

VALIDATION DE METHODES QUALITATIVES EN CONTINU



**IX^E JOURNÉES PROFESSIONNELLES
DE L'AFTLM**

PARIS

Informations pré requises



Type de flexibilité

- Méthodes « fournisseurs » (portée flexible standard A) , dites adoptées.
 - ⇒ Vérification de performances sur site
- Méthodes adaptées ou développées en interne (portée flexible étendue B)
 - ⇒ Validation de méthodes sur site

Type de Méthode

- Quantitatif ou qualitatif

Méthode de type qualitatif



Le résultat :

- N'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte (cellule ou organisme)
- Apporte une information sur sa présence ou son absence (positif/négatif), ou l'identification de la caractéristique recherchée.
- On peut classer dans cette catégorie tous les examens où aucune mesure d'une donnée quantifiable ne peut être déterminée et ceux dont le résultat est obtenu par l'observation de la réaction, par comparaison avec des témoins positifs et négatifs notamment.

(SH GTA 04)

Vérification sur site/Validation des performances d'une méthode



3 ETAPES :

- Etude de documents bibliographiques
- Détermination des critères de performance pertinents à établir et le choix des limites d'acceptabilité
- Réalisation des vérifications expérimentales selon la procédure établie par le LBM

Validation/ Vérification expérimentale :

2 Phases



- **PHASE INITIALE** avant la mise en œuvre en routine
- **PHASE DE VERIFICATION CONTINUE**
confirmation des performances dans le cadre du fonctionnement quotidien du LBM

VALIDATION INITIALE

Contenu



PARAMETRES A VERIFIER ET/OU A CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site Portée de type A	Validation Portée de type B
<i>Spécificité analytique</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>
<i>Sensibilité diagnostique</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>
<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
<i>Stabilité des réactifs (après ouverture, embarqués)</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>
<i>Robustesse</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>
<i>Comparaison avec méthode de référence</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>	<i>Oui (si existe)</i>
<i>Comparaison avec méthode déjà utilisée au laboratoire¹¹</i>	<i>Oui (si existe)</i>	<i>Oui (si possible)</i>	<i>Oui</i>
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude¹² de la méthode ou du système analytique.			

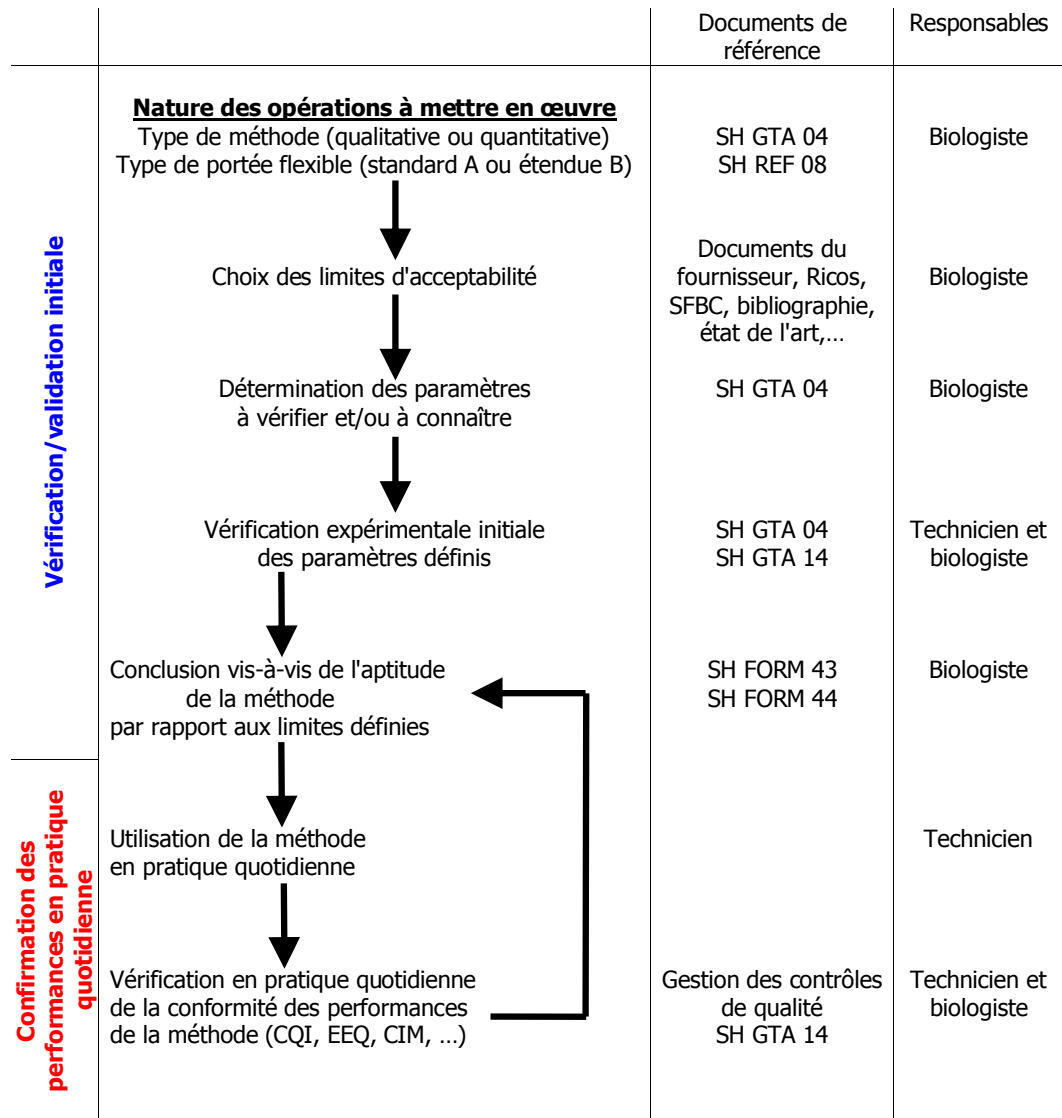
Pourquoi une validation en continu?



Beaucoup de facteurs peuvent affecter les performances d'une méthode :

- 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
- Maintenance lourde (requalification à l'aide des CIQ)
- La qualité de l'eau, la compétence (« habileté, dextérité ») de l'utilisateur

1 – LOGIGRAMME DE VERIFICATION/VALIDATION DES METHODES



LES OUTILS



- **CONTROLES QUALITE INTERNE**
- **EVALUATION EXTERNES DE LA QUALITE**

LES CIQ CEQ CIL



Les contrôles de qualité constituent la base de la validation en continue de la méthode par le laboratoire pour assurer la qualité des procédures analytiques et donc des résultats.

(SH-GTA-01)

Le contrôle de qualité constitue un moyen de vérification de la maîtrise en continu du processus analytique.

La conception et la mise en œuvre du contrôle de qualité sont destinées à assurer la maîtrise nécessaire et suffisante à un coût raisonnable, et à permettre une détection rapide et efficace des anomalies, sans alerte inutile.(SH-GTA-06)

LES CIQ CEQ CIL



CIQ :

Il est réalisé au sein du laboratoire à l'aide

- d'échantillons de contrôles lors de la mesure
- d'échantillons biologiques de patients pour vérifier la maîtrise du processus analytique.

L'interprétation se fera en fonction de limites de tolérance déterminées selon un protocole préétabli.

LES CIQ CEQ CIL



CEQ :

5.6.4 Le laboratoire doit participer à des comparaisons interlaboratoires, telles que celles organisées dans le cadre de programmes d'évaluation externe de la qualité. La direction du laboratoire doit surveiller les résultats de l'évaluation externe de la qualité et participer à la mise en œuvre des actions correctives lorsque les critères de maîtrise ne sont pas respectés. Les programmes de comparaison interlaboratoires doivent être en conformité substantielle avec les dispositions de l'ISO/CEI Guide 43-1.

LES CIQ CEQ CIL



CEQ :

- Procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire (essai d'aptitude, cf. annexe : définitions) par le biais d'une comparaison interlaboratoires réalisée par un organisateur respectant substantiellement les exigences de l'ISO 43-11 (cf. § 5.6.4) et la réglementation en vigueur à l'aide d'échantillon de contrôles inconnus. *(SH-GTA-06)*

Autres types de contrôle de qualité



5.6.1 Le laboratoire doit concevoir des systèmes de contrôle interne de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue. Il est important que ce système de maîtrise permette aux membres du personnel d'obtenir des informations claires et faciles à comprendre sur lesquelles baser leurs décisions techniques et médicales. Il convient de veiller particulièrement à éliminer les erreurs susceptibles de se produire dans le processus de traitement des échantillons, des prescriptions, des analyses, des comptes rendus, etc.

Autres Moyens de Maitrise de la qualité des examens Méthodes qualitatives



- ❑ **PLUS COMPLEXE**
- ❑ **MOYENS AUTRES QUE LES CIQ ET EEQ**
- ❑ **NOMBREUSES SOURCES DE VARIATIONS**
- ❑ **CRITICITE VARIABLE**
- ❑ **ANALYSE ET MAITRISE DES RISQUES**

L'analyse de risques et les composantes d'incertitudes



La maîtrise des risques relève d'un processus d'analyse, réalisé au préalable, et qui précède la stratégie de mise en place des moyens de contrôle qualité

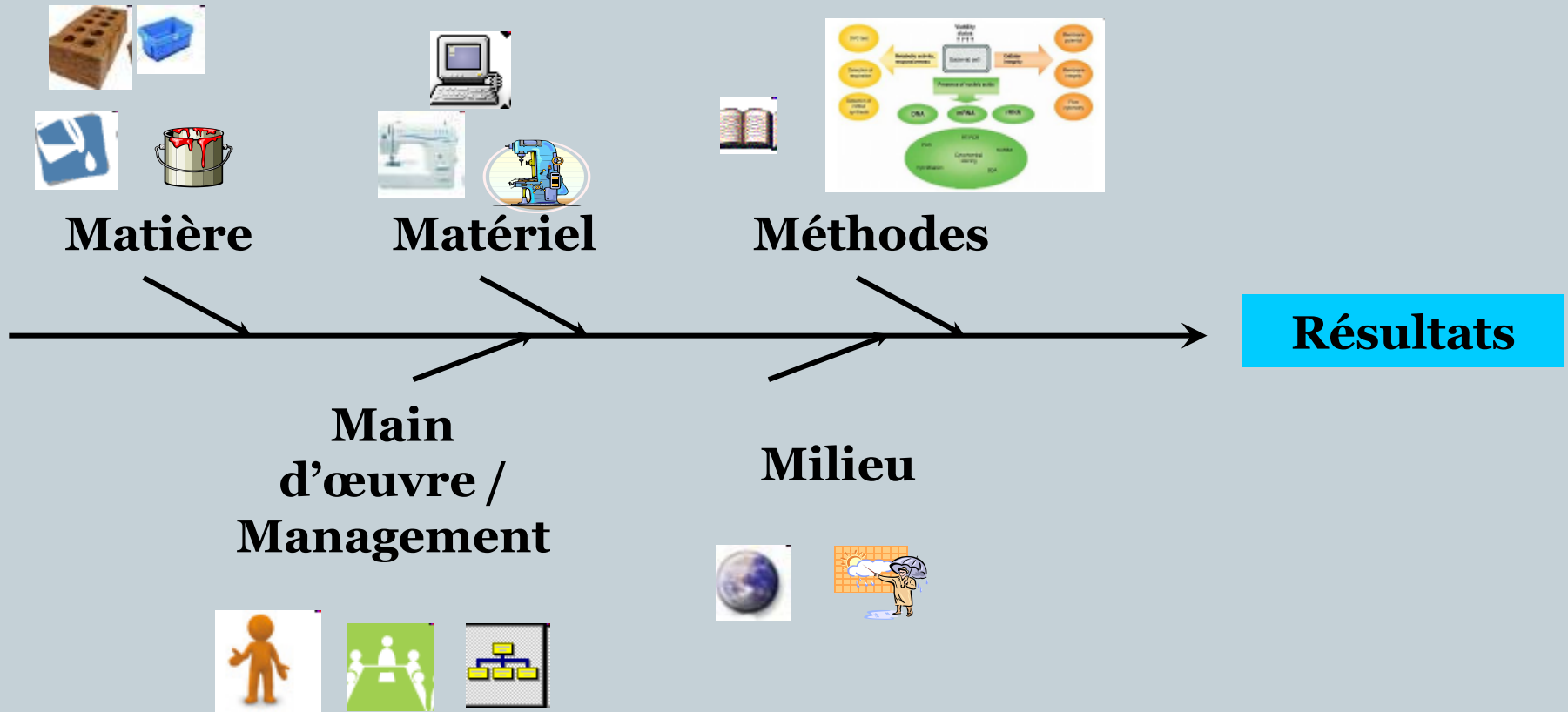
L'analyse de risques et les composantes d'incertitudes



Quelle que soit la nature qualitative ou quantitative du résultat, la démarche est de définir le mesurande et d'analyser le processus de mesure :

- identifier les facteurs susceptibles d'influencer le résultat de mesure (analyse de risque) ;
- identifier, parmi ceux-ci, ceux dont l'influence est considérée comme non significative, en précisant les raisons de cette décision (preuve ou élément connu) ;
- apporter la preuve de la maîtrise des facteurs qui ont une influence significative sur les résultats.
- Cette approche est à conduire *a minima pour l'évaluation des incertitudes sur des résultats qualitatifs.*

L'analyse de risques



MATIERE :
 * Modalités de prélèvements :
 - Type d'échantillon **1**
 - Délai d'acheminement **1**
 - Critères d'acceptabilité
 - Identitovigilance **3**
 - renseignements cliniques **1**

METHODE :
 - Prétraitement de l'échantillon (centrifugation) **1**
 - Technique automatisée
 - Réactifs, étalons, contrôles **1**
 - Manuel d'utilisation fournisseur
 - Notices techniques
 - Dossier de validation **2**
 - Instructions de maintenances à réaliser, étalonnage, passage et fréquence CQJ et CQE **2**
 - Règles de validation analytique **2**
 - Instructions d'interprétation des contrôles **2**
 - Double saisie obligatoire **3**
 - Règles de validation biologique **1**

MATERIEL :
 * Automate **2**
 - Paramétrage de la technique automatisée
 - Maintenances
 * Système informatique **2**
 Paramétrage
 * Contrôles métrologiques **1**
 - Pipettes
 - Centrifugeuse
 - Sondes de températures
 * Contrôle de la climatisation : maintenance annuelle
 - * Contrôle de l'installation électrique : maintenance annuelle

Patient

Résultat RAI

MILIEU :
 Conditions environnementales requises :
 - alimentation électrique **1**
 - température (ambiante, transport, stockage) **3**
 - humidité
 - dureté de l'eau
 - luminosité
 - espace de travail

MAIN D'ŒUVRE :
 Habilitation du personnel :
 - Compétences : secrétaires **3**, techniciens **3**, préleveurs **3**, biologistes **3**
 - Fiches de poste

Main d'oeuvre	12
Milieu	4
Matériel	5
Méthode	14
Matière	6

Niveau de maîtrise des risques	Indice de criticité
1	faible
2	moyen
3	fort

Qualification /habilitation

Maintien des compétences



- **Habilitation obligatoire du personnel basée sur :**
 - Confrontations individuelles et en aveugle intra et inter laboratoires
 - Essais d'aptitudes
- **Réévaluation périodique suivant un planning défini en fonction de la criticité de la méthode**

Qualification /habilitation

Maintien des compétences



- **Exemple :**
 - Evaluation et harmonisation des pratiques de lecture
 - Formation continue en interne
 - Congrès, séminaires, stages ...

Maitrise des conditions environnementales



- **Conditions ambiantes**
 - température
 - hygrométrie
 - Poussières
- **Logique des circuits de flux**

Maitrise des conditions environnementales



Exemple du Laboratoire de Biologie Moléculaire :

- surveillance de température suivie en début et fin de manipulation dans les pièces,
- différence de pression entre les pièces,
- preuve de non contamination (wipe tests)...

Maitrise continue des équipements



Le laboratoire s'assure de la maîtrise de ses équipements :

- Système Analytique/Analyseur : données métrologiques, maintenance, ...
- Equipements de type intermédiaire : appareils qui interviennent dans le processus analytique mais qui n'interviennent pas dans la mesure (ex : appareil de coloration, centrifugeuse, étuve, PSM, ...)
- Logiciels
- Equipements de mesure : thermomètres, pipettes, balances, ...

Maitrise de l'échantillon primaire



Le laboratoire s'assure de la maîtrise de la préparation de l'échantillon:

- qualité de l'étalement en hématocytologie, cytogénétique,
- méthode d'ensemencement en microbiologie,
- charge de l'inoculum en microbiologie,
- stabilité de l'échantillon

Maitrise de la méthode et des réactifs



Témoin Positif/Négatif :

- Validation de l'étape du processus
- Systématique en parallèle de l'échantillon patient
- Complété régulièrement par un contrôle indépendant de la trousse

Maitrise de la méthode et des réactifs



Tests Réactifs:

Pour chaque nouveau lot et/ou chaque livraison d'un même lot (critique pour immunohématologie, sérologie virale, en biologie moléculaire, ...)



vérification de la conformité/ aux spécifications définies par le laboratoire.

Contrôles internes de qualité



Maitrise du processus et Tendances

Mise en place de cartes de contrôle

Choix préalable obligatoire des critères d'acceptabilité et des indicateurs de performance

Exemple de maîtrise de la qualité



☛ GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION – CONTROLE DE QUALITE EN BIOLOGIE MEDICALE

11.8 Exemples de maîtrise de la qualité des examens - méthodes de type qualitatif

Type de technique	Familles	Exemples d'examen	Maîtrise					
			Habilitation/ Maintien des compétences (Fréquence ¹⁰)	Contrôle négatif	Contrôle positif	Points critiques Moyens de maîtrise	CIQ	EEQ
Cytologie manuelle Examen direct	BIOCHBM	Cristaux urinaires	OUI (cf. § 11.1)/+++					OUI
	BACTH	ECBU	OUI/+++			Confrontation interne ¹¹		Échange interlaboratoire
	PARASITOMYCO	Trichomonas	OUI/+++			Confrontation interne, maîtrise préanalytique +++		
Cytologie automatisée Examen direct	BACTH	ECBU	OUI/+	OUI	OUI	Confrontation interne, maîtrise préanalytique +++		Échange interlaboratoire
Cytologie manuelle Après coloration, marquage	HEMATOBM	Frottis sanguin (identification cellulaire)	OUI/+++			Confrontation interne, Etalement & coloration		OUI
	BACTH	GRAM	OUI/+++			coloration	OUI (souche(s) test positif)	
	BACTH	ZIEHL	OUI/+++		OUI (lame positive fixée)	coloration		
	PARASITOMYCO	Recherche de plasmodium	OUI/+++			Etalement & coloration ; Confrontation interne ; maîtrise préanalytique +++		OUI
	PARASITOMYCO	Pneumocystis en IF directe	OUI/+++		OUI (lame positive fixée)			Echange interlaboratoire

¹⁰ **Fréquence** : L'habilitation est une notion de base mais dans certains cas, l'absence d'autres moyens de contrôle rend cette exigence particulièrement importante. Le nombre de croix correspond à l'importance de cette habilitation.

¹¹ **Confrontation interne** : Dans le cas où le laboratoire réalise l'examen en manuel et à l'aide d'un analyseur les résultats obtenus sur les mêmes échantillons sont comparés sur la base de critères d'acceptabilité. Dans le cas où le laboratoire n'utilise qu'une technique manuelle, il pourra être procédé à une confrontation entre opérateurs (double lecture).

Les NC



- Un écart sur un résultat de contrôle peut être géré à l'aide de la procédure de traitement des Non Conformités.
- Exemple du processus de gestion des NC
- ..\OUTILS QUALITE\4.9Non Conformités\Procédure maitrise des non conformités et actions correctives.doc
- ..\OUTILS QUALITE\4.9Non Conformités\PO-LAB-002 PO de gestion des FNC.doc

Les Indicateurs Qualité



Le laboratoire pourra s'appuyer sur d'autres indicateurs de performances tels que les rejets de lecture des analyseurs pour diverses causes (Immuno-hématologie), % d'acceptabilité si plusieurs contrôles pour un même type de sonde (en biologie moléculaire).

Conclusion



La validation de méthode en continue est l'élément essentiel de la garantie du bon déroulement de l'analyse et donc de la qualité du résultat rendu au patient.

Elle répond aux exigences du § 5.6 de la Norme NF ISO 15189 en mettant en exergue les outils de maîtrise des risques et de formation/habilitation du personnel dans le cas des méthodes qualitatives.

Documents de références



- Document Cofrac SH REF 02, "Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale".
- Document Cofrac SH GTA 01, "Guide technique d'accréditation en Biologie Médicale".
- Document Cofrac SH GTA 04, "Guide technique de vérification / validation des méthodes en Biologie Médicale".
- Document Cofrac SH GTA 06, "Guide technique d'accréditation - Contrôle de qualité en Biologie Médicale « .