont disponibles.

La norme précise que l'échantillon de CIQ doit avoir le comportement le plus proche possible des échantillons biologiques analysés. La plupart des solutions de contrôle proposées par nos fournisseurs sont constituées d'une matrice non-humaine. Il en résulte des effets matrices : des différences de comportement sont mises en évidence entre les solutions de contrôle et les échantillons de patients, pouvant entraîner de faux rejets ou de fausses acceptations selon les cas.

Les niveaux de concentration proposés par les solutions de contrôle commerciales ne correspondent pas toujours à nos zones d'intérêt clinique alors que cette disposition est préconisée dans la norme. L'explication est que la population rencontrée au CHU présente des paramètres biologiques ayant souvent des concentrations très pathologiques, éloignées des niveaux de concentration proposés dans les solutions commerciales. En conséquence, nous ne pouvons pas prouver la maîtrise de notre système analytique sur toute la gamme de concentration rencontrée en pratique clinique. Par exemple pour les patients cancéreux qui ont des concentrations élevées de marqueurs tumoraux nous ne disposons pas de CIQ de

concentration du même ordre de grandeur. Pourtant, le suivi de ces marqueurs est important pour la surveillance de leur pathologie et il est donc indispensable de pouvoir rendre un résultat fiable à ces niveaux de concentration élevée.

L'alternative possible à l'utilisation de solutions de CIQ commerciales, citée dans le SH-GTA-06, est l'utilisation de pools d'échantillons biologiques. Cette solution a plusieurs avantages : indépendance des fournisseurs, matrice humaine, choix du niveau de concentration dans les zone d'intérêt clinique. Cependant l'inconvénient majeur est de devoir prouver la stabilité du paramètre durant toute la période d'utilisation du pool. De plus il faut pouvoir collecter suffisamment de sérums pour une utilisation sur une longue période. Cette solution n'est donc pas généralisable. Elle est plutôt à réserver pour un nombre restreint d'examen dont les CIQ sont difficilement trouvables dans le commerce.

Au vue des possibilités offertes par les fournisseurs de CIQ, seuls les changements suivants ont été apportés par rapport à l'organisation déjà en place :

- introduction d'un 2^{ème} niveau de CIQ pour l'EPO dans des valeurs hautes
- réduction de 4 à 3 du nombre de niveaux de CIQ pour le dosage d'œstradiol pour les FIV. Les niveaux de contrôles étaient à 83, 257, 560 et 800 pg/mL. Le niveau intermédiaire à 560 pg/mL a été supprimé étant donné qu'il existe déjà un autre niveau intermédiaire et que l'on recherche surtout des valeurs très hautes d'œstradiol en FIV
- choix de solutions de contrôle indépendantes pour le dosage de l'aldostérone lorsque celui-ci est devenu automatisé : il a été proposé en première intention l'utilisation de contrôles dépendant du fournisseur (Diasorin) mais nous disposons de solutions de contrôle indépendantes de Biorad qui contiennent de l'aldostérone.

3.17.2. Encadrement des séries de dosage

Pour pouvoir réaliser un encadrement des séries de dosage, il est nécessaire de définir la notion de séries de dosage. Une série analytique peut être définie comme un intervalle (c'est-à-dire une durée ou un nombre de mesures) durant lequel la justesse et la fidélité du système de mesure sont considérées comme stables [43] à partir d'une phase unique d'étalonnage [35]. Le laboratoire réalise les dosages automatisés en journée les jours ouvrables. Il n'y a pas de dosage la nuit et le laboratoire est fermé les week-ends et jours fériés. Des opérations de maintenance susceptibles de modifier les performances analytiques sont réalisées en fin de journée (rinçage des analyseurs) et le matin avant le passage des échantillons (redémarrage informatique des analyseurs, maintenance hebdomadaire le lundi matin). Pour répondre à l'exigence d'encadrement des séries de dosage, il a fallu introduire le dosage de CIQ le soir en

fin de série. Le soir, le dernier technicien finit à 17h30. Il faut donc que tous les échantillons de patients et tous les CIQ soient dosés et validés avant 17H30. Les dosages les plus longs ayant une durée d'une heure, les CIQ sont dosés à 16h et les échantillons arrivés après 16H ne sont dosés que le lendemain. Cette réorganisation apporte une meilleure garantie de qualité des résultats mais entraîne un allongement du délai de rendu des résultats pour une partie des échantillons. Ce changement est perçu comme une régression par le personnel technique puisque précédemment les échantillons étaient dosés jusqu'à 17h30. Cependant, il est impossible de revenir sur cet encadrement des séries. En effet, il a été jugé insuffisant par l'évaluateur technique du COFRAC (voir l'écart critique du chapitre 3.16).

3.17.3. Optimisation du programme de CIQ : faux rejets et fausses acceptations

Le choix des différentes dispositions mises en place doit permettre un équilibre entre coût et risque. En effet, la gestion des CIQ doit être optimisée pour limiter à la fois les fausses acceptations, responsables du rendu de résultats erronés pour les patients, et les faux rejets, responsables du gaspillage des ressources humaines et matérielles. L'épargne du temps technique est un élément important puisque des activités supplémentaires ont été introduites sans augmentation du temps de travail : qualification des lots de contrôle, passage de CIQ en fin de série, interprétation des CIQ plus complexe. L'optimisation a été réalisée à différents niveaux : détermination des limites acceptables à partir d'une période probatoire, limites acceptables cumulées, interprétation selon les règles de Westgard.

3.17.4. Période de qualification des lots de contrôle

Les limites acceptables sont déterminées à partir d'une période probatoire dont la méthodologie correspond à celle du guide technique du COFRAC SH-GTA-06. Les limites acceptables obtenues sont moins permissives que les limites fournisseurs, et en même temps plus larges par rapport aux limites obtenues selon la méthodologie utilisée précédemment au laboratoire. En effet, l'ancienne méthodologie correspond davantage à une étude de répétabilité qu'à une étude de reproductibilité et ne reflète pas les conditions habituelles de dosage au laboratoire : l'écart-type obtenu est très bas, les bornes de limites acceptables calculées sont très étroites et le nombre de faux rejet est important. L'inconvénient de la nouvelle méthode de qualification est qu'elle impose au personnel technique d'anticiper de plusieurs semaines les changements de lot de contrôle. En effet il faut qu'il reste suffisamment de flacons de l'ancien lot de CIQ pour couvrir la période de qualification. En pratique des oublis peuvent se produire et il existe des examens pour lesquels les changements

de lot de CIQ sont rapprochés (phosphatase alcaline osseuse). Dans ces situations, l'utilisation transitoire des limites acceptables du fournisseur est possible.

3.17.5. Limites acceptables cumulées

Les limites acceptables obtenues au laboratoire nécessitent des mises à jour. En effet, la période de qualification répond aux exigences du COFRAC mais reste insuffisamment représentative des performances analytiques habituelles rencontrées au laboratoire. L'échantillonnage est réduit (20 valeurs), réalisé sur une période de temps courte et souvent en intra-lot de réactif. Les valeurs de moyenne et d'écart-type obtenues restent éloignées de la concentration vraie du sérum de contrôle et de l'écart-type analytique exact de la méthode [44]. La sous-évaluation de l'écart-type de la méthode concourt à la génération de faux rejets. Dans le but de se rapprocher de la concentration vraie du sérum de contrôle et de l'écart-type analytique exact de la méthode, nous utilisons une moyenne et un écart-type cumulés. De cette façon, les limites acceptables sont moins dépendantes de la période de qualification puisqu'à chaque dosage de solution de contrôle le nombre de valeurs pris en compte dans le calcul de la moyenne et de l'écart-type augmente. Du temps technique et biologique est gagné par la moindre fréquence des faux rejets et l'automatisation de la mise à jour des valeurs acceptables. Cependant, lorsque le nombre de valeurs prises en compte est faible, les statistiques cumulées sont moins sensibles que les statistiques fixées. En effet, si un nombre important d'erreurs aléatoires survient, l'écart-type calculé peut augmenter de façon excessive, entraînant de fausses acceptations. Pour éviter cette situation, toutes les valeurs de dosage de CIQ ne sont pas incluses dans les calculs de moyenne et écart-type cumulés (chapitre 3.7.2), et la conformité du CV cumulé de fidélité intermédiaire est vérifiée régulièrement par rapport aux CV limites acceptables préétablis (chapitre 3.8). Au fil du temps, les statistiques cumulées se stabilisent et peuvent simuler une statistique fixée. En conséquence, les statistiques cumulées fournissent un degré de sensibilité raisonnable pour les écarts et les tendances.

3.17.6. Règles de Westgard

Auparavant, l'interprétation des CIQ consistait à considérer toute valeur au-delà de 2 écart-types comme non-valide. Or, statistiquement, 95% des valeurs normales sont comprises dans l'intervalle ± 2 écart-types par rapport à la moyenne. Environ 4,5% de toutes les valeurs de CQ valides seront comprises dans les limites de $\pm 2ET$ et $\pm 3ET$. Les laboratoires qui utilisent les limites $\pm 2ET$ rejettent trop fréquemment de bonnes séries. Cela signifie que les

Paramètre	Fidélité (CV)
HbA1c	< 4%
Troponine	< 10 %
Cholestérol total	< 3 %
Triglycérides	< 5%
Cholestérol HDL	< 4 % si HDL \geq 1,09 mmol/L sinon ET < 0,0017

Tableau 9 : Exigences cliniques [49]

Niveau de performance	Optimale	Souhaitable	Minimale
Fidélité	$I < 0,25 * CVw$	$I < 0,5 * CVw$	$I < 0,75 * CVw$
Erreur de justesse	$B < 0,125 * (CVw^2 + CVb^2)^{1/2}$	$B < 0,25 * (CVw^2 + CVb^2)^{1/2}$	$B < 0,375 * (CVw^2 + CVb^2)^{1/2}$
Erreur totale	$ET < (1,65 * I) + B$ ($p < 0,05$)	$ET < (1,65 * I) + B$ ($p < 0,05$)	$ET < (1,65 * I) + B$ ($p < 0,05$)

CVw : CV within-subject : coefficient de variation intra individuel ; CVb : CV between-subject : coefficient de variation inter individuel.

Tableau 10 : Modèle de CG Fraser [44]

échantillons de patients sont retestés inutilement, que du travail et des matériaux sont gaspillés et que le rendu des résultats de patients est retardé inutilement. L'application des règles de Westgard permet de diminuer le nombre d'actions, et donc la perte de temps : diminution des faux rejets liés à l'application de la règle 1_{2s} uniquement pour le rejet des séries, augmentation de la détection des erreurs par rapport à celle obtenue en appliquant uniquement la règle 1_{3s} pour le rejet des séries. En pratique, l'introduction de ces règles a été difficile. D'une part l'interprétation était plus complexe que la règle 1_{2s} qui permettait de classer de façon binaire le résultat en « normal » et « anormal ». D'autre part la règle 1_{2s} apparaissait comme mettant le système analytique en sursis. Des redosages de CIQ non justifiés ont été réalisés alors que peu de règles 1_{2s} ont généré des règles 2_{2s} au final. Ces nouvelles règles ont permis l'intégration des valeurs à 1_{2s} ce qui a permis d'augmenter l'écart-type, le rapprochant de l'écart-type exact de la méthode.

3.17.7. Performances de fidélité : le choix de l'état de l'art

Le COFRAC renvoie le choix des limites de performances de fidélité à la littérature : « *Ces valeurs sont à comparer aux limites acceptables fournies par l'HAS (HbA1c, bilan lipidique, troponine), par l'état de l'art (VALTEC) ou des objectifs analytiques reconnus (RICOS, CLIA, QUALAB, RILIBA ...)* ».

La conférence internationale de Stockholm de 1999 établit une hiérarchie de modèles applicables [45]. En descendant depuis le sommet de cette hiérarchie, les modèles proposés reposent sur :

- **Les exigences cliniques** : Des objectifs précis sont définis par des cliniciens sur certains analytes. Compte tenu de l'hétérogénéité des besoins cliniques, cette approche est limitée à de trop rares cas (Tableau 9).
- **Les variations biologiques** : Ricos [46] propose une base de données qui spécifie des objectifs analytiques de fidélité I, d'erreur de justesse B et d'erreur totale ET. Ces données sont calculées à partir des variations intra-individuelles et inter-individuelles de l'analyte considéré selon un modèle établi par CG Fraser (Tableau 10).
- **L'état de l'art** : Il désigne la qualité des méthodes analytiques actuellement disponibles et représente la performance des laboratoires dans des conditions de routine.

L'avantage de considérer les performances analytiques d'un dosage par rapport à la variation biologique de l'analyte est de mieux apprécier la valeur du résultat obtenu notamment pour déterminer si une variation de concentration est significative lors du suivi d'un patient. Cependant les valeurs proposées sont peu robustes : elles sont obtenues à partir d'échantillons

souvent réduits compte tenu de la difficulté de recrutement des patients, composés le plus souvent de sujets en bonne santé. Ainsi, les limites acceptables obtenues sont souvent sévères, voire inaccessibles pour certains examens avec les possibilités techniques actuelles. Le traitement statistique des données de variabilité biologique utilise souvent l'hypothèse de distribution gaussienne des valeurs, ce qui n'est pas le cas de la plupart des examens d'hormonologie, dont la TSH [47].

L'état de l'art offre l'avantage d'être basé sur des performances métrologiques obtenues dans des conditions de pratique quotidienne et permet ainsi d'assurer une maîtrise appropriée des systèmes analytiques, même s'il ne tient pas compte des besoins cliniques. Il constitue un objectif atteignable. Le groupe de travail de la Société française de biologie clinique (SFBC) a publié des spécifications et des normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques en 1999 essentiellement appuyées sur l'état de l'art (protocole Valtec) [48]. Le CV Valtec est celui obtenu par les 50 % de laboratoires les plus performants parmi les participants aux différents programmes de contrôles de qualité intra/inter laboratoire de l'époque. Ces normes de spécifications sont couramment employées en France [49]. L'état de l'art étant par définition en évolution, les propositions du groupe de travail de la SFBC mériteraient d'être régulièrement renouvelées.

Au vu des performances actuelles des méthodes utilisées, le modèle de l'état de l'art est apparu plus accessible. Le modèle des variations biologiques n'a pas été retenu. L'article de la SFBC établit des limites de fidélité pour les examens de biochimie les plus courants. Pour les examens, la littérature est pauvre. En l'absence de données bibliographiques, nous avons utilisé le CV moyen du groupe de pairs obtenu à partir des données d'évaluation externe de la qualité. Ce CV du groupe de pairs correspond à la dispersion des valeurs obtenues par les laboratoires utilisant la même méthode de dosage sur le même échantillon d'EEQ. Il représente une approche de la fidélité intermédiaire basée sur l'état de l'art [50]. Les examens pour lesquels nous ne disposons pas de CV de groupe de pairs (pas d'EEQ ou nombre de participants insuffisant), les données des fournisseurs de trousse de réactifs ont été utilisées. Les fabricants donnent des objectifs qui reflètent les conditions idéales de fonctionnement du système de dosage, plus sévères que l'état de l'art [36]. Notre interprétation est plus permissive puisque le franchissement de ces limites est possible sans que le système analytique soit altéré.

3.17.8. Interprétation immédiate

Le logigramme d'interprétation immédiate des CIQ constitue la partie centrale de la procédure. Sa conception a été laborieuse : il a fallu tenir compte des exigences normatives, le rendre compréhensible pour le personnel et également fidèle à la pratique. La prise en compte des suggestions du personnel technique a été un élément déterminant pour sa bonne application pratique. Le logigramme a permis d'avoir une conduite à tenir claire et harmonisée, limitant l'interprétation personne-dépendante. Les situations non-prises en compte se sont révélées rares après les différentes mises à jour réalisées. De plus, le logigramme a constitué un bon support pour la formation et le maintien des compétences dans le contexte de turn-over important du personnel sur les différents postes et d'accueil de nouveaux arrivants.

3.17.9. Les études d'impact

Conformément à la norme, nous avons introduit la réalisation d'études d'impact clinique sur les échantillons de patients. Aucun document de référence ne précise les critères à prendre en compte pour réaliser ces études. L'expertise du biologiste peut être utilisée dans ce contexte mais les critères utilisés sont souvent subjectifs, avec le risque d'avoir des différences d'interprétation selon les biologistes. De plus, contrairement aux prescripteurs, nous ne disposons pas de l'ensemble du contexte clinique des patients. En conséquence nos conclusions peuvent être erronées. En pratique nous réalisons préférentiellement le redosage d'une partie des échantillons avec comparaison par rapport au résultat précédent car cette méthode constitue une preuve beaucoup plus objective. Le bilan des différentes études d'impact réalisées pendant 2 mois a été positif : nous n'avons pas eu à réaliser de reprises de séries entières d'échantillons ni de rappels de patients. Aucun résultat de patient n'a été modifié. En conséquence nous avons augmenté le seuil à partir duquel nous réalisons ces études d'impact. Elles ne sont réalisées que si le CIQ est au-delà de 3 écart-types.

3.17.10. Revue des résultats de CIQ

La revue à moyen et à long terme des résultats de CIQ constitue une obligation de la norme. Lors des revues, la détection des dérives et leur correction par des mesures préventives (étalonnage, maintenance ...) permet d'anticiper et d'éviter que le système analytique soit hors contrôle. Pour être efficaces ces revues doivent être effectuées de façon rapprochée (tous les mois voire tous les 15 jours). Par manque de disponibilité des biologistes, cette étude n'est réalisée que tous les 2 mois. En conséquence, les dérives ne sont pas corrigées avant que le

seuil de rejet soit atteint. Une augmentation de fréquence de ces études de tendances pourrait éviter les pertes de temps induites par les règles de rejet générées et également les études d'impact voire la reprise d'échantillons de patients. La mobilisation de moyens supplémentaires permettrait de passer d'une stratégie curative à une stratégie préventive.

3.17.11. Périmètre de la procédure de gestion des CIQ

Pour l'instant la procédure de gestion des CIQ ne s'applique qu'aux analyses automatisées du laboratoire puisqu'elles font partie de la même portée d'accréditation que la TSH. Le nombre réduit d'examen a permis de tester la faisabilité de la procédure. L'adaptation de la procédure pour les analyses non-automatisées constitue une demande forte de la part du personnel technique. Des adaptations sont nécessaires puisque l'organisation est différente : pas de séries de dosage tous les jours, changement très fréquent de lot de réactifs, contrôles de trousse utilisés comme CIQ. Les éléments suivants pourraient être mis en place :

- remplacement des contrôles de trousse par des CIQ indépendants avec possibilité d'utiliser un même lot sur de longues périodes
- qualification des lots de CIQ sur des périodes plus courtes (10 valeurs) en raison du faible nombre de séries dans le temps ou utilisation transitoire des limites acceptables des fournisseurs
- encadrement des séries de dosage en analysant un niveau de CIQ en début de série et un second niveau de CIQ en fin de série
- non-conformité du CIQ si règle 1_{3s} sur au moins un niveau (pas de rejet en-dessous de 3 écart-types car impact clinique limité)
- en cas de CIQ non-conforme, l'étude d'impact conditionnera la validation des résultats : expertise du biologiste ou comparaison de quelques échantillons repassés dans la série suivante
- lors de la série suivante, des mesures préventives seront prises pour éviter la répétition de la non-conformité, en fonction des causes potentielles
 - o de nouvelles solutions de CIQ seront systématiquement utilisées
 - o en fonction de l'étude des courbes d'étalonnage de la série précédente, un changement des solutions d'étalonnage pourra être effectué
- l'étude de tendance consistera principalement en analyse régulière de la conformité du CV de fidélité intermédiaire par rapport aux limites préétablies (état de l'art, CV du groupe de pair)

4. Comparaisons inter-laboratoires et évaluation externe de la qualité

4.1. Exigences

La participation à des programmes d'évaluation externe est une obligation légale : article L.6221-9 du CSP pour l'évaluation externe de la qualité (EEQ) et article L.6221-10 du CSP pour le contrôle national de qualité (CNQ).

Le chapitre 5.6.3 de la norme NF EN ISO 15189 traite des exigences en matière de comparaisons inter-laboratoires. Les principales exigences citées sont les suivantes :

- rédaction d'une procédure documentée définissant les responsabilités et instructions pour la participation à des programmes de comparaison inter laboratoire
- obligation de participation à des programmes de comparaison inter-laboratoire
- utilisation préférentielle d'échantillons qui imitent les échantillons de patient
- analyse des échantillons comme des échantillons de patients afin de contrôler l'ensemble des processus pré-analytique, analytique et post-analytique
- surveillance des résultats et mise en œuvre d'actions correctives si les résultats ne sont pas conformes, et surveillance des actions correctives
- revue des performances des comparaisons inter laboratoires avec le personnel concerné
- évaluation des résultats pour connaître les tendances qui indiquent les non-conformités potentielles et la nécessité d'actions préventives

Le COFRAC indique dans le document SH-REF-02 [2] que les évaluateurs procèdent à l'examen des résultats des évaluations externes de la qualité lors de ses évaluations (initiale, extension, surveillance). [...] Lorsque les résultats obtenus remettent en cause la qualité des examens accrédités ou objet de la demande d'accréditation et en l'absence d'actions correctives efficaces du LBM, le COFRAC prend les mesures appropriées pouvant aller jusqu'au refus d'accréditation ou à la suspension de l'accréditation pour la famille ou l'/les examen(s) en cause dans l'attente de la résolution des défaillances. Le LBM accrédité doit établir un plan de participation aux EEQ [...] couvrant l'ensemble des examens de sa portée d'accréditation. [...] Si le LBM dispose de plusieurs systèmes analytiques pour un même examen, il participe lorsque c'est possible aux EEQ pour chacun d'entre eux. Lorsqu'il n'existe aucun programme d'EEQ pour un paramètre considéré, le LBM doit élaborer un

mécanisme permettant de déterminer l'acceptabilité des procédures non évaluées par ailleurs (par exemple, par l'échange d'échantillons entre laboratoires). [...] Les organismes d'EEQ sont considérés comme fournisseurs de services critiques et sont à ce titre évalués par le LBM.

4.2. Définitions

Comparaisons inter laboratoires (CIL) : La norme NF EN ISO/CEI 17043 définit les comparaisons inter laboratoires comme étant l'organisation, l'exécution et l'évaluation de mesurages ou d'essais sur la même entité ou sur des entités similaires par deux laboratoires ou plus selon des conditions prédéterminées. La notion de CIL est très générale : elle inclut les programmes d'évaluation externe de la qualité (EEQ), de CIQ externalisé (CIQE) et les échanges inter laboratoires. Les échantillons utilisés sont connus ou inconnus selon le type de programme.

Evaluation externe de qualité (EEQ) : Procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire à l'aide d'échantillon de contrôles inconnus par le biais d'une comparaison inter laboratoires. L'EEQ est réalisée par un organisateur tiers respectant substantiellement les exigences de l'ISO/CEI 17043 et la réglementation en vigueur. L'organisateur du programme d'EEQ fournit un même échantillon à tous les laboratoires. Les laboratoires analysent l'échantillon et envoient leur résultat, en précisant la méthode utilisée. Les résultats de l'ensemble des participants sont traités par l'organisateur (analyse statistique) puis l'organisateur envoie un retour aux laboratoires. Il appartient alors aux laboratoires d'effectuer une conclusion et un enregistrement de ce retour d'information.

CIQ externalisé : Les résultats des échantillons de CIQ réalisés par plusieurs laboratoires sur un même lot d'échantillons de contrôles sont confrontés entre eux par établissement périodique des moyennes (généralement mensuel) permettant d'estimer la justesse (biais). Le CIQ externalisé n'est pas considéré comme une EEQ au sens du SH REF 02 étant donné que le laboratoire connaît les valeurs théoriques du CIQ (échantillon connu). Le programme de CIQ externalisé est considéré comme complémentaire des EEQ [32] et ne peut s'y substituer.

Echanges inter laboratoires : En l'absence d'organisateur de comparaisons inter laboratoires pour un examen donné, le laboratoire pourra mettre en place des comparaisons par des échanges d'échantillons biologiques avec d'autres laboratoires.

4.3. Objectifs des CIL

L'objectif des comparaisons inter laboratoires est de permettre au laboratoire [51] :

- d'évaluer a posteriori l'exactitude des résultats fournis et d'apporter la preuve de la fiabilité des résultats
- d'évaluer la cohérence des résultats entre laboratoires, au sein d'une même méthode de dosage ou entre les différentes méthodes
- de mettre en évidence des non-conformités motivant des actions curatives et correctives
- de connaître les limites de l'erreur sur chaque résultat, en permettant le calcul de l'incertitude de mesure

La finalité de cette comparaison est d'harmoniser les différents laboratoires, l'idée étant que si un même échantillon de patient est analysé simultanément dans plusieurs laboratoires, les différences entre les résultats obtenus ne doivent en aucune manière conduire à des interprétations ou à des décisions médicales contradictoires [52].

Selon le type de programme choisi, les performances évaluées diffèrent :

- EEQ : évaluation de l'exactitude
- CIQ externalisé : évaluation de la justesse
- échantillons biologiques échangés entre laboratoires : évaluation de l'exactitude relative

4.4. Organisation initiale de la gestion des EEQ au laboratoire

Au démarrage de notre travail, il existait une procédure du pôle de biologie (PR-LAB-105) « Gestion des contrôles de qualité » qui traitait de façon générale de l'organisation des EEQ au sein du PBP. Il n'existait pas de procédure spécifique au laboratoire d'hormonologie bien que des échantillons d'EEQ y aient déjà été analysés. En pratique, tous les échantillons d'EEQ étaient réceptionnés en début d'année, et conservés congelés. Une ou 2 semaines avant la date limite de rendu des résultats, les échantillons d'EEQ étaient reconstitués. Ces échantillons suivaient un circuit différent des échantillons de patients : ils n'étaient pas enregistrés dans le SIL, ils étaient dosés en double et la validation biologique n'était pas tracée. Le résultat rendu correspondait à la moyenne des 2 passages. La traçabilité de la date et de l'opérateur pour le dosage et la régénération était assurée dans un tableur Excel. L'ensemble des résultats des dosages d'une même solution d'EEQ était saisi dans ce même tableur Excel, puis imprimé par une technicienne CAQ. Les feuilles étaient transmises au biologiste référent assurance qualité

du laboratoire qui retranscrivait les résultats sur le site internet de l'organisateur d'EEQ. Les retours de résultats d'EEQ étaient adressés au biologiste référent assurance qualité par mail sous forme de documents pdf. Ces fichiers étaient enregistrés et consultables sur le réseau informatique du laboratoire. Aucune limite acceptable ni conduite à tenir n'était établie pour l'interprétation des résultats d'EEQ.

4.5. Dispositions à mettre en place

Afin de mettre en conformité le laboratoire, une procédure spécifique pour la gestion des EEQ a été rédigée. Dans cette procédure, les dispositions suivantes ont été définies :

- le plan de participation à l'EEQ : examens concernés, fréquence de participation, organisateur
- une prise en charge des échantillons d'EEQ identique à celle des échantillons de patients
- les critères de conformité et de non-conformité des résultats d'EEQ
- la conduite à tenir si le résultat d'EEQ est non-conforme : actions correctives à mener, traçabilité, impact sur les résultats des échantillons de patients
- les moyens utilisés pour revoir et aborder les résultats avec le personnel concerné
- les moyens permettant d'assurer la traçabilité de toutes les étapes de la prise en charge des échantillons d'EEQ
- les modalités de revue des résultats d'EEQ concernant les non-conformités et actions correctives
- les moyens d'évaluer les organisateurs d'EEQ

4.6. Programmes d'EEQ et plan de participation

Les critères de choix du programme d'EEQ, cités dans la procédure générale du pôle, sont les suivants :

- nombre de participants élevé, notamment pour les utilisateurs de la même méthode (groupes de pairs)
- matrice proche des échantillons de patients
- échantillons stables, homogènes
- organisme conforme aux normes applicables (ISO 17043, 9001), indépendant des fournisseurs et des utilisateurs

Paramètre	Nombre de niveaux	Fréquence	Organisme d'EEQ
1-25OH vitamine D	5	Tous les 3 mois	DEQAS
25OH vitamine D	5	Tous les 3 mois	DEQAS
T3 libre	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
T4 libre	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
TSH	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
FSH	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Prolactine	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Sulfate de DHEA	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Cortisol	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Estradiol pour les FIV	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Progestérone	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
LH	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Insuline	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Peptide C	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Aldostérone	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Anticorps anti-thyroglobuline	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Anticorps anti-thyroperoxydase	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
PTH	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
ACE	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Alpha-foeto-protéine	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
CA15.3	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
CA19.9	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
CA125	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
HCG totale	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
PSA libre	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
PSA total	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Thyroglobuline	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Ostéocalcine	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Hormone de croissance	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
IGF-1	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Sous-unité BhCG libre	2	3 fois par an	PROBIOQUAL
PAPP-A	2	3 fois par an	PROBIOQUAL
Alpha-foeto-protéine pour T21	2	3 fois par an	PROBIOQUAL
HCG totale pour T21	2	3 fois par an	PROBIOQUAL
Activité rénine plasmatique	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
ACTH	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Testostérone libre	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Gastrine	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Calcitonine	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Estradiol	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Testostérone	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Neurone spécifique éolase	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Cyfra 21.1	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Béta-HCG	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
17-hydroxyprogestérone	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
delta 4 androstenedione	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Testostérone	2	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Acide 5-OH-indole-acétique urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Adrénaline urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Cortisol libre urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Dopamine urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Acide homovanillique urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Métanéphrine urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Méthoxytyramine urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Noradrénaline urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Normétanéphrine urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL
Acide vanilmandélique urinaire	1	Tous les 2 mois	PROBIOQUAL

Tableau 11 : Programme d'EEQ du laboratoire

- délai de rendu des comptes rendus et des synthèses
- comptes rendus : clarté, pertinence, statistiques appropriées (valeurs cibles et limites acceptables)
- coût

Dans les organismes d'EEQ disponibles, on note entre autres l'AFSSAPS qui est responsable du Contrôle National de Qualité (CNQ) obligatoire, des associations professionnelles (Asqualab, Ascosud, Biologie-Pro prospective, CTCB, Probioqual, ...), des fabricants (Biorad, BMD, Randox, Roche, ...). Deux organismes ont été retenus au laboratoire :

- Probioqual pour la majorité des examens du laboratoire, la participation à ce programme étant imposée pour tous les CHU.
- DEQAS, pour les dosages des dérivés de la vitamine D. Ce programme présente l'intérêt d'avoir un nombre important de participants et d'utiliser des sérums humains.

Le plan de participation aux programmes d'EEQ est défini dans un tableau figurant dans la procédure (Tableau 11). Par ailleurs, le CDC d'Atlanta fournit des EEQ pour les examens de dépistage néonatal sur sang séché. Ces examens sont réalisés sur un autre site du CHU selon des protocoles différents et sont en dehors du champ d'application de la procédure.

4.7. Prise en charge des échantillons d'EEQ

Les échantillons d'EEQ sont reçus pour toute l'année une seule fois par an. La réception est effectuée par une technicienne. Les conditions d'acheminement sont vérifiées (température, état du colis ...). Les anomalies éventuelles concernant le transport sont notées sur le bon de livraison, qui est conservé dans un classeur dédié aux contrôles de qualité.

Les échantillons d'EEQ sont conservés tels quels selon les préconisations du fournisseur. Ils sont enregistrés dans le SIL 15 jours avant la date limite de rendu des résultats par une technicienne CAQ. La reconstitution, le dosage et la validation technique des EEQ sont effectués par le même opérateur, pour pouvoir assurer une traçabilité dans le SIL. Les échantillons reconstitués sont identifiés de façon unique par l'étiquette générée par le SIL lors de l'enregistrement. Le dosage est réalisé en simple. Le résultat est validé techniquement et biologiquement. Les échantillons dosés sont conservés congelés dans une boîte spécifique, pour une ré-analyse ultérieure éventuelle. Les techniciens CAQ vérifient tous les 2 jours l'état d'avancement du dosage des échantillons d'EEQ. La saisie des données est effectuée par le biologiste référent assurance qualité sur le site internet de l'organisateur de l'EEQ, à l'aide des comptes rendus édités par le SIL. Les résultats des EEQ sont reçus par mail par le

Date	Lot	EEQ trouvé	Cible	CV pairs	Z scores	Biais	Biais (%)
janvier-12	406	23.0	23.2	13.7	-0.1	0.2	1%
janvier-12	407	42.3	43.0	11.8	-0.1	0.8	2%
janvier-12	408	62.0	66.8	9.7	-0.7	4.8	7%
janvier-12	409	54.0	61.7	10.0	-1.2	7.7	12%
janvier-12	410	37.8	40.8	10.6	-0.7	3.1	7%
avril-12	411	56.8	58.3	8.5	-0.3	1.6	3%
avril-12	412	28.1	25.2	11.0	1.0	-2.9	-11%
avril-12	413	42.8	47.3	8.7	-1.1	4.6	10%
avril-12	414	126.3	121.4	9.4	0.4	-4.8	-4%
avril-12	415	50.3	55.8	8.2	-1.2	5.6	10%
juillet-12	416	47.3	45.5	9.8	0.4	-1.8	-4%
juillet-12	417	45.3	43.4	9.5	0.5	-1.9	-4%
juillet-12	418	29.0	25.3	21.9	0.7	-3.7	-15%
juillet-12	419	13.1	13.0	14.5	0.1	-0.1	-1%
juillet-12	420	70.5	67.4	8.4	0.5	-3.1	-5%
octobre-12	421	58.2	50.0	10.7	1.5	-8.2	-16%
octobre-12	422	37.0	32.9	10.3	1.2	-4.1	-12%
octobre-12	423	83.8	72.5	9.5	1.6	-11.3	-16%
octobre-12	424	48.8	43.0	9.7	1.4	-5.8	-13%
octobre-12	425	45.0	44.1	9.3	0.2	-0.9	-2%
janvier-13	426	27.5	29.0	11.0	-0.5	1.5	5%
janvier-13	427	61.3	62.4	9.5	-0.2	1.1	2%
janvier-13	428	43.5	45.9	10.1	-0.5	2.4	5%
janvier-13	429	50.3	54.7	9.1	-0.9	4.4	8%
janvier-13	430	30.0	31.8	10.3	-0.5	1.8	6%

Figure 21 : Exemple de tableau de suivi des EEQ pour la 25-OH-vitamine D

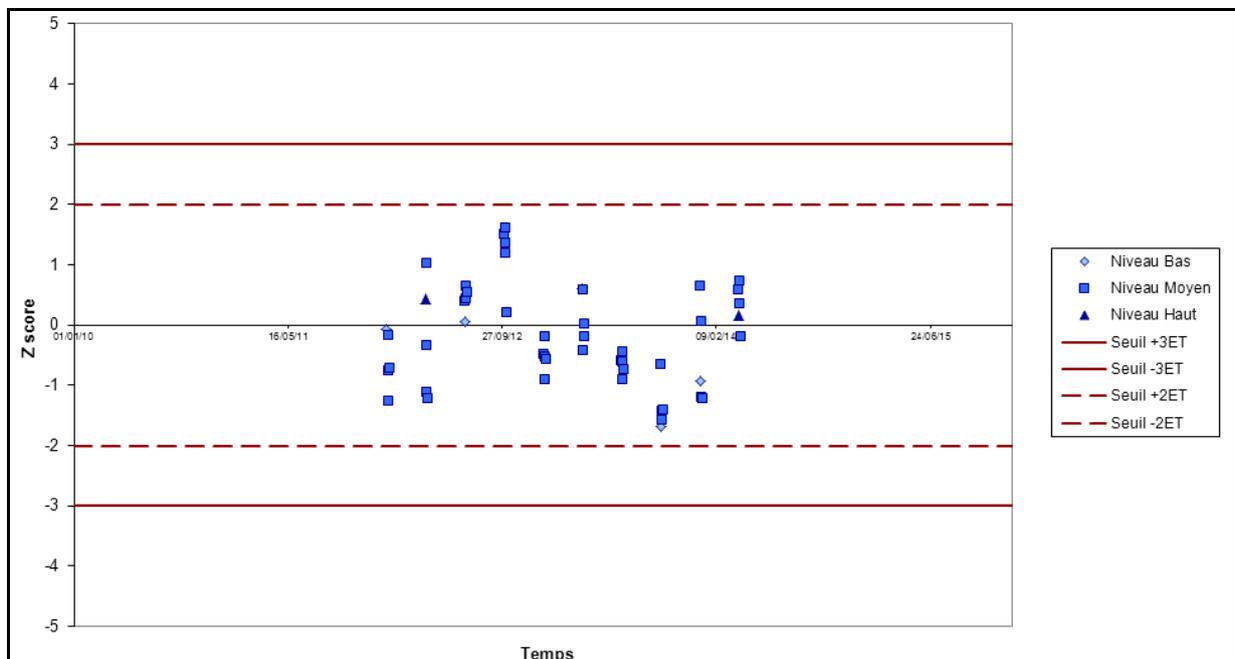


Figure 22 : Suivi du z-score pour la 25-OH-vitamine D

biologiste référent assurance qualité. Les fichiers sont enregistrés sur le réseau du laboratoire, consultables par tout le personnel du laboratoire.

4.8. Interprétation des résultats et limites d'acceptabilité

Les résultats renvoyés par les organismes d'EEQ sont saisis informatiquement par les techniciennes CAQ dans des tableurs Excel (Figure 21). Il existe un tableur Excel par paramètre. Les données saisies sont : la date, le numéro d'échantillon d'EEQ, notre résultat renvoyé par l'organisme d'EEQ, la moyenne du groupe de pair et le CV du groupe de pair, témoin de la dispersion inter-laboratoire. A partir de ces données sont calculés automatiquement dans le tableur :

- l'exactitude des résultats : elle est évaluée par comparaison du résultat du laboratoire à une valeur cible consensuelle. Nous utilisons la moyenne du groupe de pairs comme valeur cible consensuelle. Le biais entre la valeur cible du laboratoire et la valeur trouvée au laboratoire correspond à l'inexactitude absolue. L'inexactitude relative représente ce biais par rapport à la valeur cible en pourcentage.
- le z-score : il correspond au biais d'exactitude divisé par l'écart-type de dispersion inter-laboratoire. Le z-score exprime le nombre « d'écarts types » pour lequel le résultat du laboratoire s'écarte au-dessus ou au-dessous de la valeur cible. Il représente une mesure normalisée du biais.

La valeur du z-score z calculé permet d'apprécier les performances du système analytique [32] :

$|z| \leq 2,0$ indique des performances «satisfaisantes» et ne génère aucun signal.

$2,0 < |z| < 3,0$ indique des performances «discutables» et génère un signal d'avertissement.

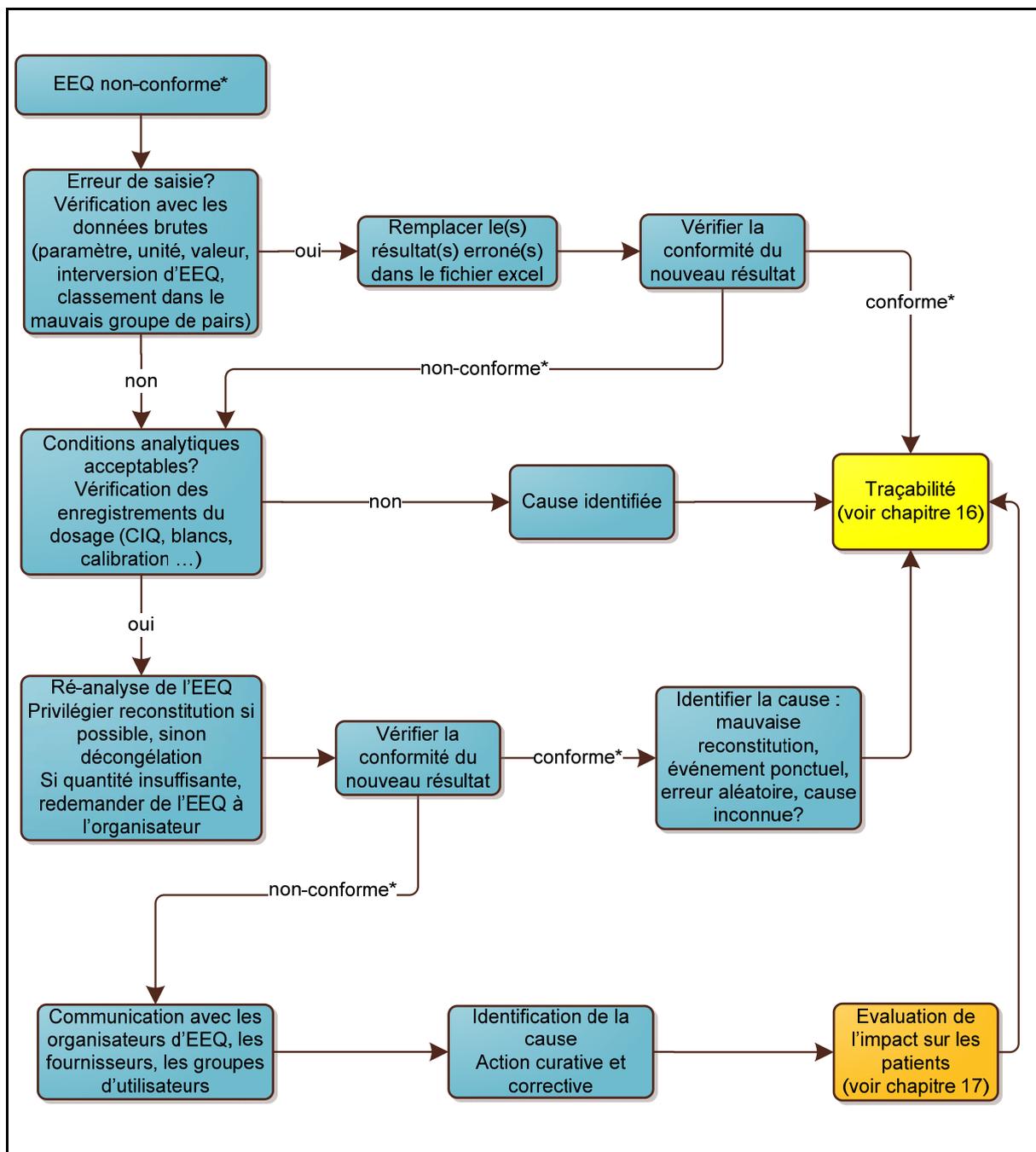
$|z| \geq 3,0$ indique des performances «insatisfaisantes» et génère un signal d'action.

Une représentation graphique intégrée au tableur Excel de chaque paramètre permet de suivre l'évolution du z-score (Figure 22).

La conformité des résultats d'EEQ est déterminée en fonction de la nature du signal généré par ce z-score :

- non-conforme si présence d'1 signal d'action ou de 3 signaux d'avertissement consécutifs
- conforme dans les cas contraires

Si le nombre de participants au sein du groupe de pairs est insuffisant, le z-score n'est pas calculable (pas de CV de groupe de pairs). L'interprétation des résultats est dégradée. Elle se



*conforme/non-conforme : voir chapitre 14 de la procédure

Figure 23 : Conduite à tenir en cas d'EEQ non-conforme

fait alors en fonction du biais d'inexactitude. Les résultats sont conformes si le biais est entre -20% et +20%, et non-conformes dans le cas contraire. Cependant, le faible nombre de participants rend les résultats peu pertinents : l'interprétation est réalisée avec prudence et souplesse. Par exemple, sur les échantillons d'EEQ de Septembre 2014 de l'activité rénine plasmatique, nous n'avons qu'un seul autre participant qui utilise la même méthode que nous (Tableau 12).

4.9. Conduite à tenir en cas d'EEQ non-conforme

Si les résultats d'EEQ ne sont pas conformes, la conduite à tenir est formalisée dans un logigramme intégré à la procédure (Figure 23).

Les erreurs grossières sont à évoquer en premier lieu. Elles sont fréquentes et faciles à mettre en évidence. Elles ne demandent pas d'intervention technique majeure, et ne remettent pas en cause la validité des résultats des patients. Parmi les causes d'erreurs grossières possibles nous pouvons citer les erreurs de recopiage, les erreurs d'unité, les inversions, le classement dans le mauvais groupe de pairs. La vérification de la concordance avec les données brutes enregistrées dans le SIL ou sur l'automate peut aider à mettre en évidence ce type d'erreur.

Si une erreur de saisie est écartée, nous étudions les conditions analytiques de la série durant laquelle l'échantillon d'EEQ a été dosé : résultats des CIQ, étalonnage, blanc de la réaction...

Si les conditions analytiques ne permettent pas d'expliquer la non-conformité, l'échantillon d'EEQ est redosé, de préférence après une nouvelle reconstitution. Si le résultat du redosage est conforme, il faut rechercher la cause de non-conformité du premier résultat : mauvaise reconstitution, évènement ponctuel, erreur aléatoire... Si le résultat du redosage n'est pas conforme, la recherche de la cause est moins facile. La conduite à tenir prévoit la communication avec les organisateurs d'EEQ, les autres participants et les fournisseurs afin de mettre en évidence la cause de non-conformité et mettre en place des actions correctives. Dans ce contexte, il est nécessaire d'évaluer l'impact sur les patients. Les critères d'évaluation utilisés sont similaires à ceux de la procédure de gestion des CIQ :

- la cause de la non-conformité
- la criticité du paramètre mesuré
- la situation clinique
- les valeurs de référence
- les recommandations de sociétés savantes éventuelles
- la cohérence avec des valeurs antérieures connues

Paramètre	Numéro échantillon	Biologiste responsable	Nature de la non-conformité	Cause	Action menée
FIV02	14MD07 et 14MD08	RS (interne)	z-score = -6.8 sur 18MD08 et z-score = -2.1 sur 14MD07	Erreur d'unité : les résultats rendus en pg/mL sur l'informatique n'ont pas été retranscrits en pmol/L sur le site. CQE conformes après correction	1 pg/mL = 3.671 pmol/L donc multiplier par 3.671 le résultat de RIALISME avant de le rentrer sur PROBIOQUAL. Biologiste RAQ responsable de la saisie prévenue
HGH	14MD07	RS (interne)	z-score = -3.1	CV groupe de pair très bas (3.7%). Aucun impact clinique (différence en valeur absolue de 1.1 mUI/L).	Vérification des données brutes OK. Vérification des CQI OK. L'autre niveau de CQE est OK. Redosage de la GH sur l'échantillon de 14MD07 le 22/09/14 idem (8.7 au lieu de 8.8). A surveiller sur les prochains CQE (pas d'impact clinique).
ARP	14MR07 et 14MR08	JBC et RS	inexactitude = -23% et -21%	Effectif du groupe de pair insuffisant : 2 participants	Données brutes et CQI OK. QI pour redosage

Tableau 12 : Suivi de non-conformité des EEQ

En cas d'impact significatif, le biologiste informera le(s) clinicien(s) par tous les moyens nécessaires (téléphone, fax, informatique). Une reprise d'échantillons ou un rappel de patients sera réalisé si nécessaire.

4.10. Traçabilité des non-conformités

La traçabilité des non-conformités est assurée dans un tableur Excel (Tableau 12). Sont notés : le paramètre concerné, le numéro d'échantillon d'EEQ, le biologiste qui a géré la non-conformité, la nature de la non-conformité, la cause de non-conformité et les actions menées.

4.11. Information du personnel

Le personnel technique et biologique est informé des résultats d'EEQ par un mail envoyé par un biologiste du service. Les fichiers de résultats sont joints à ce mail. Les EEQ pour lesquels une non-conformité est présente sont cités.

4.12. Revue des résultats d'EEQ et évaluation des organisateurs

La revue des résultats d'EEQ est effectuée une fois par an avant la revue de direction. Les non-conformités de l'année, consultables sur le tableau de suivi des non-conformités (Tableau 12), sont revues afin d'apporter d'éventuelles actions correctives. L'efficacité des mesures correctives décidées précédemment est vérifiée. Des indicateurs qualité, communs à l'ensemble du PBP, permettent de suivre les performances du laboratoire année après année :

- pourcentage d'EEQ conformes
- pourcentage d'examens du laboratoire ayant une EEQ

Les organisateurs d'EEQ sont évalués en fonction du nombre de résultats avec interprétation dégradée afin de discuter d'une éventuelle mise à jour du programme d'EEQ.

4.13. Autres données obtenues à partir des résultats des EEQ

L'exploitation des données de l'EEQ permet également de calculer dans ce fichier Excel :

- le CV du groupe de pairs cumulé, utilisé pour définir les limites acceptables de fidélité intermédiaire
- l'incertitude de mesure

4.14. Discussion

4.14.1. Contrôles internes de qualité externalisés

Pour ses comparaisons inter-laboratoires, le laboratoire participe à des programmes d'évaluation externe de la qualité mais il ne participe pas à des programmes de contrôle interne de qualité externalisé. L'explication est que la politique informatique du CHU ne permet pas l'envoi de données à l'extérieur du réseau informatique. Bien que non-obligatoire, ce type de programme est intéressant puisqu'il permet de déterminer la justesse de nos méthodes, en contrôler leur fidélité intermédiaire, alors que l'EEQ ne permet que d'apprécier l'exactitude des résultats. Il a aussi l'avantage d'être peu coûteux pour le laboratoire : aucun dosage supplémentaire n'est nécessaire puisque les données quotidiennes des CIQ sont exploitées. De plus, l'estimation de l'incertitude de mesure à partir des données de CIQ externalisé est beaucoup plus pertinente qu'avec les EEQ puisque la justesse et la fidélité sont déterminées avec le même matériel de contrôle, donc à un même niveau de concentration. Pour ces raisons, la participation à ce type de programme doit être envisagée.

4.14.2. Traitement des échantillons

Une des exigences de la norme est de traiter les échantillons d'EEQ comme des échantillons de patients. La nouvelle organisation permet de répondre à cette exigence : les échantillons d'EEQ sont désormais enregistrés dans le SIL, ils ne sont plus dosés en double et ils sont validés techniquement et biologiquement. Cette exigence n'a pas pu être appliquée à tous les examens. En effet, pour les examens non-automatisés, les dosages sont organisés par séries espacées dans le temps. Si une dilution des échantillons est nécessaire, la courte stabilité des échantillons d'EEQ ne permet pas d'attendre une série de dosage ultérieure. En conséquence des dilutions d'emblée sont réalisées ce qui est contraire à l'exigence ci-dessus.

4.14.3. Plan de participation

Le COFRAC impose la participation à des programmes de comparaison inter-laboratoire pour la totalité des examens du laboratoire. L'indicateur qualité « pourcentage d'examens du laboratoire ayant une EEQ » permet de surveiller le respect de cette exigence au cours du temps. Pour l'instant, tous nos examens ne sont pas évalués parce que indisponibles chez nos organisateurs d'EEQ habituels. Ce sont pour la plupart des examens très spécialisés (anticorps anti-facteurs intrinsèques, métanéphrines plasmatiques ...). La mise en place d'un échange inter-laboratoire pourrait être une solution. Seulement, son organisation est lourde à mettre en

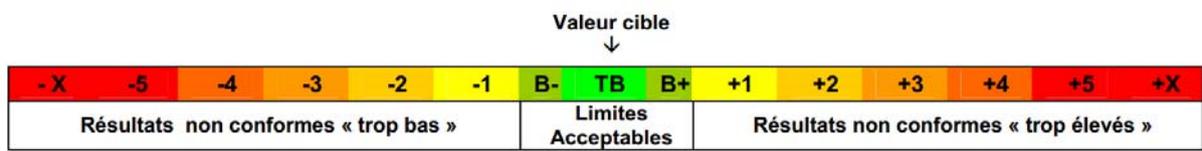


Figure 24 : Système de notation de ProBioQual

place : il faut trouver suffisamment de laboratoires partenaires et organiser les envois d'échantillons dans de bonnes conditions. L'interprétation des résultats est souvent peu significative en raison du faible nombre de participants (exactitude relative). Cette solution n'est pour l'instant pas mise en place par manque de temps mais mériterait d'être réenvisagée. Le COFRAC précise que si le LBM dispose de plusieurs systèmes analytiques pour un même examen, il participe lorsque c'est possible aux EEQ pour chacun d'entre eux. Nous disposons de 2 méthodes de dosage pour l'œstradiol mais initialement seul l'œstradiol réalisé par technique radioactive était contrôlé par l'EEQ. Le dosage de l'œstradiol pour les FIV (technique froide non-automatisée) a été ajouté au programme d'EEQ.

4.14.4. Interprétation des résultats

Le traitement statistique des résultats d'EEQ est réalisé par les organisateurs d'EEQ. Ils utilisent l'algorithme A dit « robuste » de la norme NF ISO 13528 « *Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons inter laboratoires* ». Le traitement par l'algorithme robuste permet de se passer de tests statistiques pour l'élimination des résultats aberrants ou suspects : tous les résultats sont pris en compte. L'algorithme va calculer, en partant de la médiane et par itérations successives, une valeur moyenne et un écart type. De cette façon, les valeurs extrêmes n'auront aucun impact. La valeur consensus de référence correspondra à la moyenne des résultats déterminée par l'algorithme A [33].

Nous comparons nos résultats d'EEQ à ceux de notre groupe de pairs, c'est-à-dire avec les laboratoires utilisant la même méthode de dosage. L'interprétation par rapport au groupe « toutes méthodes confondues » nous a semblé moins pertinente. En effet par manque de standardisation la dispersion inter méthode est très élevée et les intervalles de référence diffèrent selon la méthode de dosage utilisée [53].

4.14.5. Choix des limites acceptables

Probioqual et d'autres organismes proposent des systèmes de notation (Figure 24). Ces systèmes de notation sont fondés sur le modèle des variations biologiques : les limites acceptables (LA) utilisées correspondent à l'erreur totale calculée selon les formules de Fraser (Tableau 10 ; chapitre 3.17.7) à partir de la base de données Ricos [46]. La note est indépendante de la dispersion des résultats des laboratoires, elle représente l'exactitude que les laboratoires devraient pouvoir atteindre pour que l'erreur sur le résultat ne modifie pas son interprétation clinique. Après analyse de plusieurs compte-rendus d'EEQ, il est apparu que selon le paramètre et l'échantillon analysé les limites acceptables varient. Concrètement pour

un examen donné, sur un échantillon d'EEQ on peut avoir des limites acceptables « Ricos minimales » et sur un autre des limites acceptables « Ricos souhaitables ». En l'absence de données Ricos, l'organisme d'EEQ calcule ses limites acceptables à partir de ses propres données d'EEQ. Le manque de maîtrise de notre laboratoire de ces limites acceptables et la non-prise en compte de l'état de l'art nous ont amené à ne pas utiliser ce système de notation et à préférer l'interprétation à l'aide du z-score. Le calcul du z-score est simple à réaliser. Le signe du z-score permet de connaître le sens de variation de l'inexactitude. Le z-score est un indicateur de performance du laboratoire par rapport aux autres laboratoires, cette grandeur dépend de l'écart type. Elle prend en compte à la fois le biais d'exactitude du laboratoire et la dispersion interlaboratoires. Le z-score est inversement proportionnel à la dispersion et donc au CV, un CV élevé favorise les laboratoires tandis qu'un CV faible les pénalise. La prise en compte du CV le rend fidèle à l'état de l'art.

Pour les examens pour lesquels le z-score n'est pas calculable, les limites d'acceptabilité sont fixées à $\pm 20\%$ d'inexactitude. Cette situation se rencontre lorsqu'il n'y a pas suffisamment de participants. De ce fait les résultats ne sont pas interprétables de façon pertinente puisque la valeur cible est calculée à partir d'un nombre insuffisant de valeurs. Cette évaluation nous permet également de classer les résultats d'EEQ en conforme et non-conforme pour pouvoir calculer l'indicateur qualité « pourcentage d'EEQ conformes ».

4.14.6. Conduite à tenir en cas de résultat d'EEQ non-conforme

La procédure, grâce à un logigramme, permet de formaliser la conduite à tenir en cas d'EEQ non-conforme, absente auparavant. La faisabilité du logigramme n'a pas pu être testée en totalité pour l'instant. Si la globalité du logigramme semble simple à appliquer, des éléments en restent néanmoins discutables. Si du matériel d'EEQ supplémentaire est nécessaire il n'est pas certain que l'organisme d'EEQ en ait encore en stock. De même, la communication avec les autres participants, les organisateurs et les fournisseurs n'est pas formalisée. Une révision de la procédure et en particulier du logigramme devrait être nécessaire après une période d'utilisation étendue.

5. Vérification initiale d'une méthode analytique : cas du changement de méthode de dosage de la thyroglobuline

5.1. La thyroglobuline : physiologie et intérêt clinique [54]

La thyroglobuline (Tg) est une glycoprotéine iodée de très grande taille (660 kDa), produite et stockée de manière exclusive par les cellules folliculaires de la thyroïde. Elle constitue le précurseur des hormones thyroïdiennes, en est la matrice de synthèse hormonale et représente aussi la forme de stockage intra-thyroïdienne de l'iode. La Tg est produite par les cellules thyroïdiennes normales ou cancéreuses et sa concentration reflète la différenciation du tissu tumoral, la masse de tissu thyroïdien et le degré de stimulation par la TSH des récepteurs thyroïdiens. On considère habituellement qu'un gramme de tissu thyroïdien correspond à 0,5 à 1 ng/mL de Tg sérique. La demi-vie de la Tg est de 65 heures. L'intérêt principal du dosage de la thyroglobuline se trouve dans le cadre du suivi des cancers différenciés de la thyroïde (CDT) après thyroïdectomie totale et administration d'iode radioactif (^{131}I). Le dosage de la Tg sérique est considéré par des conférences de consensus européennes et américaines comme un marqueur tumoral sensible et spécifique des CDT. L'interprétation de sa concentration nécessite de connaître l'état de stimulation de la thyroïde et la concentration associée de la TSH. Le dosage de Tg peut ainsi être réalisé sous traitement hormonal (freinage) ou après stimulation de la thyroïde (post-sevrage ou après administration de TSH recombinante [rhTSH]). Dans tous les cas, un dosage de Tg doit être associé à un dosage des anticorps anti-Tg susceptibles d'interférer sur l'immunodosage de la Tg. Il existe de nombreuses trousse de dosage de Tg, disponibles sur le marché dont les performances diffèrent et dont les résultats ne peuvent être comparés entre eux même depuis l'adoption du Standard *Certified Reference Material* (CRM) 457. Le suivi d'un patient nécessite donc des dosages effectués dans un même laboratoire ou avec la même trousse [55].

5.2. Dosage de Tg ultrasensible

A mon arrivée dans le laboratoire, nous disposions en routine d'un dosage de thyroglobuline non-automatisé immunoradiométrique IRMA Cisbio IBA possédant une limite de

quantification de 1 ng/mL. L'apparition récente de méthodes de dosages de Tg ultrasensibles automatisées par chimiluminescence dont le seuil de sensibilité annoncé est inférieur (de l'ordre de 0,1 ng/mL) a amené les cliniciens à nous solliciter pour que nous changions de méthode de dosage. Le dosage de Tg ultrasensible (sTg) permet de détecter encore plus précocement des maladies persistantes ou des récidives. De même, plus le seuil de sensibilité est bas, plus élevée est la probabilité qu'une Tg indétectable témoigne de l'absence de tissu thyroïdien résiduel. Ces dernières années, plusieurs études ont évalué l'intérêt des techniques de dosage de la sTg avec des seuils de sensibilité plus bas (0,3 ng/mL) que les dosages classiques (0,5-1 ng/mL). Ces études ont permis d'affirmer que la valeur prédictive négative (VPN) est très élevée (> 98%). Ainsi, si l'échographie cervicale est normale, l'association de ces deux critères, biologique et radiologique, permet d'obtenir une VPN proche de 100%. Par conséquent, si la sTg de base est < 0,10ng/mL, il n'est pas utile d'effectuer un dosage de la Tg stimulée par la TSH recombinante (rTSH), comme proposé dans la plupart des recommandations officielles, car la stimulation ne permet pas de mieux détecter les récidives [56]. Renoncer au dosage de Tg sous rhTSH permettrait également de réduire les coûts de prise en charge des patients. Ces nouvelles techniques auraient également l'avantage d'être moins sensibles aux interférences des auto-anticorps anti-Tg.

5.3. Vérification de méthode : exigences [57]

Pour toute nouvelle méthode de dosage, une vérification/validation initiale des performances sur site est nécessaire. Dans les normes NF EN ISO 15189 et 22870, la vérification de méthode est abordée dans les paragraphes 5.3 et 5.5 : « *Il doit être démontré (lors de l'installation et au cours de l'utilisation courante) que le matériel est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications se rapportant aux analyses concernées.* »

« *Les méthodes et les procédures sélectionnées doivent être évaluées et donner des résultats satisfaisants avant d'être utilisées pour les analyses médicales.* »

5.4. Intérêt de la vérification de méthode

Les Laboratoires de Biologie Médicale font un usage important de coffrets réactifs et de systèmes commerciaux (DM-DIV). Les critères fondamentaux de caractérisation (fidélité, justesse, sensibilité, spécificité, ...) de chaque méthode sont en principe déterminés par le

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU A CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site Portée de type A	Validation Portée de type B
Spécificité analytique	Oui	Non	Oui
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Oui	Oui	Oui
Justesse (approche de la)	Oui	Oui, dès que possible	Oui
Intervalle de mesure (Limite de quantification et limites de linéarité)	Oui	A vérifier si nécessaire	Oui
Incertitudes/facteurs de variabilité et évaluation	Oui	Oui	Oui
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	Oui	Oui, pour les paramètres sensibles	Oui
Stabilité réactifs (après ouverture, embarqués)	Oui	Non	Oui
Robustesse	Non	Non	si besoin
Interférences (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments)	Oui	à vérifier si nécessaire	Oui
Intervalle de référence « ex- valeurs normales »	Oui	à vérifier dès que possible, si justifié	Oui à établir
Comparaison avec une méthode de référence	Oui (si existe)	Non	Oui (si possible)
Comparaison avec méthode déjà utilisée au LBM ou autre méthode du LBM (appareil en miroir, EBMD)	Oui (si existe)	Oui (si possible)	Oui
Analyse des discordances	Oui	Oui	Oui

Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude⁸ de la méthode ou du système analytique.

Tableau 13 : Vérification/validation initiale d'une méthode quantitative

fabricant (dossier de marquage CE). Ce dossier n'engage que le fabricant et ne fait pas l'objet de vérifications a priori de l'AFSSAPS. Si des coffrets réactifs et systèmes sont utilisés strictement dans les conditions préconisées par le fabricant, les méthodes sont considérées comme des méthodes « normalisées ». Dans ce cas, le laboratoire doit uniquement vérifier la mise en application dans son environnement propre par rapport à des critères et des limites acceptables (spécifications) qu'il s'est fixé, pour correspondre aux besoins de ses clients (patients/prescripteurs). Il est important de démontrer que la méthode (généralement un couple analyseur/réactif) fonctionne correctement dans les conditions opératoires du laboratoire et qu'elle donne des résultats sûrs et fiables pour les patients. Beaucoup de facteurs peuvent affecter les performances d'une méthode comme par exemple :

- les changements de lot d'étalons et de réactifs, de consommables ou de fournisseurs d'accessoires
- les conditions d'expédition et de stockage des réactifs
- les conditions ambiantes locales
- la qualité de l'eau, la compétence de l'utilisateur

Il n'est pas demandé aux laboratoires d'effectuer de nouveau la caractérisation approfondie des techniques ou des analyseurs : des études ont déjà été réalisées par les fabricants qui annoncent les performances de leurs méthodes. Il est demandé au LBM de procéder à une vérification lors de la mise en application, appelée vérification de performance sur site. La vérification/validation d'une méthode comprend une phase initiale, avant sa mise en œuvre effective en routine, et une phase de vérification continue et de confirmation des performances, dans le cadre du fonctionnement normal et quotidien du laboratoire. La phase initiale doit comporter les éléments de vérification présentés dans le Tableau 13. Ce dossier peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement référencés et accessibles. La confirmation des performances en pratique quotidienne se fait par l'utilisation, la gestion et le suivi des CIQ et des EEQ. Leur exploitation statistique permet de vérifier et de confirmer les éléments suivants : fidélité intermédiaire, justesse, exactitude.

5.5. Matériel et méthodes

Nous avons testé le kit *Access Thyroglobulin* sur l'analyseur Unicel DXI 800 Beckman Coulter. La vérification de méthode sur site comprend l'étude des éléments suivants : la répétabilité, la fidélité intermédiaire, l'exactitude, l'incertitude de mesure, et une comparaison

		Niveau de concentration (ng/mL)	CV groupe de pairs	Ricos souhaitable (2014)	NACB 2002	Fiche technique fournisseur
Répétabilité	Niveau 1	4.2	10 %*	5,3 %*	5%	1,4 %
	Niveau 2	21.6	10 %*	5,3 %*	5%	1,4 %
Fidélité intermédiaire	Niveau 1	4.2	14 %	7 %	5%	1,7 %
	Niveau 2	21.6	14 %	7 %	5%	1,8 %

* 0,75 fois le CV de fidélité intermédiaire du niveau de concentration correspondant [47]

Tableau 14 : Limites acceptables de CV de fidélité pour la thyroglobuline

de méthode par rapport à la méthode de dosage préexistante CisBio IRMA. La thyroglobuline étant un marqueur tumoral avec un intervalle de mesure étendu, nous avons également réalisé l'étude de la contamination inter-échantillon, de la limite de quantification basse et de la limite supérieure de linéarité.

L'évaluation de la répétabilité consiste à analyser un même échantillon dans les conditions suivantes : même opérateur, même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage, dans un délai le plus court possible. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (instrument/réactif) pour le paramètre concerné. Les échantillons utilisés sont 2 niveaux différents de solutions de CIQ Biorad Liquichek Tumor Marker Control. Ces 2 échantillons sont dosés 30 fois. L'exploitation des résultats consiste à calculer la moyenne (m), l'écart-type (s) et le coefficient de variation (CV) à partir des valeurs expérimentales de chaque série. Le CV obtenu doit être inférieur aux CV limites acceptables préétablis (Tableau 14).

L'essai de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) consiste à analyser un même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs : l'opérateur, le temps, les lots de réactifs, les étalonnages. En pratique les 2 solutions de CIQ utilisées pour la répétabilité sont dosées 2 fois par jour matin et soir pendant 15 jours de façon à obtenir 30 valeurs sur chaque niveau de contrôle. Les modalités de calcul sont identiques à celles de la répétabilité. Le CV obtenu doit être inférieur aux CV limites acceptables préétablis (Tableau 14).

L'exactitude de notre méthode est évaluée à la place de la justesse puisque nous ne disposons pas de CIQ externalisés. L'exactitude est établie en comparant les valeurs obtenues sur des échantillons d'EEQ aux valeurs cibles. L'évaluation de l'exactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'échantillons d'EEQ est élevé. La valeur cible retenue est la moyenne des résultats obtenus avec la même méthode (groupe de pairs). L'acceptabilité des résultats d'EEQ est basée sur le calcul du z-score (Partie II chapitre 4.8).

L'incertitude de mesure est estimée à partir des données de CIQ et d'EEQ : calcul de l'incertitude de mesure combinée élargie. La somme quadratique des deux composantes (fidélité et justesse) permet une estimation de l'incertitude combinée (u_c). L'incertitude élargie U est alors conventionnellement calculée, $U = 2 \cdot u_c$ pour indiquer que l'intervalle compris entre la valeur mesurée $\pm U$ contiendra conventionnellement la valeur "vraie" à 95 %, dans le cas d'une distribution gaussienne (Partie II chapitre 2). L'incertitude de mesure est comparée aux limites acceptables : erreur totale souhaitable déterminée à partir des variations biologiques [46] soit 21,9 % pour la thyroglobuline.

L'étude de la contamination inter-échantillon : un échantillon de valeur élevée (ou positif fort) est analysé 3 fois consécutivement (H1, H2, H3, de moyenne mH) suivi d'un échantillon de valeur basse également analysé 3 fois (B1, B2, B3). Le pourcentage de contamination entre les échantillons est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Contamination en \%} = \frac{(B1-B3) \times 100}{(mH-B3)}$$

Le niveau de la contamination doit être proche de zéro.

La limite de quantification basse correspond à la plus petite valeur mesurée exprimée en concentration, rendue avec un niveau de confiance acceptable et d'incertitude connue. Elle correspond à la plus petite valeur qui peut être fournie pour un échantillon de patient. La limite de quantification est évaluée à l'aide de dilutions de 2 en 2 de l'étalon S1 de thyroglobuline de concentration égale à 0.94 ng/mL. Chacune des 5 solutions obtenues est dosée 5 fois de façon répétée dans une série unique. On calcule, pour chaque série de mesures des différentes dilutions, l'écart-type (s), le Coefficient de Variation (CV) et l'écart de la moyenne (m) à la valeur théorique (réalisation d'un profil de « précision » ou profil de fidélité). La concentration correspondant à un CV de 10 % représente la limite de quantification.

La limite supérieure de linéarité est établie conformément aux spécifications du fournisseur (477 ng/mL). Afin de garantir une fiabilité des résultats au-delà de 477 ng/mL, nous avons réalisé des dilutions successives d'échantillons de patients au-delà de cette limite de linéarité. Les résultats obtenus permettent de vérifier la linéarité entre les dilutions effectuées et les concentrations calculées. La limite supérieure de linéarité et la limite de quantification permettent de définir le domaine de mesure de la méthode.

La comparaison de méthode permet d'évaluer si les résultats de 2 méthodes sont comparables. La méthode testée (*Thyroglobulin* Beckman sur DXI) a été comparée avec la méthode déjà utilisée au LBM (*Thyroglobulin* IRMA, Cisbio International). Au moins 30 échantillons de patients couvrant de façon homogène l'étendue du domaine physiopathologique rencontré ont été comparés. Ces échantillons sont analysés en simple par les 2 méthodes dans un délai le plus court possible : après la série de dosage manuelle en IRMA, les échantillons sont analysés immédiatement sur l'analyseur DXI Beckman. L'analyse statistique comprend la régression de Passing-Bablok (logiciel MedCalc v12.7.7) et l'étude du diagramme des différences. La régression de Passing-Bablok permet de vérifier qu'il existe bien une relation linéaire entre les 2 méthodes. Si les 2 méthodes sont bien corrélées, l'équation de la droite de régression devrait être de la forme $y = 1x + 0$. L'étude du diagramme des différences permet

Niveau de concentration	Répétabilité	Fidélité intermédiaire	Incertitude de mesure combinée élargie
Niveau 1	4,5 %	4,9 %	12 %
Niveau 2	2,3 %	3,6 %	16 %

Tableau 15 : Performances observées de fidélité et d'incertitude de mesure du kit *thyroglobulin* Beckman

	Résultat d'EEQ	Valeur cible	Ecart-type	z-score	Acceptation
Niveau bas	0,8	1,16	0,126	-2,8	Conforme
Niveau moyen	11,1	18,43	4,921	-1,5	Conforme
Niveau moyen	13,9	17,75	1,722	-2,2	Conforme
Niveau haut	64,1	101,15	32,166	-1,2	Conforme

Tableau 16 : Evaluation de l'exactitude du kit *thyroglobulin* Beckman

N° passage	Concentration	Moyenne	Contamination
1	Niveau élevé	434,84	-0.02%
2	Niveau élevé	411,30	
3	Niveau élevé	422,88	
4	Niveau bas	0,56	
5	Niveau bas	0,65	
6	Niveau bas	0,64	

Tableau 17 : Etude de la contamination inter échantillon du kit *thyroglobulin* Beckman

	Pur	1/2	1/4	1/8	1/16
Effectif	5	5	5	5	5
Moyenne	0,90	0,45	0,24	0,12	0,07
Ecartype	0,029	0,014	0,015	0,004	0,004
CV	3%	3%	6%	4%	6%

Tableau 18 : Limite de quantification basse du kit *thyroglobulin* Beckman

Echantillon	Dilution	Concentration attendue	Concentration dosée	Récupération	Pourcentage moyen de récupération	Récupération moyenne totale
1	pur	383,62	>477		110%	99%
	1/10		383,62			
	1/50		425,12	111%		
	1/100		418,84	109%		
2	pur	630	>477		98%	
	1/10		630			
	1/50		619,46	98%		
	1/100		623,69	99%		
3	pur	1331,26	>477		98%	
	1/10		1331,26			
	1/50		1349,93	101%		
	1/100		1264,55	95%		
4	pur	2934,34	>477		89%	
	1/10		2934,34			
	1/50		2803,96	96%		
	1/100		2411,7	82%		

Tableau 19 : Etude de la limite supérieure de linéarité du kit *thyroglobulin* Beckman

de vérifier s'il existe des discordances (écart entre les deux méthodes) qui sont supérieures aux limites préétablies calculées comme suit :

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

Avec σ FI : écart-type de la fidélité intermédiaire (FI) obtenue à partir des données de CIQ.

Le nombre de discordances doit être inférieur à 5%.

5.6. Résultats (hors comparaison de méthode)

Les résultats en termes de répétabilité, de fidélité intermédiaire et d'incertitude de mesure sont représentés dans le Tableau 15. Les performances de fidélité sont conformes aux objectifs de l'état de l'art et des variations biologiques, mais pas par rapport aux spécifications du fournisseur. L'incertitude de mesure combinée élargie est conforme par rapport à la limite acceptable d'erreur totale (21,9%). L'exactitude, évaluée à partir des résultats de 4 échantillons d'EEQ, est conforme aux objectifs préétablis (tous les z-score sont entre -3 et +3) : voir Tableau 16. Le pourcentage de contamination inter-échantillon calculé est très proche de 0 (-0,02%) : il n'y a pas de contamination inter échantillon (Tableau 17). L'étude de la limite de quantification basse (Tableau 18) retrouve une linéarité conservée jusqu'à 0,07 ng/mL (CV à 6%). L'étude de la limite supérieure de linéarité par épreuve de dilution (Tableau 19) montre un pourcentage de récupération moyen de 99% pour des dilutions jusqu'au 1/100^{ème}, en accord avec les résultats retrouvés par le fournisseur (98%).

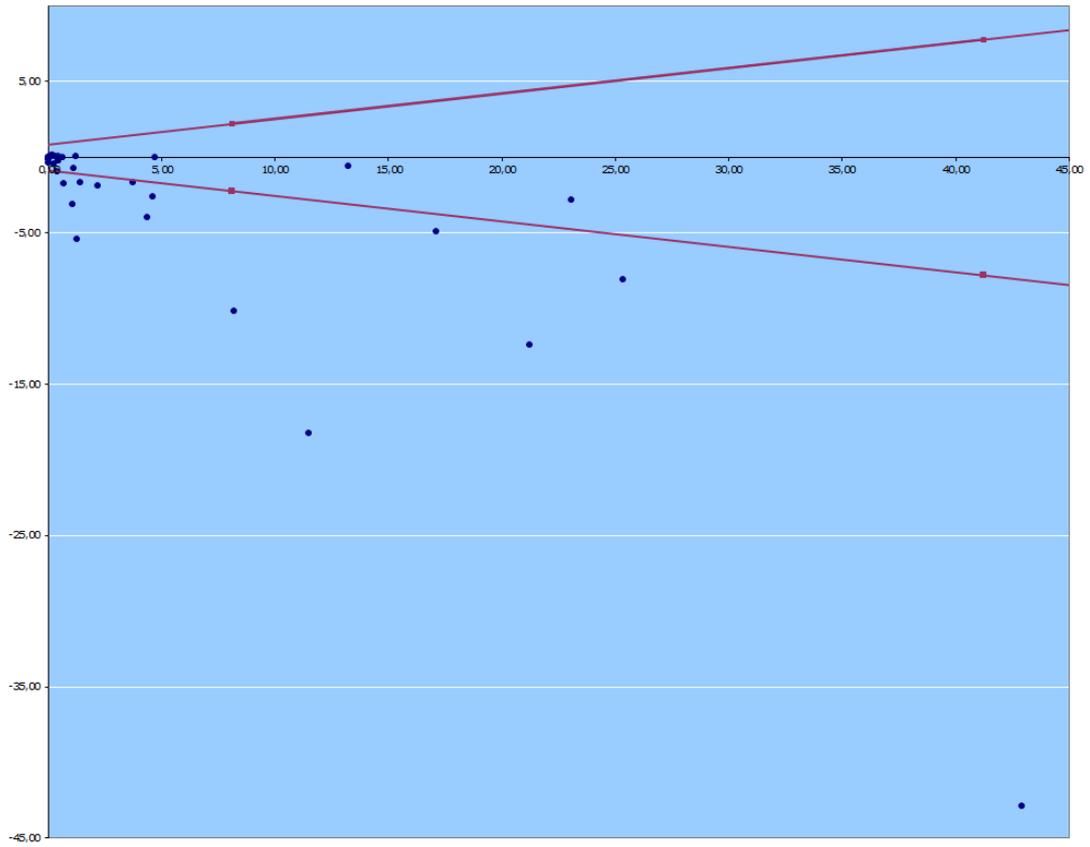


Figure 25 : Comparaison des dosages de Tg : Diagramme des différences

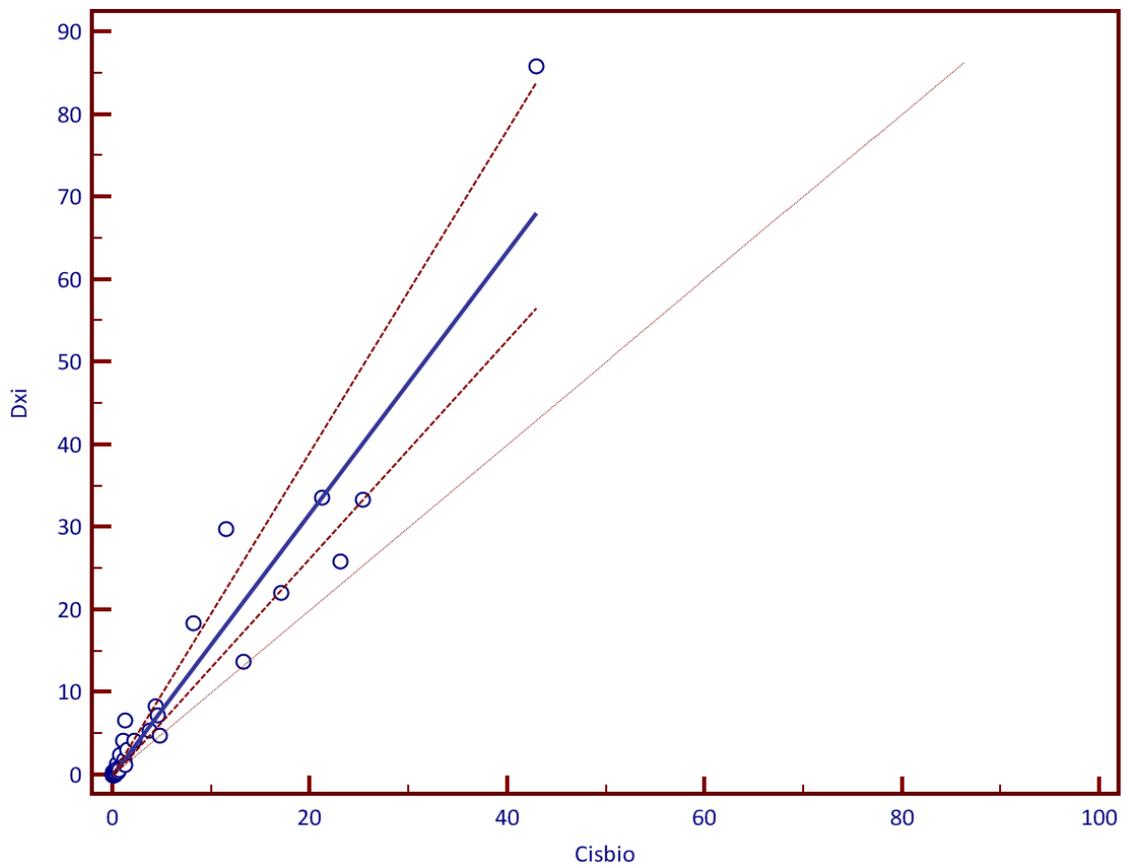


Figure 26 : Comparaison des dosages de Tg : Régression de Passing-Bablok

5.7. Comparaison des 2 méthodes de dosage

Nous avons analysé comparativement 42 échantillons de patients avec les 2 méthodes de dosage (Tableau 23).

Le diagramme des différences (Figure 25) représente pour chaque échantillon :

- en abscisse la valeur mesurée avec la technique Cisbio IRMA, considérée comme la technique de référence par convention
- en ordonnée la différence entre les résultats de thyroglobuline obtenus entre la méthode IRMA Cisbio BioAssay et la méthode sur DXI Beckman par chimiluminescence
- en violet les limites de suivi supérieures et inférieures calculées à partir des échantillons de CIQ

Les limites de suivi calculées sont respectivement de 2,2 ng/mL et 7,8 ng/ml pour les niveaux bas et haut. En fonction de ces limites, nous observons 14 discordances, soit 1/3 des échantillons. Le nombre de discordance est supérieur à la limite de 5% préétablie. Le sens de variation est toujours le même, avec une surestimation par la technique sur DXI Beckman par rapport à Cisbio IRMA, évoquant une erreur systématique proportionnelle entre les 2 méthodes.

La régression de Passing-Bablok, pour un intervalle de confiance à 95%, retrouve une droite de régression caractérisée par une ordonnée à l'origine à -0,02 [-0,14;0,08] et une pente à 1,58 [1,32;1,95]. Cette régression montre que les 2 méthodes sont corrélées de façon linéaire. L'ordonnée à l'origine est proche de 0 mais la pente de la droite est éloignée de 1. Par conséquent la nouvelle méthode surestime les résultats avec un biais d'environ 60% par rapport à l'ancienne méthode. Cette observation est cohérente avec les résultats observés sur le diagramme des différences.

La Figure 26 représente le graphique de la régression de Passing-Bablok :

- chaque point bleu représente un échantillon avec sa valeur de thyroglobuline dosé avec Cisbio IRMA en abscisse et dosé sur DXI Beckman en ordonnée
- la droite de régression de Passing-Bablok est représentée en bleu
- l'intervalle de confiance à 95% est représenté en rouge en pointillés
- la droite d'équation $y = x$ est représentée en rouge pâle. Si les 2 méthodes étaient parfaitement corrélées, la droite de régression serait superposable à cette droite.

	CisBio IRMA (ng/mL)	DXI Beckman (ng/mL)
Solution C1	12,458	6,859
Solution C2	43,71	21,812

Tableau 20 : Valeurs moyennes de Tg obtenues sur les 2 solutions de contrôle du kit CisBio IRMA

Echantillon d'EEQ ProBioQual	Thyroglobuline Cisbio (ng/mL)	Thyroglobuline Beckman (ng/mL)
14MF01	3,6	1,21
14MF02	143,1	111,6
14MF03	132,56	116,73
14MF04	33,68	19,18
14MF05	33,02	19,48
14MF06	3,42	1,29
14MF07	33,5	18,43
14MF08	130,95	101,15
14MF09	35,69	17,75
14MF10	3,64	1,16
14MF11	3,39	1,07
14MF12	134,32	95,54
15MF01	7,56	5,49
15MF02	214,21	192,48
15MF03	143,31	105,07
15MF04	63,15	52,93

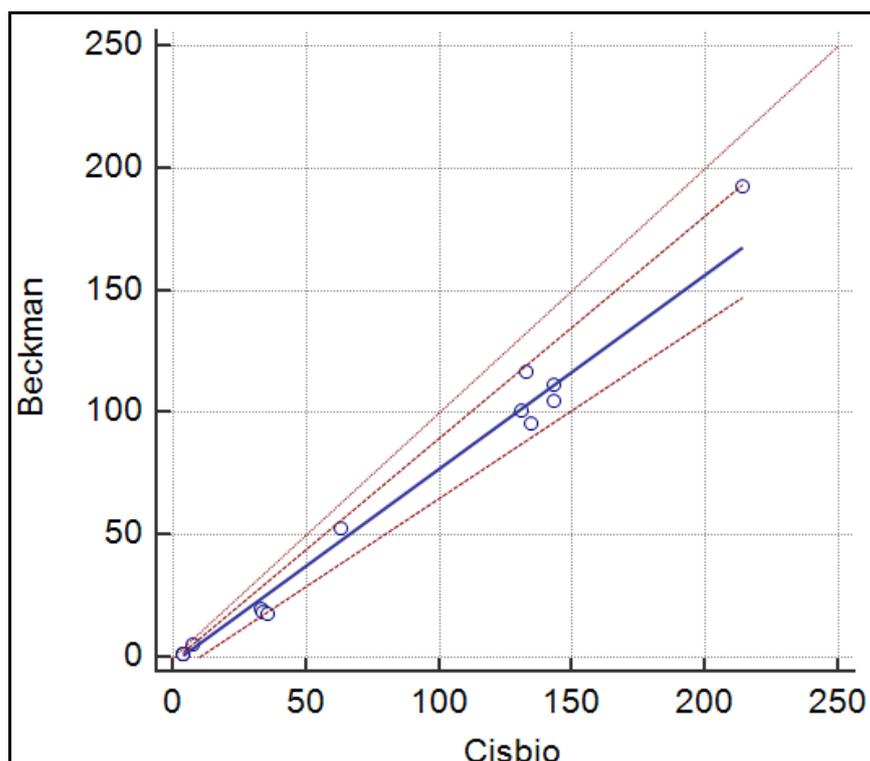


Figure 27 : Comparaison des moyennes des pairs des 2 méthodes de dosage de Tg sur les échantillons d'EEQ de ProBioQual

Thyroglobuline CISBIO (ng/mL)	Thyroglobuline BECKMAN (ng/mL)	Anticorps anti- thyroglobuline (IU/mL)
1,81	0,06	32,5
0	0,01	22,6
0,80	0,05	95,39
0	0	>2000
0,27	0,8	5,2

Tableau 21 : Comparaison d'échantillons contenant des anticorps anti-thyroglobuline

Nous avons comparé les résultats obtenus entre les 2 méthodes de dosage sur les solutions de contrôle du kit de Tg CisBio IRMA. Les résultats sont présentés dans le Tableau 20. Nous observons que contrairement aux échantillons de patients, les résultats sur les solutions de CIQ sont ici sous-estimés par la trousse de Beckman.

Nous avons également analysé les données d'EEQ de ProBioQual pour comparer les 2 méthodes. Les moyennes des pairs calculées avec Cisbio IRMA et DXI Beckman sur de mêmes échantillons d'EEQ sont comparées en réalisant une régression de Passing-Bablok (Figure 27). Pour un intervalle de confiance à 95%, la droite de régression obtenue est caractérisée par une pente à 0,79 [0,72;0,91] et une ordonnée à l'origine à -1.70 [-7,41;-1,28]. Les échantillons d'EEQ sont donc en moyenne sous-estimés par la méthode Beckman par rapport à la méthode Cisbio, comme pour les solutions de CIQ de Cisbio.

Un petit nombre d'échantillons contenant des anticorps anti-thyroglobuline a été comparé (Tableau 21). Nous observons que la méthode par chimiluminescence Beckman est moins performante pour détecter la thyroglobuline en présence d'anticorps anti-thyroglobuline que la méthode CisBio IRMA.

5.8. Impact des performances observées sur le suivi des patients

La différence observée sur les échantillons de patients entre les 2 méthodes de dosage (surestimation de 60% par Beckman) risque d'avoir un impact sur le suivi de patients atteints de CDT. En tant que marqueur tumoral, la thyroglobuline est un élément important du suivi de ces patients. Il est recommandé de suivre les patients dans un même laboratoire, afin de s'affranchir des variations inter-laboratoire [58]. La surestimation de la thyroglobuline entre les 2 méthodes rend les résultats non comparables. En effet pour un patient donné si entre 2 prélèvements la thyroglobuline augmente, cette augmentation peut être due soit à une progression de la maladie, soit à la variation intertechnique. A titre d'exemple, nous avons un des échantillons dosé avec CisBio qui retrouve 1,07 ng/mL de Tg alors que sur DXI Beckman nous retrouvons 4.18 ng/mL de Tg.

5.9. Mise en routine de la nouvelle méthode

Les performances observées lors de la vérification de méthode sont conformes aux limites d'acceptations pré-établies sauf pour la comparaison de méthode. Nous avons conclu que la nouvelle méthode de dosage Beckman était apte à être utilisée en routine mais étant donné

que les résultats de patients entre les 2 méthodes de dosage ne sont pas comparables, nous avons réalisé des aménagements. Les cliniciens ont été prévenus de la variation importante intertechnique, avec surestimation des résultats par rapport à l'ancienne méthode, cette surestimation pouvant avoir un impact potentiel sur le suivi des patients. Pour aider les cliniciens à distinguer la progression d'un CDT de la variation intertechnique en cas d'augmentation de la Tg entre 2 prélèvements avec les 2 méthodes, nous avons mis en place une reprise systématique du dernier sérum antérieur datant de moins d'un an et nous l'avons dosé dans la même série que le nouveau sérum³. De cette façon, les résultats peuvent être interprétés de façon comparative, en s'affranchissant de la variation intertechnique.

5.10. Discussion

5.10.1. Les paramètres évalués

Nous avons prévu d'utiliser la nouvelle trousse de dosage de thyroglobuline selon les conditions préconisées par le fabricant (portée A). Si nous nous en tenons aux recommandations du guide du COFRAC SH-GTA-04 [57] (Tableau 13), les performances à vérifier obligatoirement sur site sont à minima la justesse, l'incertitude de mesure et les performances de fidélité : répétabilité et fidélité intermédiaire. La comparaison de méthode est réalisée si possible. Ces recommandations nous ont semblé insuffisantes en raison des exigences cliniques et des particularités du dosage de la Tg. En effet la Tg étant un marqueur tumoral, la gamme de mesure est très étendue par rapport à d'autres examens de biologie médicale. Dans la population de patients atteints de CDT, nous pouvons observer des niveaux de concentration indétectables chez des patients traités de façon efficace mais aussi des niveaux de concentration très élevés chez des patients non-traités ou en échec de traitement. La gamme de mesure (limite de quantification et limite supérieure de linéarité) est donc un élément important à déterminer ou vérifier. L'avantage annoncé de la nouvelle méthode est sa limite de détection basse inférieure à celle de la technique CisBio IRMA. Les spécifications du fournisseur ne donnent que la limite de détection mais ne parlent pas de la limite de quantification. Or la limite de détection a peu d'intérêt en pratique puisqu'elle correspond à la plus petite quantité de signal détectable décelable du bruit de fond, sans assurer la fiabilité du résultat en termes de justesse et fidélité. Il est beaucoup plus pertinent de déterminer la limite

³ Une précédente étude réalisée dans notre laboratoire a permis de valider la stabilité de la thyroglobuline à -20°C dans nos échantillons d'hormonothèque pendant au moins un an.

Fournisseur	Solution	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Thermo Scientific	MAS T-Marker	9,42	27	46,7
Q Sure	Thyroglobulin Control	1,6	13	60
ProBioQual	MF	1-5	15-45	100-300
Bio Rad	Lyphocek immunoassay plus control	10,8	88,2	206
Bio Rad	Liquichek immunoassay plus control	4,51	42,2	110

Tableau 22 : Valeurs attendues de Tg dans les solutions de contrôle commerciales¹

¹ Source : fiches techniques

de quantification : elle correspond à la plus petite valeur mesurée exprimée en concentration, rendue avec un niveau de confiance acceptable et d'incertitude connue. La vérification de la limite supérieure de linéarité est également importante puisque nous avons des patients qui ont des valeurs de Tg très élevées (supérieures au dernier point de gamme à 500 ng/mL), et il est nécessaire de diluer ces échantillons. Cette étude a déjà été réalisée par le fournisseur mais l'échantillon le plus élevé qui a été testé a une concentration de Tg de seulement 305 ng/mL. Il nous a semblé pertinent de refaire cette étude avec des échantillons de concentration de Tg plus élevée (jusqu'à 2934 ng/mL). L'étude de la contamination inter-échantillon nous paraît également indispensable puisqu'en raison de l'étendue de la gamme de mesure nous sommes susceptibles de doser successivement des échantillons de patients ayant des concentrations très élevées et très basses.

5.10.2. Matériaux utilisés

Pour évaluer les performances de fidélité, il est recommandé d'utiliser au minimum 2 niveaux de concentration avec si possible un niveau proche de la zone décisionnelle [57]. Le seuil de décision pour des patients atteints de CDT correspond à la limite de quantification de la méthode de dosage (0,2 ng/mL). Les solutions de CIQ utilisées dans le cadre de la vérification de méthode sont éloignées du seuil décisionnel (concentrations moyennes à 4,76ng/mL et 45,05ng/mL). Nous sommes limités par les possibilités offertes par les fournisseurs de solutions de contrôle : parmi les solutions trouvées dans le commerce, aucune ne propose des niveaux de concentration proche de ce seuil (Tableau 22). Afin de s'assurer à minima de la fiabilité des résultats à cette concentration, nous avons réalisé l'étude de la limite de quantification. Au-delà de la vérification initiale de méthode, l'absence de CIQ disponible dans les valeurs basses ne nous permet pas de garantir dans le temps la fiabilité de nos résultats dans cette zone décisionnelle. La disponibilité dans le commerce de solutions de CIQ de concentration proche de ce seuil décisionnel est vivement souhaitée. En attendant, la constitution d'un pool de sérums de patients à un niveau de concentration proche de ce seuil peut être une solution. Le recueil de sérums ne devrait pas poser de difficultés puisque la population de patients que nous suivons possède des niveaux de concentration de Tg de cet ordre de grandeur.

5.10.3. Performances observées

Pour la thyroglobuline, il n'existe pas dans la littérature de recommandations basées sur l'état de l'art quant aux performances limites acceptables de fidélité. Nous avons établi des limites

N° Echantillon	Série X CisBio IRMA	Série Y DXI Beckman	Moyenne (Xi ; Yi)	Différences (Xi - Yi)	Ratio (Yi / Xi)
1	0,00	0,18	0,09	-0,18	Ininterprétable
2	0,00	0,03	0,02	-0,03	Ininterprétable
3	0,00	0,39	0,20	-0,39	Ininterprétable
4	0,00	0,07	0,04	-0,07	Ininterprétable
5	0,00	0,06	0,03	-0,06	Ininterprétable
6	0,00	0,04	0,02	-0,04	Ininterprétable
7	0,00	0,10	0,05	-0,10	Ininterprétable
8	0,00	0,10	0,05	-0,10	Ininterprétable
9	0,03	0,01	0,02	0,02	0,31
10	0,04	0,04	0,04	0,00	1,00
11	0,06	0,06	0,06	-0,01	1,09
12	0,07	0,03	0,05	0,04	0,43
13	0,13	0,06	0,09	0,07	0,48
14	0,13	0,06	0,09	0,07	0,47
15	0,18	0,04	0,11	0,14	0,22
16	0,18	0,08	0,13	0,10	0,43
17	0,26	0,69	0,47	-0,44	2,71
18	0,30	0,22	0,26	0,08	0,73
19	0,42	1,34	0,88	-0,92	3,18
20	0,42	0,64	0,53	-0,22	1,51
21	0,45	0,68	0,57	-0,23	1,51
22	0,47	0,39	0,43	0,08	0,83
23	0,63	0,65	0,64	-0,02	1,04
24	0,68	2,42	1,55	-1,74	3,56
25	1,07	4,18	2,63	-3,11	3,91
26	1,11	1,84	1,48	-0,73	1,66
27	1,21	1,18	1,20	0,03	0,98
28	1,26	6,64	3,95	-5,38	5,27
29	1,42	3,12	2,27	-1,70	2,20
30	2,21	4,12	3,17	-1,91	1,86
31	3,76	5,41	4,6	-1,7	1,44
32	4,39	8,35	6,4	-4,0	1,90
33	4,60	7,19	5,9	-2,6	1,56
34	4,73	4,77	4,8	0,0	1,01
35	8,20	18,38	13,3	-10,2	2,24
36	11,51	29,76	20,6	-18,3	2,59
37	13,22	13,77	13,5	-0,5	1,04
38	17,09	22,02	19,6	-4,9	1,29
39	21,24	33,62	27,4	-12,4	1,58
40	23,09	25,88	24,5	-2,8	1,12
41	25,33	33,38	29,4	-8,1	1,32
42	42,95	85,84	64,4	-42,9	2,00

Tableau 23 : Comparaison de méthode : résultats² des dosages de Tg par échantillon

² Les résultats en verts sont donnés à titre indicatif (en-deça de la limite de quantification basse de la méthode)

acceptables reflétant l'état de l'art à partir des données des EEQ (CV moyen du groupe de pairs). Nous nous sommes également reposés sur des critères cliniques basés sur le modèle des variations biologiques (Ricos) et sur les recommandations du NACB (National Academy of Clinical Chemistry) [59]. Les performances de l'état de l'art et des besoins cliniques sont atteintes en termes de répétabilité et de fidélité intermédiaire. Cependant les performances annoncées par le fournisseur dans la fiche technique du réactif ne sont pas atteintes. Plusieurs éléments peuvent expliquer cette observation. Le protocole expérimental employé par le fournisseur pour obtenir les performances de fidélité diffère du nôtre : 2 dosages par jour pendant 10 jours. Les tests sont de plus effectués dans des conditions idéales de fonctionnement de l'analyseur (température, air, maintenance...). Etant donné que les recommandations cliniques sont prépondérantes sur les performances fournisseurs, nous avons validé les performances de fidélité. A l'avenir il est nécessaire que les fournisseurs nous communiquent des limites acceptables qui reflètent les performances réelles que nous pouvons rencontrer dans nos laboratoires. Pour les autres paramètres évalués, les performances sont satisfaisantes en termes d'exactitude, incertitude de mesure, contamination, intervalle de mesure. Nous avons retrouvé une limite de quantification (0,07 ng/mL) inférieure à la limite de détection annoncée par le fournisseur (0,1 ng/mL). En théorie la limite de quantification est supérieure à la limite de détection. En conséquence, nous avons fixé la limite de quantification à 0,2 ng/mL pour qu'elle soit plus haute que la limite de détection annoncée par le fournisseur. La comparaison de méthodes révèle une non-corrélation entre les 2 méthodes. Les résultats des patients ne sont pas comparables, avec des différences pouvant avoir un impact clinique. L'erreur systématique proportionnelle mise en évidence pourrait être causée par la différence d'étalonnage entre les 2 méthodes. Les solutions d'étalonnage sont en effet différentes entre les 2 kits. L'utilisation de mêmes solutions d'étalonnage sur les 2 méthodes pourrait être une solution pour rendre les 2 méthodes comparables. Cependant si nous utilisons des solutions d'étalonnage différentes de celles conseillées par le fournisseur Beckman, nous passons en portée B ce qui alourdit le travail de vérification de méthode (passage en validation de méthode). De plus, nous ne sommes pas certains du résultat. L'utilisation d'un facteur de correction est une autre solution possible. Cette pratique n'est pas applicable ici : même si la surestimation moyenne est de +60%, elle diffère selon les échantillons (Tableau 23). De plus le comportement différent des 2 méthodes entre échantillons de patient et solutions de contrôle (CIQ : Tableau 20 et EEQ : Figure 27) incite à la prudence quant à l'utilisation d'un facteur de correction. Cette différence entre patients et contrôles peut être expliquée soit par une matrice différente soit par la nature particulière de la

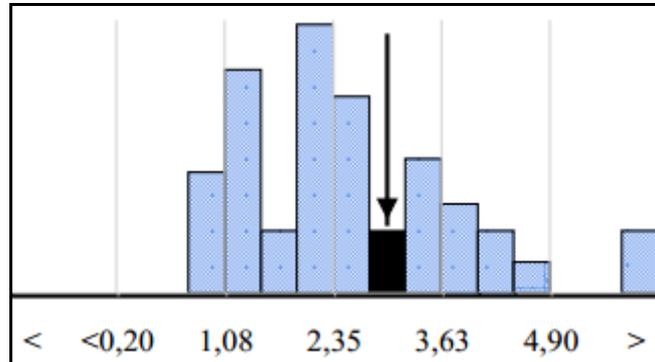


Figure 28 : Dispersion de valeurs de Tg observées sur un échantillon d'EEQ de ProBioQual

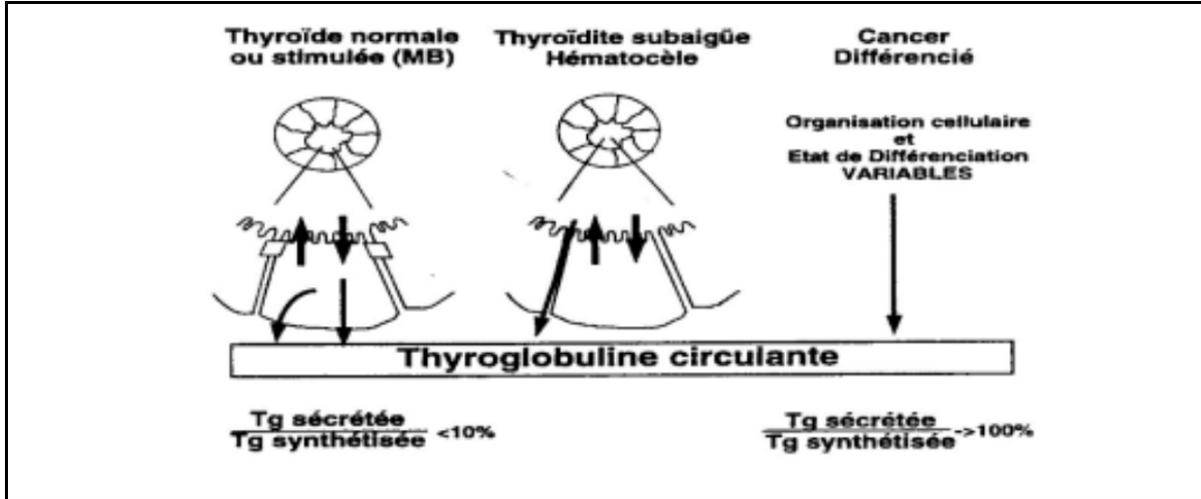


Figure 29 : Schéma hypothétique de la sécrétion de la Tg selon la situation de la thyroïde³

³ D'après L. Druetta

Tg contenue dans la solution de contrôle, dont la réactivité avec les anticorps contenus dans les 2 kits peut différer. La différence de comportement justifie le fait que les échantillons de patient constituent le matériel de choix à utiliser pour réaliser les comparaisons de méthode.

5.10.4. Variabilité intertechnique

Notre comparaison de méthodes illustre le problème connu de non-comparabilité entre méthodes de dosage de la thyroglobuline entre elles. L'évaluation externe de la qualité témoigne de la forte variabilité inter-laboratoire : Figure 28. Par exemple pour un même échantillon de moyenne toute technique à 2,35 ng/mL, nous pouvons observer des moyennes groupe de pairs de 1,12 à 4,10 ng/mL selon la méthode utilisée. Dans le cas de la comparaison entre nos 2 méthodes de dosage, les résultats d'EEQ confirment la mauvaise corrélation entre les 2 méthodes (page 84). La standardisation n'est pas le seul facteur à mettre en cause et la pluralité des sites antigéniques ainsi que d'éventuelles formes de thyroglobulines circulantes (Figure 29), différentes du dimère, peuvent entraîner une diversité des réponses [60] avec des trousseaux utilisant des anticorps différents. Un changement de méthode de dosage pour des examens importants pour le suivi des patients doit être accompagné d'une analyse de l'impact de ce changement (comparaison de méthode ici) et d'un accompagnement des cliniciens pour maîtriser au mieux la période de transition.

CONCLUSION

La norme NF EN ISO 15189 établit des exigences mais il appartient au laboratoire de déterminer la façon la plus appropriée d'y répondre. Quel que soit le domaine d'exigence (CIQ, EEQ, validation de méthode ou autre) la détermination des limites acceptables est essentielle. Ces limites doivent être en accord avec le COFRAC, les besoins cliniques et les possibilités du laboratoire. La notion d'équilibre entre les coûts, les risques et les possibilités techniques prend ici tout son sens. L'expertise du biologiste est essentielle : par ses connaissances cliniques, scientifiques, techniques et de l'organisation du laboratoire, le biologiste est le mieux placé pour établir des limites acceptables adaptées à sa pratique. En hormonologie ce rôle est d'autant plus important que les référentiels dans la littérature sont incomplets et qu'il existe peu de consensus ou de recommandations de sociétés savantes.

Les principales difficultés rencontrées au cours de ce travail sont la difficulté d'accès à l'information (normes payantes, référentiels peu nombreux ou manquant de précisions...), les moyens disponibles qui ne permettent pas toujours de répondre aux exigences (possibilités offertes par les fournisseurs, moyens humains, temps ...), la gestion documentaire du PBP non-optimisée.

Les dispositions que nous avons mises en place ont posé un cadre, jugé conforme par le COFRAC. Néanmoins cette organisation n'est pas fixée : elle a pour vocation d'évoluer sur divers points. Le but étant de créer une dynamique d'amélioration continue, prônée par la norme. Les améliorations pourraient être par exemple une extension de la gestion des CIQ aux techniques manuelles, des limites acceptables se rapprochant plus des exigences cliniques que de l'état de l'art, une meilleure formalisation de la formation et de l'habilitation du personnel à la gestion des CIQ.

L'ensemble des travaux présentés dans cette thèse contribue à la maîtrise du processus analytique, tout en apportant la preuve. L'impact sur le fonctionnement du laboratoire a été favorable. Le personnel travaille plus sereinement et a confiance dans les résultats rendus. Il peut communiquer cette confiance aux cliniciens. Le personnel technique est motivé par les changements apportés et il est demandeur de l'extension de ces travaux à d'autres secteurs du laboratoire.

Il ne faut pas perdre de vue que le contrôle de qualité, même s'il est valide, ne garantit pas totalement la fiabilité du résultat : d'autres éléments peuvent perturber la phase analytique : les interférences (hémolyse, centrifugation, médicaments ...), l'effet crochet, la sensibilité et

la spécificité de la méthode, les anticorps hétérophiles ... De plus, l'examen de biologie médicale ne se limite pas à la phase analytique. La maîtrise des autres processus est primordiale pour l'obtention d'un résultat fiable. La phase pré analytique est tout aussi importante à maîtriser. Le biologiste doit être conscient de tous les facteurs pouvant influencer le résultat lorsqu'il les valide biologiquement mais aussi pour mettre en place de façon préventive des actions permettant de maîtriser tous ces risques. Le but étant de rendre un résultat fiable pour le patient, objectif ultime de la mise en place de la norme.

BIBLIOGRAPHIE

1. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.
2. COFRAC. SH-REF-02 Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189:2012 [Internet]. 2013 [cité 10 août 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/download/documentation/SH-REF-02>.
3. Chazalette L. L'accréditation des laboratoires de biologie médicale, une méthode de DPC. 2014 [cité 21 juill 2014]; Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1517154/fr/dpc-pratiques-n-74-le-dpc-des-biologistes
4. Loi n° 75-626 du 11 juillet 1975 relative aux laboratoires d'analyses de biologie médicale et à leurs directeurs et directeurs adjoints.
5. Décret n°78-1148 du 7 décembre 1978 relatif au contrôle de qualité des analyses de biologie médicale prévu par l'article L761-14 du code de la santé publique. 78-1148 déc 7, 1978.
6. Aulois-Griot M. Les laboratoires de biologie médicale - Aspect juridiques. 2012.
7. Mirfendereski R. La démarche qualité dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale privés franciliens [Internet]. 2007 [cité 24 juill 2014]. Disponible sur: <http://www.asqualab.com/documents/qualite/metrologie/20-mirfendereski.pdf>
8. Housset B. Apprentissage de l'exercice médical - 2° édition [Internet]. 2008 [cité 3 août 2014]. Disponible sur: <http://www.mollat.com/livres/apprentissage-exercice-medical-module-items-cas-cliniques-commentes-9782294021145.html>
9. ANAES. Manuel d'accréditation des établissements de santé [Internet]. 1999 [cité 31 juill 2014]. Disponible sur: http://www.utc.fr/~farges/textes_off/accreditations/ANAES/Manuel_v1_fr.pdf
10. HAS. Manuel de certification (ex-accréditation) des établissements de santé - Deuxième procédure de certification (V2) - septembre 2004 [Internet]. [cité 1 août 2014]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/plugins/ModuleXitiKLEE/types/FileDocument/doXiti.jsp?id=c_436559
11. COFRAC. Distinction accréditation/certification [Internet]. [cité 1 août 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/fr/accreditation/distinction.php>
12. IGAS. La biologie médicale libérale en France : bilan et perspectives [Internet]. 2006 [cité 30 juill 2014]. Disponible sur: <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/rapports-publics/064000445/index.shtml>
13. Ballereau M. Rapport pour un projet de réforme de la biologie médicale [Internet]. 2008 [cité 2 août 2014]. Disponible sur: http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_pour_la_biologie_medicale.pdf

14. Loi n° 2009-879 du 21 juillet 2009 portant réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires. 2009-879 juill 21, 2009.
15. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.
16. Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale. 2013-442 mai 30, 2013.
17. Réforme de la biologie médicale - Le pharmacien - Ordre National des Pharmaciens [Internet]. [cité 4 août 2014]. Disponible sur: <http://www.ordre.pharmacien.fr/Le-pharmacien/Secteurs-d-activite/Biologie/Reforme-de-la-biologie-medicale>
18. COFRAC. Présentation générale du Cofrac [Internet]. [cité 6 août 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/fr/cofrac/index.php>
19. COFRAC. SH-REF-05 Règlement d'accréditation. 2014.
20. COFRAC. SH-REF-08 Expression et évaluation des portées d'accréditation. 2012.
21. Mehay H. L'accréditation des laboratoires de biologie médicale en France. 2012 mai 25.
22. COFRAC. SH-FORM-05 Demande d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 - Questionnaire de renseignements [Internet]. 2014 [cité 7 août 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-FORM-05>
23. COFRAC. SH-FORM-03 Questionnaire d'auto-évaluation - Préparation de l'évaluation sur site selon la norme NF EN ISO 15189 2012. 2014.
24. COFRAC. SH-INF-50 Portées-types d'accréditation. 2013.
25. COFRAC. SH-REF-03 Règlement de fonctionnement des commissions [Internet]. 2013 [cité 10 août 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/download/documentation/SH-REF-03>
26. Arrêté du 5 août 2010 fixant les références des normes d'accréditation applicables aux laboratoires de biologie médicale.
27. COFRAC. SH-REF-20 Exigences spécifiques et recommandations d'accréditation en plombémie. 2010.
28. COFRAC. SH-REF-04 Recueil des critères complémentaires pour l'évaluation selon la norme NF EN ISO 15189. 2013.
29. MQ-MAN-100 Manuel Qualité du Pôle de biologie et pathologie du CHU de Bordeaux. 2013.
30. Roue de Deming [Internet]. Wikipédia. 2014 [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Roue_de_Deming&oldid=101630685
31. Audigé C, Dupont G, Zonszain F. Principes des méthodes d'analyse biochimique. Wolters Kluwer France; 1992. 188 p.

32. COFRAC. SH GTA 06 Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en biologie médicale [Internet]. 2012 [cité 12 juill 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-06>
33. Sanchez E. Fidélité et justesse [Internet]. Disponible sur: <http://www.enfa.fr/physique-chimie/wp-content/.../94-justesse-fidélité.pdf>
34. Norme NF EN ISO 15189:2012 - Laboratoires de biologie médicale -- Exigences concernant la qualité et la compétence [Internet]. 2012 [cité 11 août 2014]. Disponible sur: http://www.iso.org/iso/fr/catalogue_detail?csnumber=56115
35. Giroud C, Arnaud J, Adjidé V, Vassault A. Contrôle interne de qualité. Ann Biol Clin (Paris). 1 déc 2010;68(1):203-21.
36. Cooper G. Leçons de Base de Contrôle de Qualité au Laboratoire [Internet]. Biorad; 2010. Disponible sur: <http://www.qcnet.com/Portals/53/PDFs/Cahier%20Le%C3%A7ons%20de%20Base%20de%20CQ%20au%20laboratoire2010.pdf>
37. COFRAC. SH-GTA-01 Guide technique d'accréditation en biologie médicale [Internet]. 2011 [cité 21 sept 2014]. Disponible sur: <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-01>
38. Centre Suisse de Contrôle de Qualité. Contrôle de Qualité Interne (CQI) : Partie III [Internet]. 2006. Disponible sur: <http://www.cscq.ch>
39. Vassault A. Comparabilité des résultats d'examens [Internet]. Feuillet de Biologie. [cité 19 juill 2014]. Disponible sur: http://www.feuilletsdebiologie.fr/29_246_Comparabilite-des-resultats-d-examens.html?idAcc=10
40. Daunizeau A. Accréditation – Contrôles de qualité : de la norme à la pratique [Internet]. 2014 [cité 24 juill 2014]. Disponible sur: <http://www.ibs-corata.org/medias/direct/1-Paris-2014-J-T-Accreditation-CQ-de-la-norme-a-la-pratique.pdf>
41. Vassault A. Contrôle qualité interne et externe : Interprétation [Internet]. 3èmes Journées Nationales de Biologie Praticienne; 2010 avr 2; Tanger. Disponible sur: http://www.ambmmaroc.com/CongresTanger/CongresAMBMSansAudio/Samedi/Session_4_PDF/VassaultCQ3042010.pdf
42. Biorad. Découverte de l'importance d'un contrôle de qualité indépendant.pdf [Internet]. [cité 21 sept 2014]. Disponible sur: <http://www.qcnet.com/Portals/53/PDFs/D%C3%A9couverte%20de%20l%20importance%20d%20un%20contr%C3%B4le%20de%20qualit%C3%A9%20ind%C3%A9pendant.pdf>
43. Miller G. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions [Internet]. 2006 [cité 20 sept 2014]. Disponible sur: <http://shopping.netsuite.com/s.nl/c.1253739/it.A/id.964/.f>
44. Marquis P. Contrôle de qualité interne : faux rejets et période préliminaire. Ann Biol Clin (Paris). 2 avr 2001;59(2):214-8.

45. Scherrer F, Boisson RC, Cartier R, Cohen R, Eynard JC, Poggi B, et al. Réflexion sur le choix des limites acceptables dans les programmes d'évaluation externe de la qualité. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 nov 2007;65(6):677-84.
46. Ricos C, Alvarez V, Cava F. Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard QC [Internet]. <http://westgard.com/biodatabase1.htm>. 2014 [cité 19 juill 2014]. Disponible sur: <http://westgard.com/biodatabase1.htm>
47. Bioforma. Cahier de formation Bioforma : L'exploration de la thyroïde [Internet]. 1999 [cité 7 oct 2014]. Disponible sur: <http://quali-bio.com/CahiersCd1/Cahier14.pdf>
48. Vassault A, Grafmeyer D, Graeve J de, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Ann Biol Clin (Paris)*. 24 nov 1999;57(6):685-95.
49. Scherrer F [b1 b2] (analytic), Boisson RC [b2 b3] (analytic), Eynard JC [b2] (analytic), Chamard D [b4] (analytic), Poggi B [b2 b5] (analytic), Grafmeyer D [b2 b5] (analytic). État de l'art et validation de techniques : application aux performances de fidélité (French). *State Art Method Valid Appl Fidel Perform Engl*. cover date 2008;66(6):721-5.
50. Vanchon M, Desmeules P, Arès C. Variabilité biologique : Utilité au quotidien. Congrès CSCC/SQBC 2012 – QUÉBEC, QC; 2012.
51. Arnaud J, Adjidé V, Analytique AV et les membres du sous-groupe 2. Comparaisons inter-laboratoires/évaluation externe de la qualité. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 déc 2010;68(1):228-36.
52. Albert A. Méthodes statistiques appliquées à l'évaluation externe de la qualité des laboratoires de biologie clinique [Internet]. Institut Scientifique de Santé Publique Service Qualité des laboratoires médicaux; [cité 27 oct 2014]. Disponible sur: https://www.wiv-isp.be/qml/activities/external_quality/_down/_fr/Methodes_statistiques_appliquees_a_EEQ.pdf
53. Jones G, Barker A. Reference Intervals. *Clin Biochem Rev*. août 2008;29(Suppl 1):S93-7.
54. Georges A, Corcuff J-B, Brossaud J, Bordenave L. Particularités méthodologiques et interprétation du dosage de thyroglobuline sérique. *Médecine Nucl*. janv 2012;36(1):24-8.
55. Izembart M. Thyroglobuline. 16 mai 2007 [cité 10 févr 2015]; Disponible sur: <http://www.em-premium.com/article/61151>
56. Meyer P. Thyroglobuline ultra-sensible Amélioration de la sensibilité pour l'aide au diagnostic thyroïdien. 2014.
57. COFRAC. SH-GTA-04 Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale. 2011.
58. Sapin R, Schlienger J-L. Thyroglobulin assay ambiguities. *Ann Biol Clin (Paris)*. 23 janv 1998;56(1):41-7.

59. Carayon P, Conte-Devolx P, Ruf J, Wémeau J. L'exploration biologique dans le diagnostic et la surveillance des maladies de la glande thyroïde. 2002.
60. Schaadt B, Feldt-Rasmussen U, Rasmusson B, Tørring H, Foder B, Jørgensen K, et al. Assessment of the influence of thyroglobulin (Tg) autoantibodies and other interfering factors on the use of serum Tg as tumor marker in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc.* juin 1995;5(3):165-70.
61. Rouaud M. Calcul d'incertitudes [Internet]. Disponible sur: <http://www.incertitudes.fr/livre.pdf>

SERMENT D'HIPPOCRATE

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans discrimination.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance.

Je donnerai mes soins à l'indigent et je n'exigerai pas un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement la vie ni ne provoquerai délibérément la mort.

Je préserverai l'indépendance nécessaire et je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je perfectionnerai mes connaissances pour assurer au mieux ma mission.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé si j'y manque.

RESUMÉ

La réforme de la biologie médicale de 2010 rend obligatoire l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO 15189. La norme établit des exigences mais il appartient au biologiste de déterminer la façon la plus appropriée d'y répondre.

L'objet de ce travail est de présenter les différents moyens mis en œuvre pour répondre à certaines exigences de la norme en vue de la visite initiale d'accréditation dans notre laboratoire d'Hormonologie – Marqueurs Tumoraux.

Nous décrivons l'application des exigences en matière de garantie de qualité des résultats : contrôles internes de qualité et évaluation externe de la qualité. Nous détaillons entre autres l'organisation, le choix des échantillons de contrôle, le choix des limites acceptables, l'interprétation des résultats, les études d'impact, la revue des résultats.

Ensuite nous présentons l'application des exigences de vérification de méthode à un changement de méthode de dosage de thyroglobuline : passage d'un dosage radioimmunologique IRMA (CisBio Bioassay) non-automatisé à un dosage par chimiluminescence (*Thyroglobulin* Beckman sur analyseur UniCel DXI 800). Nous décrivons la méthodologie employée et les performances observées. Les résultats entre les 2 méthodes ne sont pas comparables. L'impact sur l'organisation du laboratoire et la prise en charge des patients a été évalué et nous avons proposé une solution adaptée.

TITRE en anglais

Implementation of the standard NF EN ISO 15189 in clinical laboratory

Application to quality control management and change of a measurement method

DISCIPLINE

Biologie médicale

MOTS-CLÉS

contrôle interne de qualité, évaluation externe de la qualité, accréditation, norme FR EN ISO 15189, COFRAC, hormonologie, marqueurs tumoraux, thyroglobuline, vérification de méthode, biochimie

INTITULÉ ET ADRESSE DU LABORATOIRE

Laboratoire d'Hormonologie – Marqueurs Tumoraux, Service de Médecine nucléaire

Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux

Avenue du Haut-Lévêque

33600 Pessac