



Accréditation des LBM

Exigences techniques (NF/EN/ISO15 189)
pour la maîtrise de la phase analytique

VALIDATION / VERIFICATION DES PERFORMANCES D'UNE METHODE D'ANALYSE

*Carole Hennequin
Praticien hospitalier
Hôpital Necker-Enfants Malades*



Eléments ISO 15 189 - Exigences techniques

Chapitre 5 : Procédures analytiques (5.5)

1. Choix des méthodes d'analyse (établissement d'un cahier des charges) et validation des techniques développées en interne
2. **Utilisation de techniques validées**
3. Procédures d'analyse documentées et instructions conformes aux instructions d'utilisation fournies par le fabricant
4. Spécifications de performance adaptées à l'utilisation
5. Intervalles de référence revus régulièrement
6. Liste des procédures analytiques incluant les exigences relatives aux échantillons
7. Implications relatives aux changements de techniques expliquées aux prescripteurs avant modification



Norme NF/EN/ISO 15189 (ch 5.5.2)

Validation des techniques

- **Toute technique utilisée doit être validée par le laboratoire « pour s’assurer qu’elle convient à l’utilisation prévue »**
- **Les résultats de la validation doivent être conservés ainsi que le protocole utilisé**
- **Les techniques doivent être toutes validées avant d’être utilisées pour les analyses de routine**

Validation des techniques : 3 cas

- Utilisation d'un système analytique commercialisé (marquage CE) ou normalisé (certifié par les sociétés savantes) **PORTEE A**

→ VERIFICATION

vérifier que les performances annoncées par le fournisseur sont satisfaites dans les conditions réelles d'utilisation

- Nouvel équipement : qualification

- Equipement existant : suivi de performance

- Utilisation d'un système analytique modifié ou adapté (modification critique des conditions d'utilisation : réactifs, étalon, conditions de mesure, milieu...) **PORTEE B**

→ VALIDATION DE LA MODIFICATION

- Utilisation d'une méthode non normalisée : méthode développée en interne par le laboratoire **PORTEE B**

→ VALIDATION DE LA METHODE



Validation / vérification des performances d'une méthode d'analyse

- Evaluer les performances du processus analytique selon un protocole opératoire standardisé : les quantifier et les juger par rapport à des critères définis
- Déterminer les limites de validité de la technique



Différents modules d'évaluation

- **Evaluation de la fidélité**
 - Répétabilité
 - Reproductibilité intra-laboratoire (fidélité intermédiaire)
- **Domaine de mesure**
 - limite de détection, seuil de positivité
 - limite de linéarité, limite de quantification
- **Justesse**
 - matériels de référence (spécimens de contrôle)
 - Échantillons de patients : comparaison de techniques
- **Evaluation de la contamination**
- **Susceptibilité aux interférences**
 - endogènes : hémolyse, turbidité, ictère
 - exogènes : médicaments, toxiques



Modules d'évaluation à déployer en fonction de la portée

Modules à déployer	Dossier biblio	Cas d'un système normalisé (CE) vérification PORTEE A	Cas d'un système mis au point au laboratoire validation PORTEE B
<i>Fidélité (répétabilité reproductibilité intra-laboratoire)</i>	Oui	Oui	Oui
<i>Justesse</i>	Oui	Oui, si possible	Oui
<i>Limites de linéarité</i>	Oui	Oui, si possible	Oui
<i>Limite de détection</i>	Si besoin	Si besoin	Si besoin
<i>Comparaison de méthodes</i>	Oui	Oui, si possible	Oui, si possible
<i>Contamination inter-échantillons</i>	Oui	Oui, si besoin	Oui, si besoin
<i>Interférences</i>	Oui	Non	Oui, si possible ₇



Evaluation de la fidélité : répétabilité et reproductibilité d'une technique

Objectif

Estimer la variabilité des résultats obtenue sur des mesures répétées d'un même échantillon, dans des conditions définies (montre ainsi la distribution des erreurs)

⇒ bon fonctionnement du système analytique

⇒ évaluation de l'incertitude de mesure pour l'interprétation des résultats

Dans une même série : répétabilité

Dans des séries différentes (jours différents) : reproductibilité intra-laboratoire ou fidélité intermédiaire



Evaluation de la fidélité (2)

Matériel

2 spécimens de contrôles : 1 niveau bas, 1 niveau élevé

Méthode semi-quantitative : échantillons de contrôle négatif, positif et un niveau proche du seuil de positivité

Mode opératoire

Répétabilité : analyser chaque spécimen dans la même série ($n = 20$)
Conditions standardisées : même opérateur, même instrument, même lot de réactifs, même étalonnage

Reproductibilité : analyser chaque spécimen en double dans 15 séries (min.), 15 jours différents

Conditions opératoires différentes : opérateur, lot de réactifs, étalonnage...

VERIFICATION INITIALE DE METHODES

ETUDE DE REPETABILITE

ASAT/TGO

Unités UI/I

Type d'échantillon utilisé

Contrôles B et M

Niveau 1

Niveau 2

Niveau 3

Date essai: 07/08/2012
Nb mesures 30

Mesure 1	27
Mesure 2	27
Mesure 3	28
Mesure 4	28
Mesure 5	28
Mesure 6	28
Mesure 7	28
Mesure 8	28
Mesure 9	28
Mesure 10	28
Mesure 11	28
Mesure 12	28
Mesure 13	28
Mesure 14	28
Mesure 15	28
Mesure 16	28
Mesure 17	28
Mesure 18	28
Mesure 19	28
Mesure 20	28
Mesure 21	28
Mesure 22	28
Mesure 23	28
Mesure 24	28
Mesure 25	28
Mesure 26	28
Mesure 27	28
Mesure 28	28
Mesure 29	28
Mesure 30	28

Date essai: 07/08/2012
Nb mesures 30

Mesure 1	346
Mesure 2	348
Mesure 3	348
Mesure 4	348
Mesure 5	348
Mesure 6	348
Mesure 7	349
Mesure 8	349
Mesure 9	349
Mesure 10	349
Mesure 11	349
Mesure 12	349
Mesure 13	349
Mesure 14	349
Mesure 15	350
Mesure 16	350
Mesure 17	350
Mesure 18	350
Mesure 19	350
Mesure 20	350
Mesure 21	350
Mesure 22	350
Mesure 23	351
Mesure 24	351
Mesure 25	351
Mesure 26	351
Mesure 27	351
Mesure 28	351
Mesure 29	352
Mesure 30	352

Date essai:
Nb mesures

Mesure 1	
Mesure 2	
Mesure 3	
Mesure 4	
Mesure 5	
Mesure 6	
Mesure 7	
Mesure 8	
Mesure 9	
Mesure 10	
Mesure 11	
Mesure 12	
Mesure 13	
Mesure 14	
Mesure 15	
Mesure 16	
Mesure 17	
Mesure 18	
Mesure 19	
Mesure 20	
Mesure 21	
Mesure 22	
Mesure 23	
Mesure 24	
Mesure 25	
Mesure 26	
Mesure 27	
Mesure 28	
Mesure 29	
Mesure 30	

	Moyenne	Ecart-type	CV %	CV % SFBC	CV % Labo
Niveau 1	27.93	0.25	0.9 %	4.5 %	1.1 %
Niveau 2	349.60	1.35	0.4 %	3.8 %	0.4 %
Niveau 3			%	%	%

VERIFICATION INITIALE DE METHODES

REPRODUCTIBILITE

Calcium plasma

Unités mmol/l

Type d'échantillon utilisé CIQ

Niveau 1

Niveau 2

Niveau 3

Période essai:

Début	
Fin	

Période essai:

Début	01/08/2012
Fin	22/08/2012

Période essai:

Début	01/08/2012
Fin	22/08/2012

Nb mesures

Mesure 1	
Mesure 2	
Mesure 3	
Mesure 4	
Mesure 5	
Mesure 6	
Mesure 7	
Mesure 8	
Mesure 9	
Mesure 10	
Mesure 11	
Mesure 12	
Mesure 13	
Mesure 14	
Mesure 15	
Mesure 16	
Mesure 17	
Mesure 18	
Mesure 19	
Mesure 20	
Mesure 21	
Mesure 22	
Mesure 23	
Mesure 24	
Mesure 25	
Mesure 26	
Mesure 27	
Mesure 28	
Mesure 29	
Mesure 30	

Nb mesures

Mesure 1	2.39
Mesure 2	2.38
Mesure 3	2.38
Mesure 4	2.32
Mesure 5	2.34
Mesure 6	2.33
Mesure 7	2.31
Mesure 8	2.33
Mesure 9	2.32
Mesure 10	2.33
Mesure 11	2.33
Mesure 12	2.34
Mesure 13	2.41
Mesure 14	2.39
Mesure 15	2.39
Mesure 16	2.39
Mesure 17	2.32
Mesure 18	2.34
Mesure 19	2.31
Mesure 20	2.31
Mesure 21	2.31
Mesure 22	2.32
Mesure 23	2.32
Mesure 24	2.31
Mesure 25	2.31
Mesure 26	2.33
Mesure 27	2.30
Mesure 28	2.32
Mesure 29	2.31
Mesure 30	2.29

Nb mesures

Mesure 1	2.98
Mesure 2	2.91
Mesure 3	2.92
Mesure 4	2.89
Mesure 5	2.90
Mesure 6	2.88
Mesure 7	2.89
Mesure 8	2.90
Mesure 9	2.89
Mesure 10	2.89
Mesure 11	2.90
Mesure 12	2.91
Mesure 13	2.91
Mesure 14	2.92
Mesure 15	2.81
Mesure 16	2.80
Mesure 17	2.92
Mesure 18	2.93
Mesure 19	3.22
Mesure 20	3.22
Mesure 21	2.91
Mesure 22	2.95
Mesure 23	2.91
Mesure 24	2.91
Mesure 25	2.90
Mesure 26	2.93
Mesure 27	2.90
Mesure 28	2.92
Mesure 29	2.90
Mesure 30	2.90



Répétabilité et fidélité intermédiaire

CV de répétabilité et de reproductibilité comparés aux limites acceptables définies par l'état de l'art (Ann. Biol. Clin., 57, 1999, 685-695)

	n	Moy. (m)	Ecart- type (SD)	CV%	Spécification fournisseur (CV%)	Limite acceptable (CV%)	Concl usion
AST/TGO							
Répétabilité							
Niveau 1	30	27,93	0,25	0,9	1,1	4,5	V
Niveau 2	30	349,6	1,35	0,4	0,4	3,8	V
Calcium							
Reproductibilité							
Niveau 1	30	2,34	0,033	1,4	1,5	1,6	V
Niveau 2	30	2,92	0,037	1,26	1,3	1,6	V

Limites acceptables fonction du niveau de concentration

Résultats du CIQ de tous les jours peuvent être utilisés pour une étude rétrospective



Justesse

Objectif

Qualité de l'accord entre la valeur moyenne observée et la valeur « vraie » (valeur obtenue par plusieurs laboratoires ou par une méthode de référence).

⇒ Permet une évaluation de l'erreur systématique (biais entre 2 méthodes)

Matériel

Mêmes échantillons que pour la fidélité intermédiaire : 2 niveaux de concentration de valeurs cibles connues



Justesse (2)

	n	Moy. (m) mmol/l	Valeur cible mmol/l	Biais (mmol/l)	Biais (%)	Limite acceptable (%)	Concl usion
Calcium							
Reproductibilité							
Niveau 1	30	2,34	2,38	0,04	1,68	1,7	V
Niveau 2	30	2,92	2,87	0,05	1,7	1,7	V



Evaluation de la limite de détection

Définition - Objectif

Plus petit signal en quantité ou en concentration pouvant être distingué d'un blanc réaction, effectué dans les mêmes conditions (toujours inférieure à la limite basse)

⇒ Valeur en dessous de laquelle la mesure n'est pas significative sur le plan analytique

Matériel

Spécimen ne contenant pas l'analyte à doser et dont la matrice est la plus proche possible du milieu à analyser (étalon ou calibrateur zéro)

Limite de détection (2)

Mode opératoire

Effectuer 30 mesures dans une même série de ce « blanc »

*Calculer l'écart-type des valeurs obtenues pour ces blancs **en signal***

Le recalculer en concentration à l'aide des point de gamme 0 et 1

LD = 3SD (nombre de mesures = 30)

Exemple: dosage du PSA par immuno-luminescence

SD des valeurs observées pour les 30 mesures du calibrateur zéro = 83 unités RLU

Moy. Absorbance du point 0 de l'étalonnage = 1453 unités RLU ↔ [calibrateur zéro: C0]

Moy. Absorbance du 1^{er} point de gamme = 523 000 unités RLU ↔ [calibrateur 1: 20µg/l]

SDc = $\frac{[C1] - [C0]}{SD}$ soit $\frac{20}{83} \times 83 = 0.003$

Δ signal (523000-1453)

LD = 3 x 0.003 = 0.009 # 0.01 µg/l



Seuil de positivité (tests semi-quantitatifs)

Objectif

Définir à partir de quel signal le test est positif (Ex : IgG toxoplasmose)

Matériel

Matrice vierge surchargée avec l'analyte ou contrôle positif

Mode opératoire

Dilutions successives de l'échantillon et mesure 10 fois

Seuil de positivité

*1^{ère} dilution ou signal différent du contrôle négatif
ou de la matrice vierge*



Evaluation du domaine d'analyse

Objectif

Evaluer les limites de validité (limite haute et basse) de la relation linéaire existant entre les concentrations observées et les concentrations théoriques des dilutions d'un spécimen

- ⇒ Détermination de l'intervalle de mesure à l'intérieur duquel les mesures sont fiables (fidélité et justesse)
- ⇒ Limite basse = limite de quantification (en dessous méthode non reproductible)
- ⇒ Au dessus de la limite supérieure : effectuer des dilutions

Matériel

2 spécimens de matrice identique au spécimen à analyser

- Spécimen de conc. élevée $>$ limite sup. attendue (E)
- Spécimen de conc. nulle ou la plus faible possible $<$ limite inf. attendue (B)



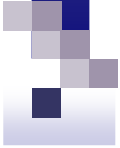
Evaluation du domaine d'analyse (2)

Mode opératoire

Effectuer des dilutions de 10% en 10%

Analyser chaque dilution en triple

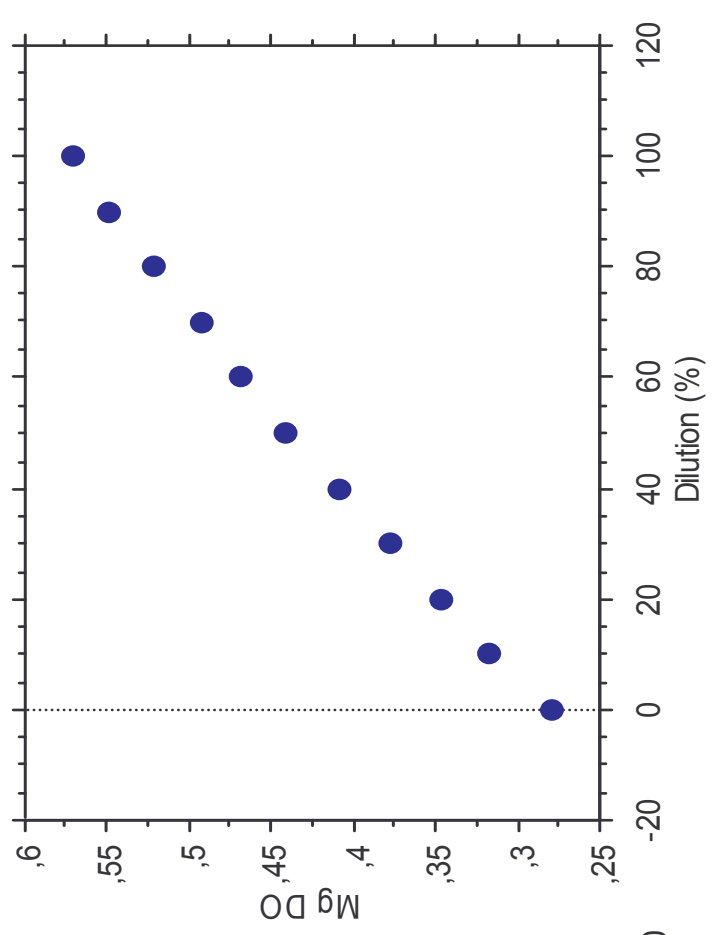
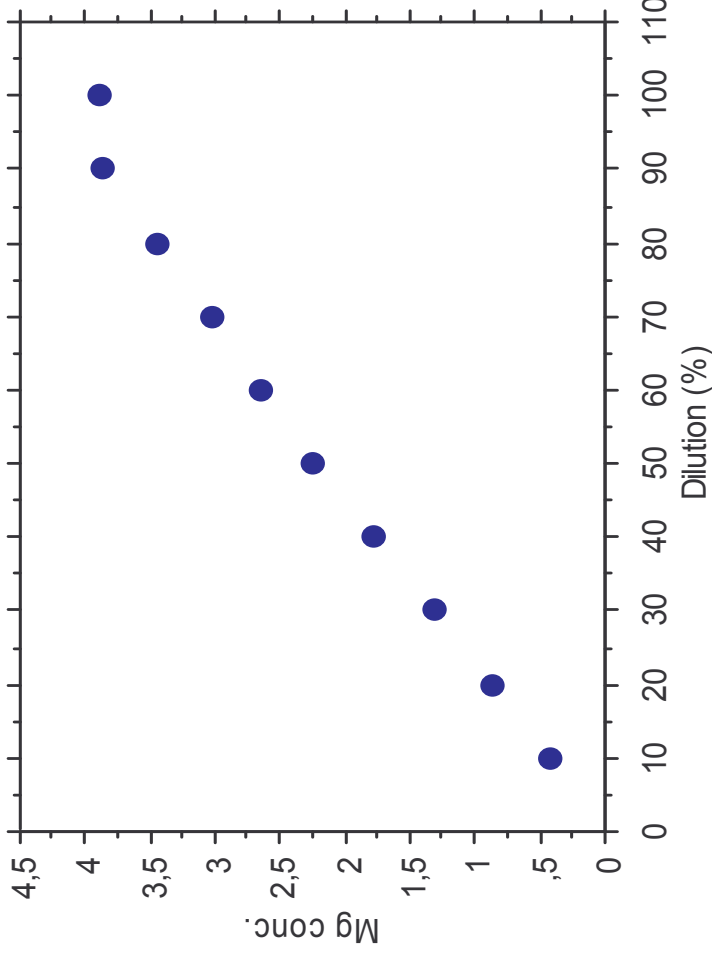
Expression en % de E	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
ml B	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
ml E	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1



Limite de linéarité haute

Concentrations observées = f (dilution ou de la concentration théorique)

⇒ Permet une évaluation satisfaisante de la partie linéaire



Linéarité annoncée : 3.9 mmol/l

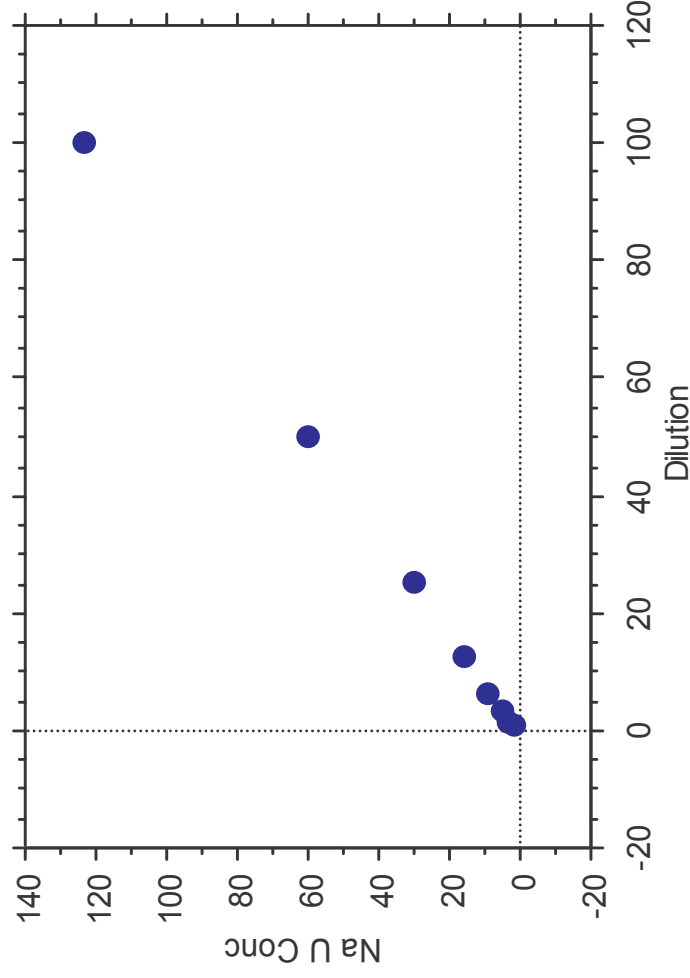
Dans le cas de valeurs physiopathologiques au dessus de la linéarité haute, effet dilution modifiant la matrice biologique : tests à l'aide d'un échantillon supérieur au dernier point de gamme de différents solvants et calculer le biais de la dilution par rapport à la valeur théorique calculée



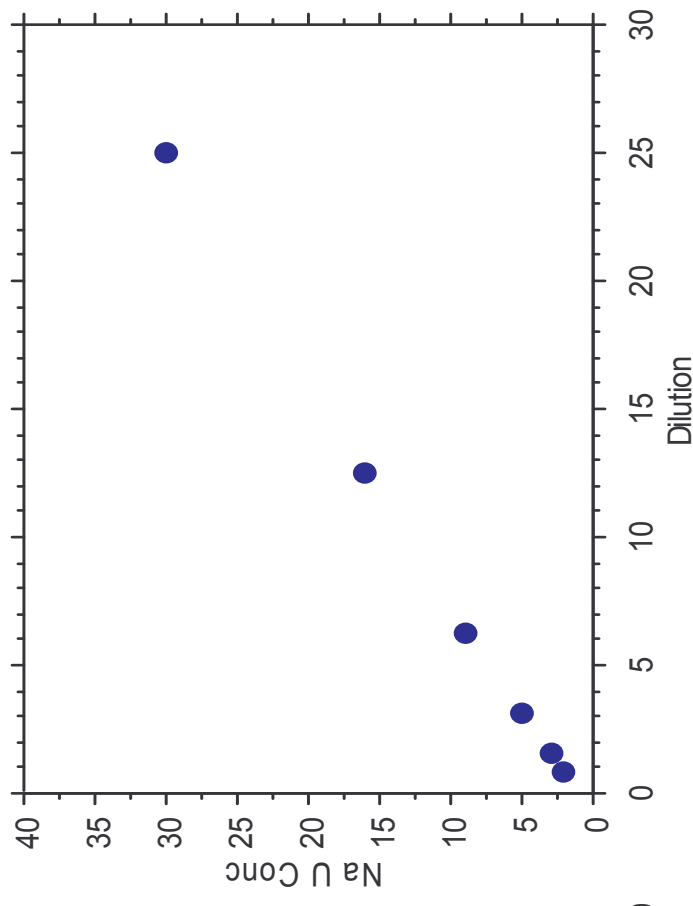
Limite de linéarité basse (limite de quantification)

Dilution de l'étalon le plus faible

Concentration observée = f (dilution ou de la concentration théorique)



Linéarité annoncée : 20 mmol/l



Linéarité obtenue : 5 mmol/l



Comparaison avec une autre méthode

Objectif

Estimer la comparabilité des résultats obtenus avec une autre méthode (technique de comparaison)

⇒ Mise en évidence d'un biais entre 2 méthodes

⇒ Si la technique de comparaison = méthode de référence, alors conclusion sur la justesse de la méthode

Matériel

- Spécimens de patients ($n = 40$ min ; préférable : 60)
- Répartition sur toute la gamme des concentrations rencontrées en physiopathologie (15 taux bas, 30 normaux, 15 élevés)
- Inclusion de spécimens particuliers : trouble, hémolysé, ictérique

Mode opératoire

Dosages dans les mêmes conditions de temps par les 2 techniques : technique à évaluer & technique de comparaison (utilisée habituellement au laboratoire)

Détection des discordances pour vérification immédiate par les 2 méthodes

TEST DE COMPARAISON DE METHODES

Test entre 2 méthodes différentes ?

☐ OUI
☒ NON

Si oui, lister les 2 méthodes / automatés

Méthode 1 : OldC16

Méthode 2 : NewC16

Test entre 2 méthodes identiques ?

☒ OUI
☐ NON

Si oui, quelle est cette méthode ?

Glucose

Fournisseurs différents ?

☐ OUI
☒ NON

Préciser le ou les fournisseurs

Méthode 1 : Abbott

Méthode 2 : Mirroir

Mode fonctionnement des 2 automatés (technique) ?

Mirroir

Opérateurs

G. Caboussin

Date des analyses

août-12

Nb mesures

50

Mesures	Automate 1 (xi)	Automate 2 (yi)	(xi - yi)	yi / xi	% erreur entre 2 méthodes
1	7.29	7.39	-0.10	1.01	-1.37
2	4.7	4.87	-0.17	1.04	-3.62
3	4.83	4.87	-0.04	1.01	-0.83
4	6.89	6.99	-0.10	1.01	-1.45
5	3.72	3.72	0.00	1.00	0.00
6	4.41	4.46	-0.05	1.01	-1.13
7	4.67	4.67	0.00	1.00	0.00
8	5.08	5.18	-0.10	1.02	-1.97
9	5.04	5.07	-0.03	1.01	-0.60
10	8.26	8.38	-0.12	1.01	-1.45
11	4.55	4.58	-0.03	1.01	-0.66
12	4.42	4.42	0.00	1.00	0.00
13	2.46	2.41	0.05	0.98	2.03
14	7.21	7.3	-0.09	1.01	-1.25
15	4.74	4.96	-0.22	1.05	-4.64
16	3.36	3.46	-0.10	1.03	-2.98
17	5.68	5.91	-0.23	1.04	-4.05
18	4.19	4.21	-0.02	1.00	-0.48
19	4.17	4.28	-0.11	1.03	-2.64
20	5	5.04	-0.04	1.01	-0.80
21	5.61	5.6	0.01	1.00	0.18
22	4.97	5.05	-0.08	1.02	-1.61
23	4.43	4.45	-0.02	1.00	-0.45
24	4.89	4.98	-0.09	1.02	-1.84
25	3.13	3.3	-0.17	1.05	-5.43
26	3.47	3.47	0.00	1.00	0.00
27	3.94	3.72	0.22	0.94	5.58
28	4.38	4.38	0.00	1.00	0.00
29	10	10.17	-0.17	1.02	-1.70
30	4.74	4.83	-0.09	1.02	-1.90
31	7.11	7.03	0.08	0.99	1.13
32	8.33	8.44	-0.11	1.01	-1.32
33	8.26	8.24	0.02	1.00	0.24
34	6.46	6.77	-0.31	1.05	-4.80
35	7.84	7.93	-0.09	1.01	-1.15

			TEST DE COMPARAISON DE METHODES					
36	4.75	5.21	-0.46	1.10	-9.68			
37	5.04	5.11	-0.07	1.01	-1.39			
38	4.62	4.72	-0.10	1.02	-2.16			
39	12.4	12.24	0.16	0.99	1.29			
40	20.35	20	0.35	0.98	1.72			
41	2.49	2.19	0.30	0.88	12.05			
42	3.27	3.24	0.03	0.99	0.92			
43	3.37	3.32	0.05	0.99	1.48			
44	1.68	1.9	-0.22	1.13	-13.10			
45	3.27	3.25	0.02	0.99	0.61			
46	1.74	1.78	-0.04	1.02	-2.30			
47	2.17	2.27	-0.10	1.05	-4.61			
48	1.51	1.64	-0.13	1.09	-8.61			
49	2.24	2.25	-0.01	1.00	-0.45			
50	3.01	3	0.01	1.00	0.33			
51								
52								
53								
54								
55								
56								
57								
58								
59								
60								
61								
62								
63								
64								
65								
66								
67								
68								
69								
70								
71								
72								
73								
74								
75								
76								
77								
78								
79								
80								

	Difference xi-yi	Rapport yi/xi
Moyenne	-0.050	1.013
Biais analytique en %	-1.30	

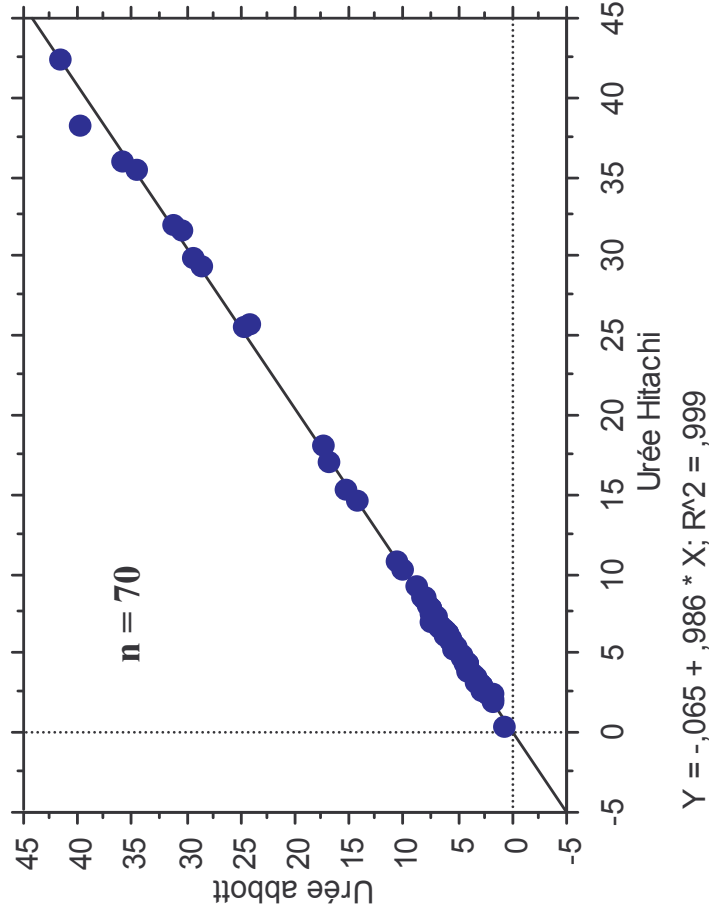
	Automate 1	Automate 2
Moyenne	5.2	5.3
Mini	1.51	1.64
Max	20.35	20
N	50	50



Comparaison avec une autre méthode (2)

Droite de régression

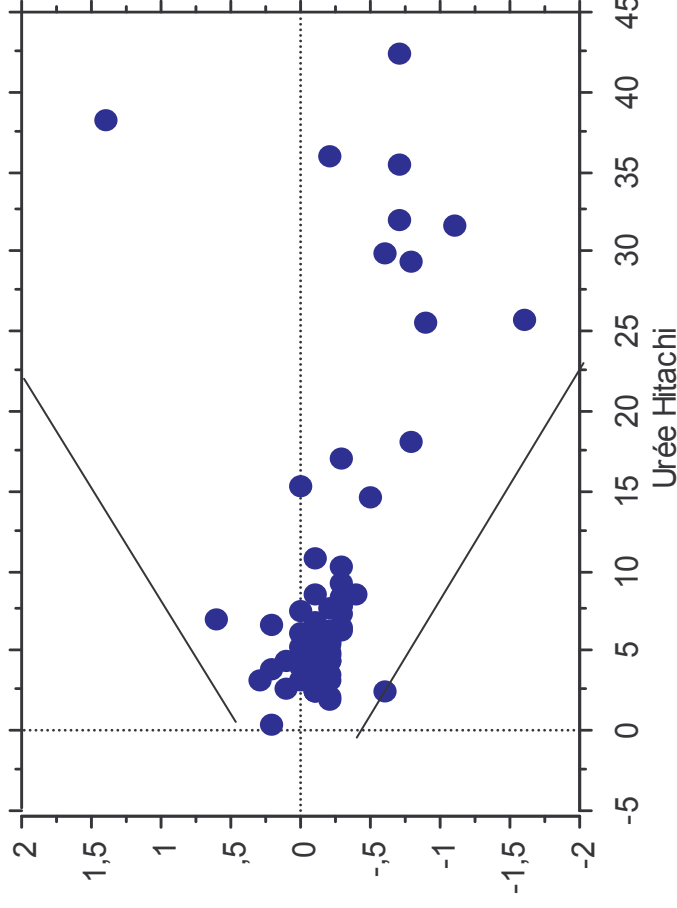
- abscisse : résultats de la technique de comparaison
- ordonnée : résultats de la technique évaluée



Vérifier coeff de corrélation, pente de régression (proche de 1) et l'ordonnée à l'origine (# 0)
 ⇒ différence significative entre les 2 techniques

Diagramme des différences (graphe d'Altman)

- abscisse : valeurs obtenues par la technique de comparaison
- ordonnée : différences observées entre les résultats des 2 techniques

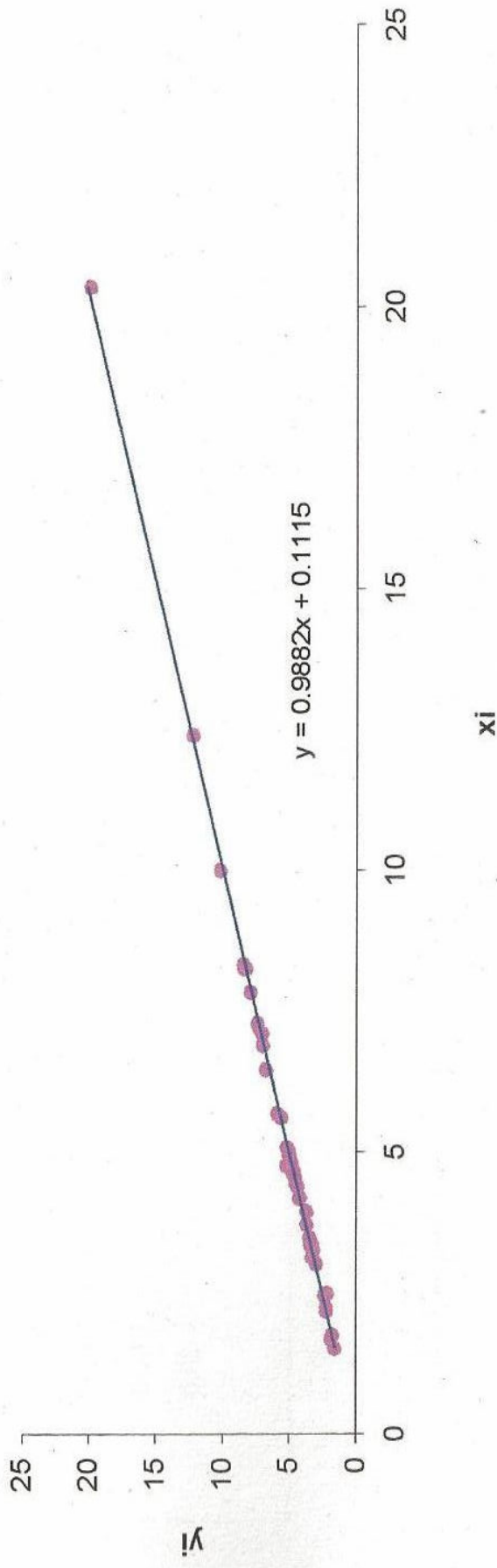


Faire figurer les limites acceptables fonction de la concentration

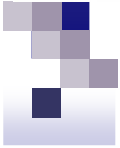
Comparaison de techniques : droite de régression

Exemple du Glucose

$$y_i = f(x_i)$$

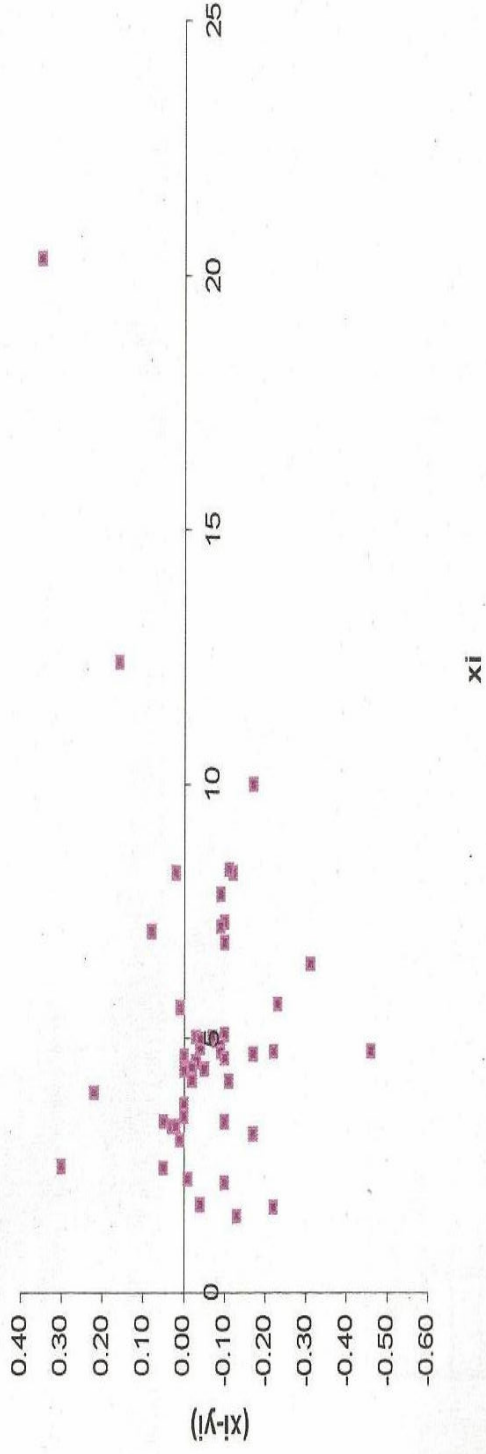


Pente	0.9882
Origine	0.112
R	0.99909



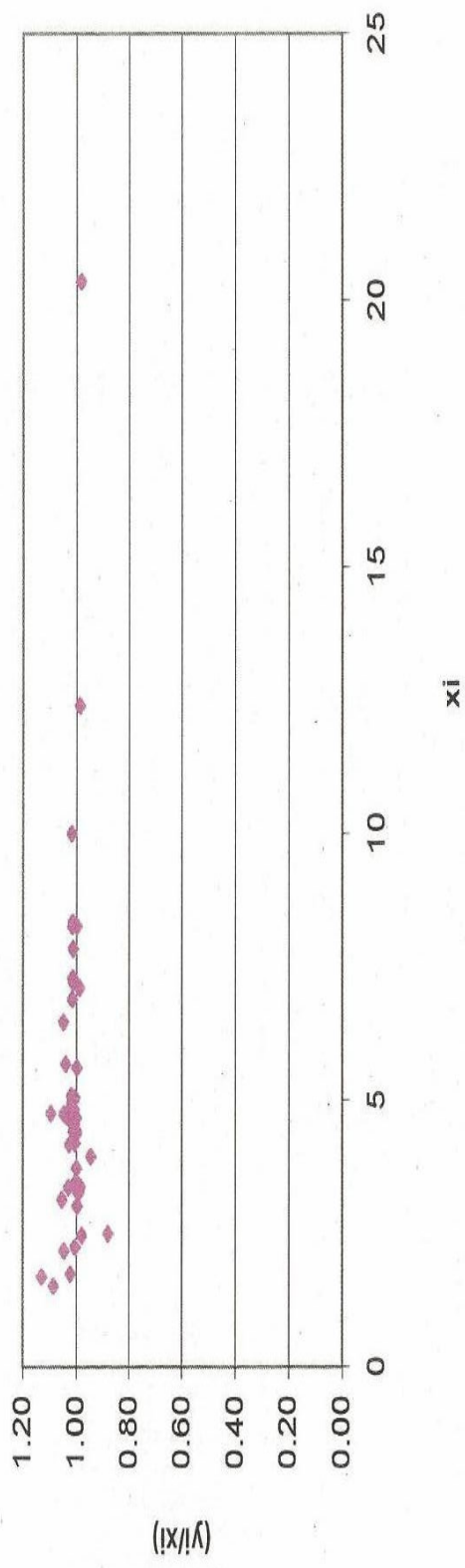
Exemple du Glucose

$$(x_i - y_i) = f(x_i)$$



Graphe des différences entre les 2 méthodes en fonction de la concentration

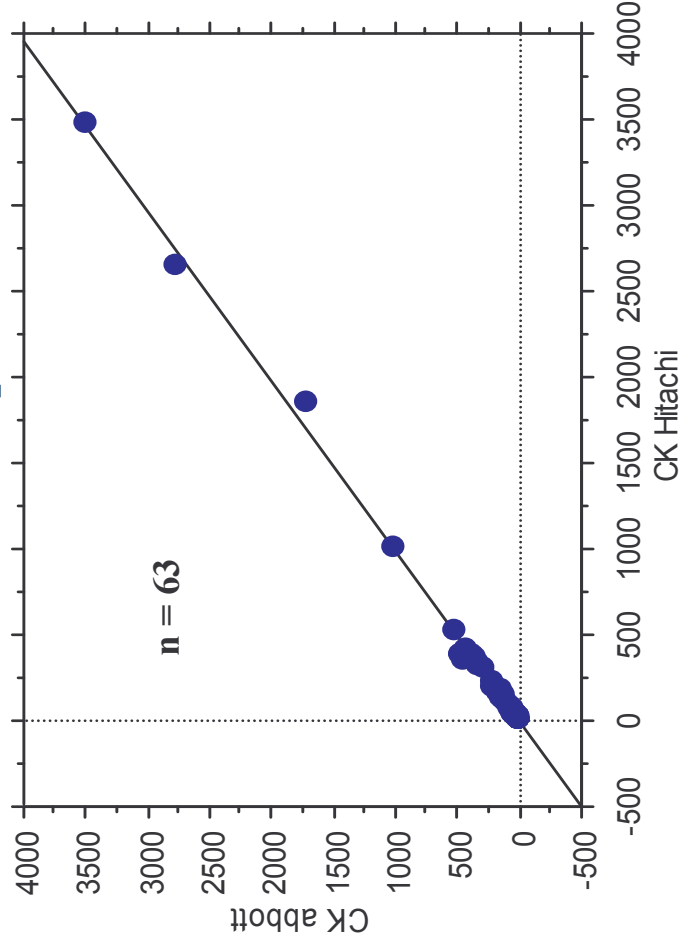
$$(y_i/x_i) = f(x_i)$$



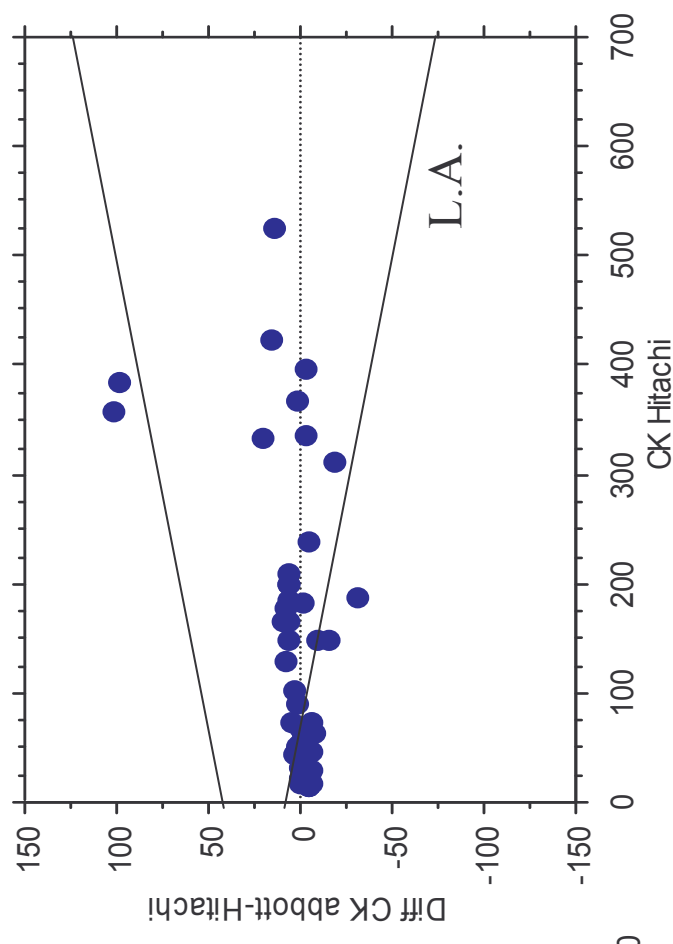
Graphe des rapports (y/x) entre les 2 méthodes en fonction de la concentration

Exemple de la CK

Droite de régression : technique évaluée vs technique reconnue



Graph des différences en fonction de la concentration



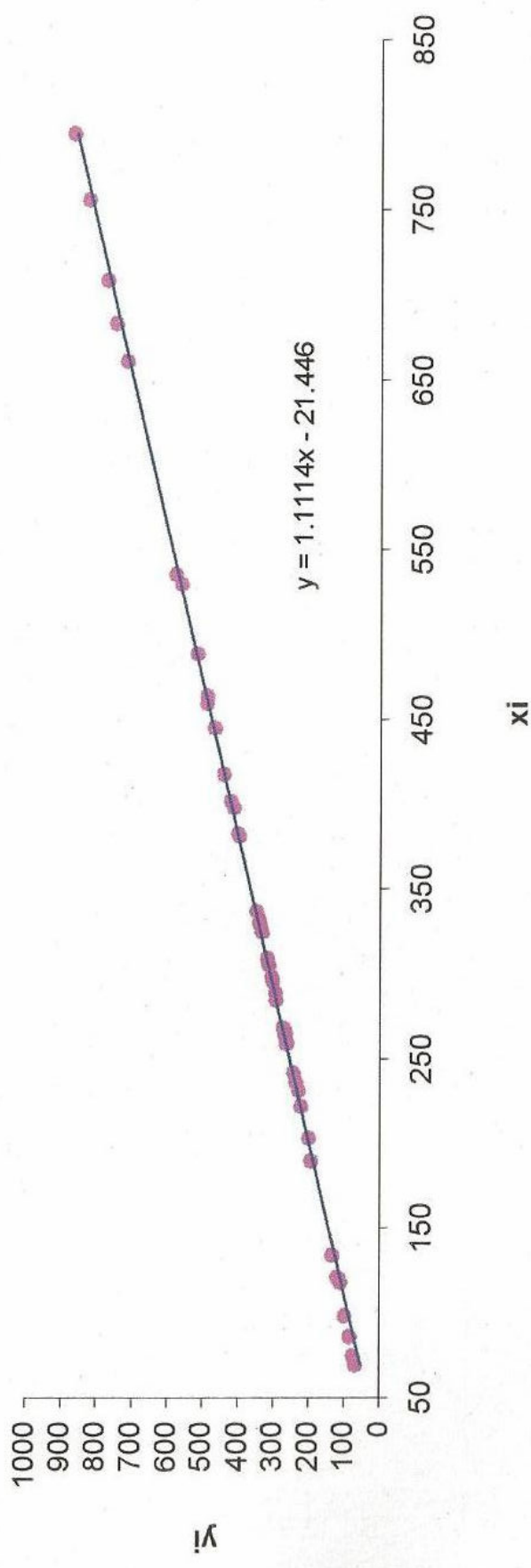
Noter le nombre de spécimens discordants, vérifier le résultat et rechercher l'origine de la discordance (aspect du sérum, interférence....)

Pour éviter les erreurs aléatoires dans le calcul de la droite de régression : utiliser des échantillons répartis sur tout le domaine physiopathologique

Comparaison de technique : droite de régression

Exemple de l'acide urique

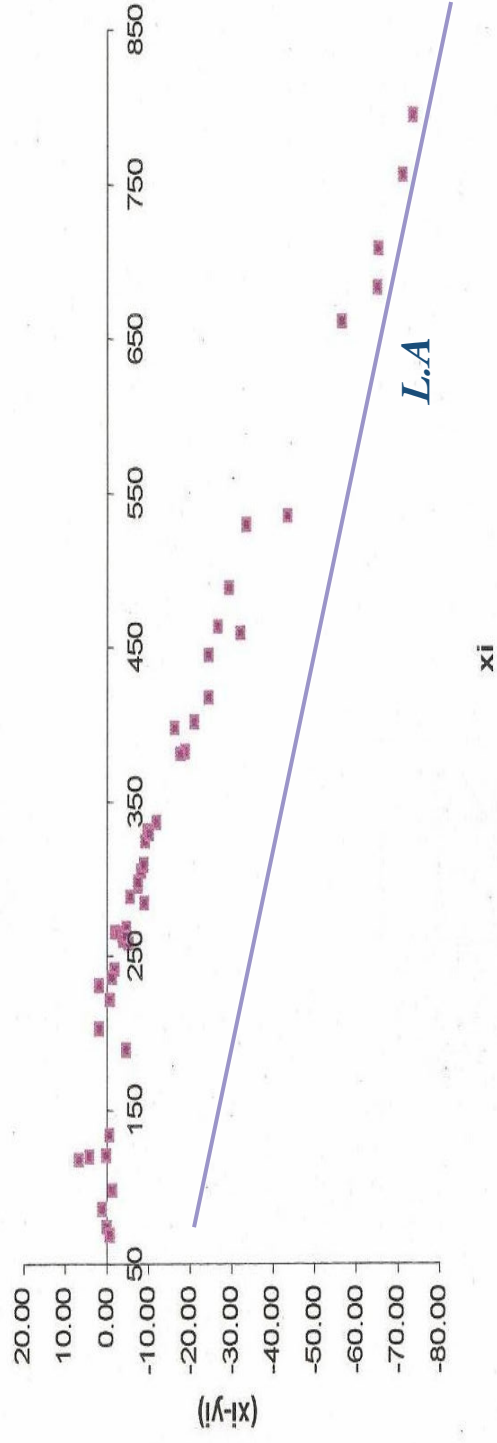
$y_i = f(x_i)$



Pente	1.1114
Origine	-21.446
R	0.99955

Exemple de l'acide urique

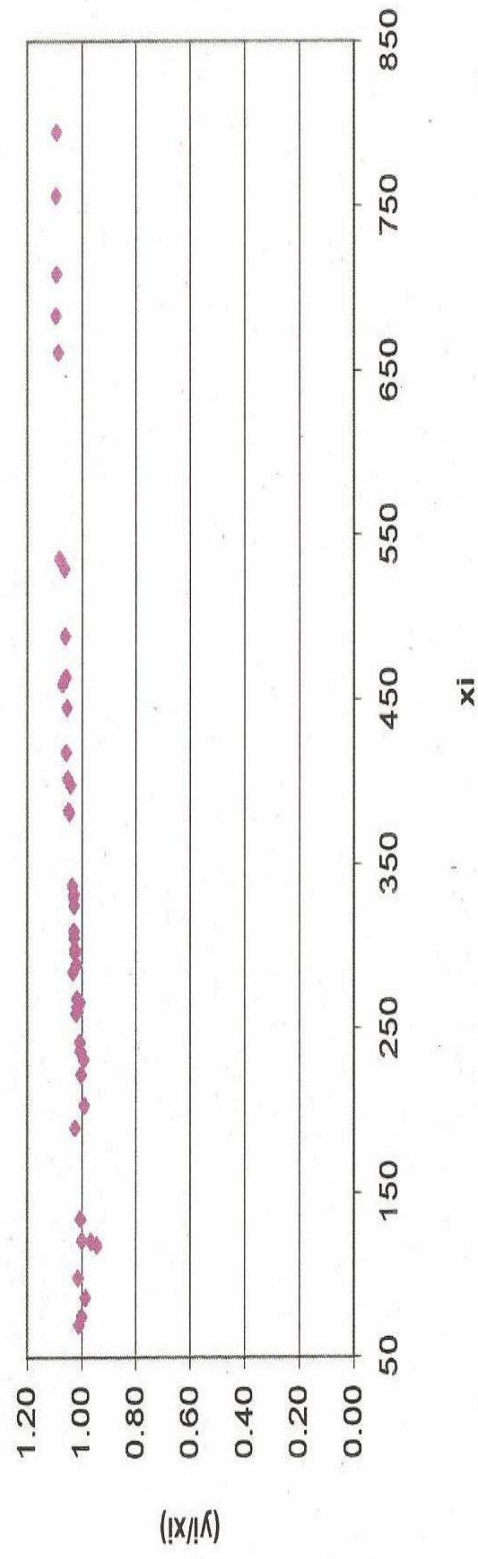
$$(x_i - y_i) = f(x_i)$$



Biais systématique proportionnel à la concentration entre les 2 méthodes.

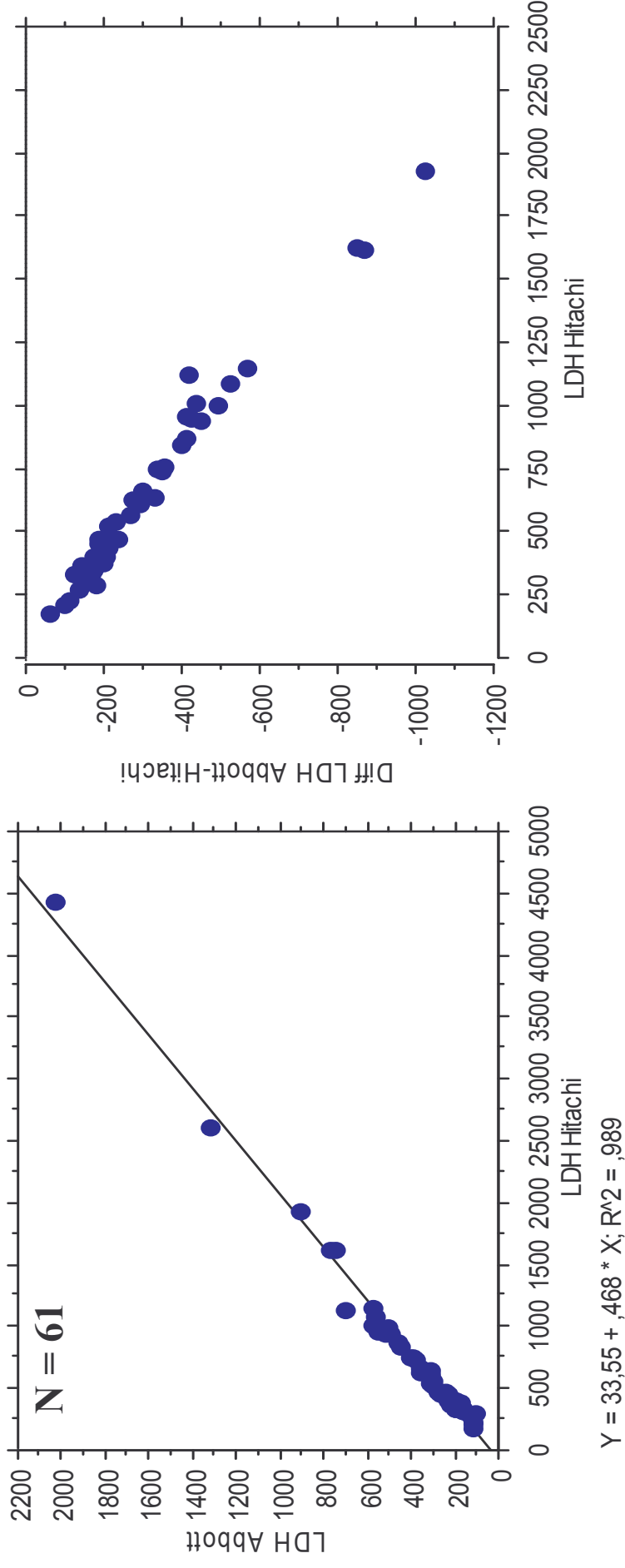
En rechercher la cause pour apporter une mesure corrective

$$(y_i/x_i) = f(x_i)$$



Exemple de la LDH

*Biais systématique proportionnel à la concentration :
impact sur les valeurs usuelles*



Nouvelles valeurs usuelles : 125 - 243 UI/l

Anciennes valeurs usuelles : 310 – 615 UI/l

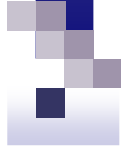


Comparaison de méthodes semi-quantitatives

Dosage des IgG toxoplasmose (effectif n = 40)

Utiliser en plus de la gamme d'échantillons couvrant le domaine physiopathologique, des échantillons « limite » par la méthode reconnue

Technique A (ancienne)	Technique B (nouvelle)	Positif	Négatif
Positif		20 (50%)	1 (2,5%)
Négatif		2 (5%)	17 (42,5%)



Evaluation des interférences

Objectif

Evaluer l'influence de substances

- endogènes : bilirubine, Hémoglobine (Hb), lipoprotéines
- exogènes : médicaments, toxiques

⇒ Résultats erronés par défaut ou par excès

Matériel

- Spécimen de concentration connue de l'analyte à doser (pool niveau moyen)
- Solution concentrée de la substance susceptible d'interférer (différentes dilutions $\leftrightarrow$ à différents niveaux de concentration de la substance)

Evaluation des interférences (2)

Mode opératoire

- a) Préparation des solutions d'hémoglobine, bilirubine et intralipide
 - *Hémolysat : préparer une solution d'hémoglobine à partir d'hématies lavées, hémolysées et diluées pour obtenir une $[Hb] = 5 \text{ g/dl}$*
 - *Solution de bilirubine # 5 mmol/l*
 - *Solution d'intralipide à 20%*
- b) Surcharge d'un pool de concentration connue avec des dilutions de l'hémolysat, la sol. de bilirubine ou d'intralipide (7 à 9 dilutions différentes)
- c) Effectuer le dosage en double de l'analyte à étudier sur chacune des dilutions et vérifier la concentration en Hb, en bilirubine, en triglycérides par dosage

Exemple : bilirubine	1	2	3	4	5	6	7
Pool (µl)	900	900	900	900	900	900	900
Sol. de bilirubine (µl)	0	5	10	20	50	75	100
NaCl 150 mmol/l (µl)	100	95	90	80	50	25	0
Surcharge de bilirubine (µmol/l)*	0	25	50	100	250	375	500

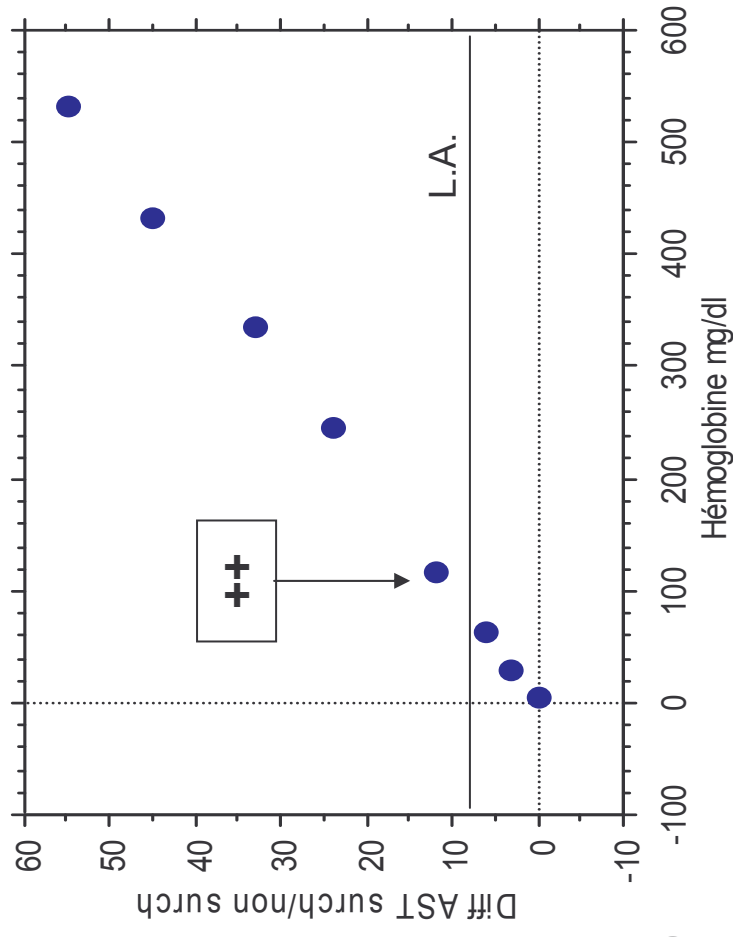
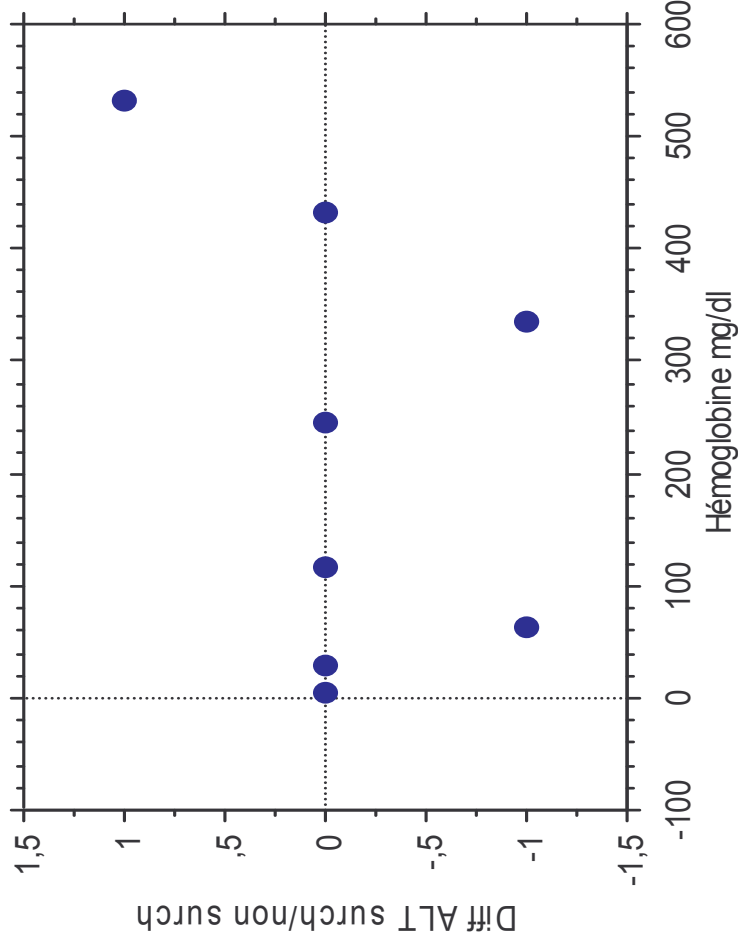
* À vérifier par dosage



Etude de l'influence de l'hémolyse

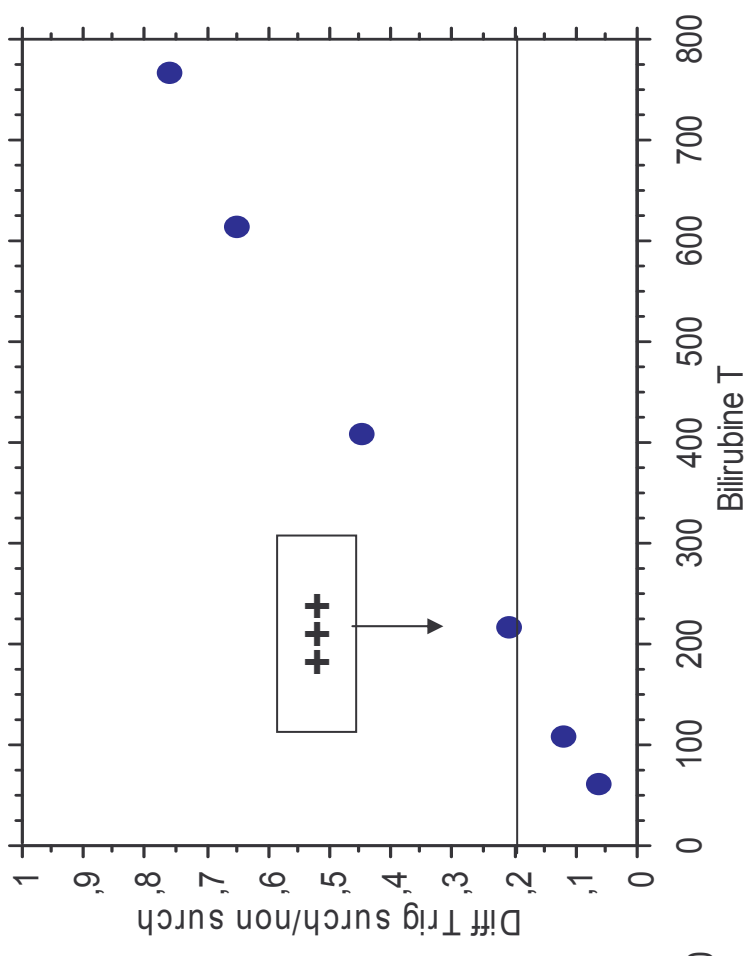
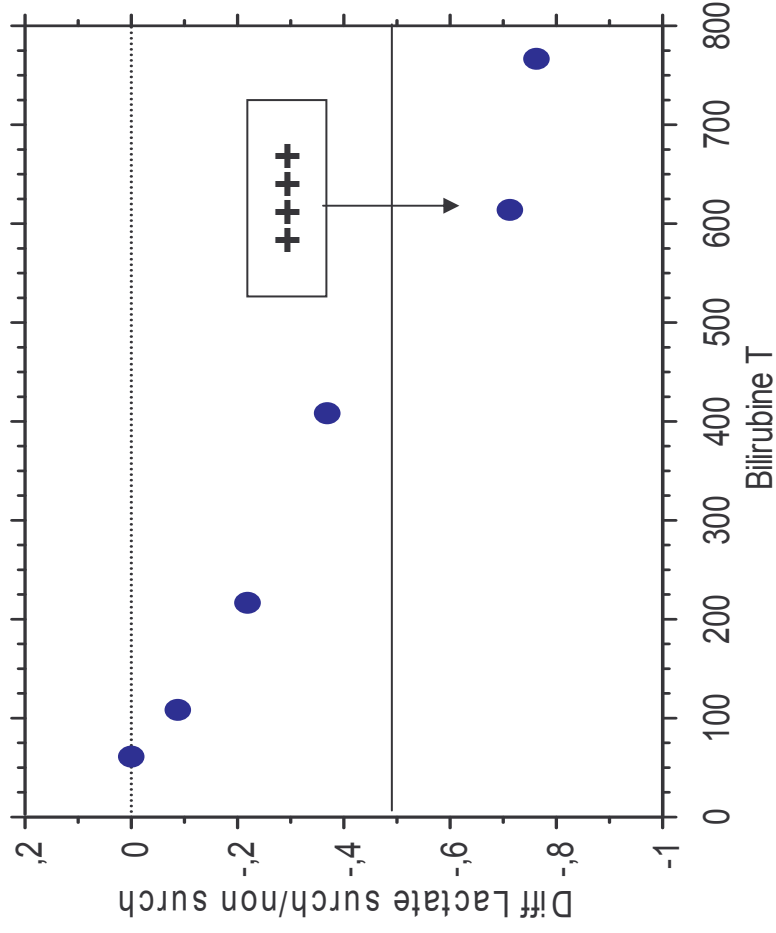
Pour chaque dilution : calculer la différence entre le résultat obtenu et celui observé pour le spécimen non surchargé.

Graphes : différences obtenues = f (concentration de la substance interférente)



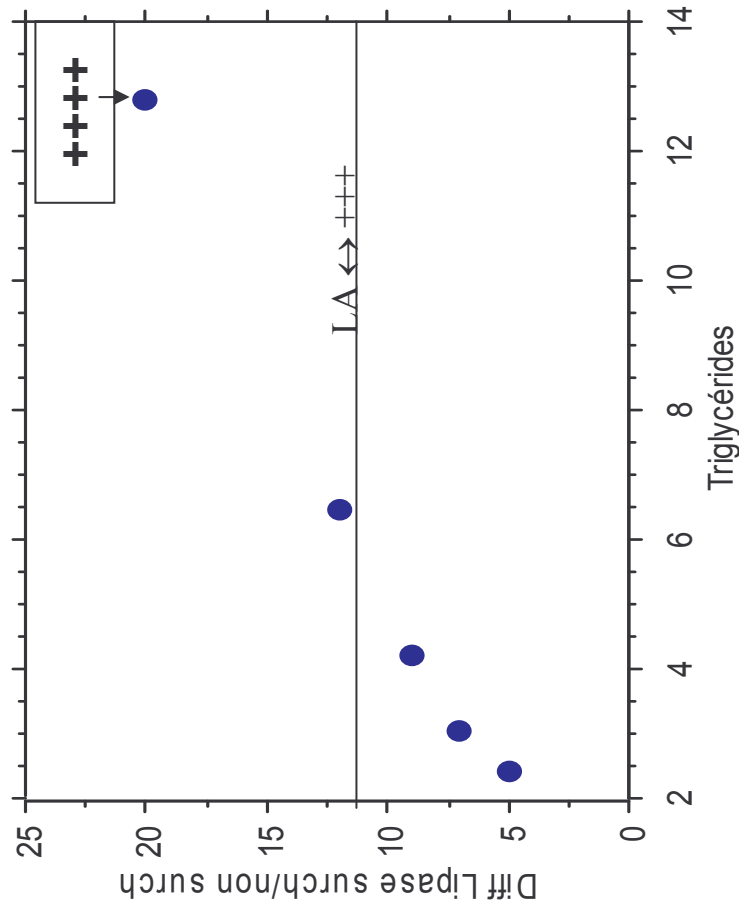
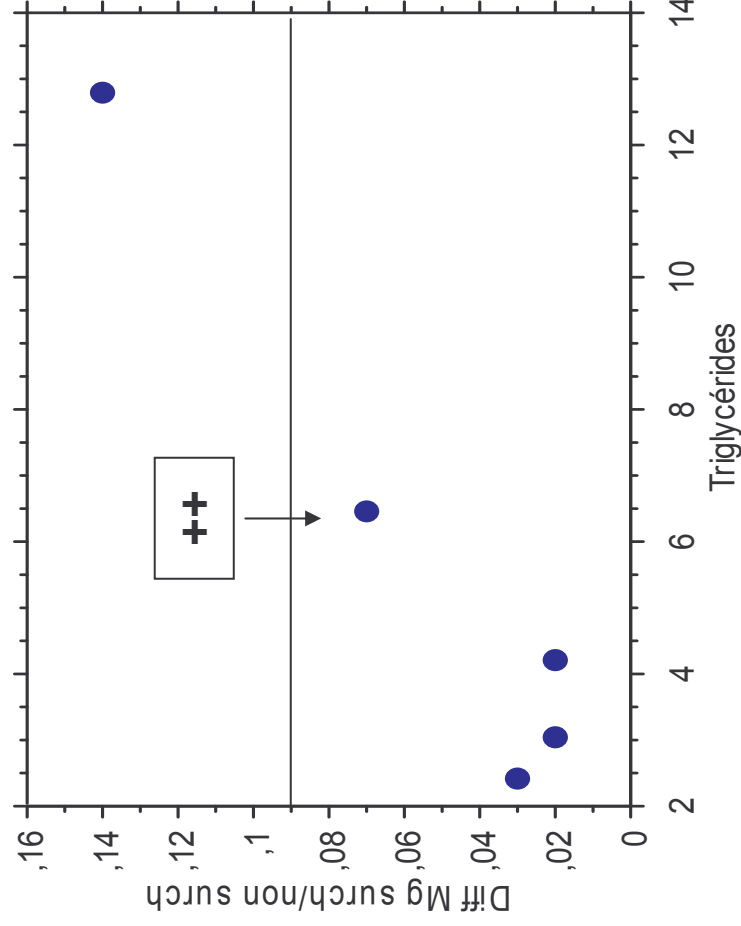


Etude de l'influence de la bilirubine

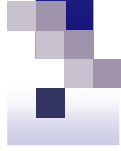




Etude de l'influence de la turbidité



Influence d'autres substances : la solution la plus concentrée doit correspondre à la concentration max observée en physiopathologie



Evaluation de la contamination d'un échantillon à l'autre

Objectif

Evaluer la contamination d'un échantillon de concentration élevée dans un échantillon de concentration faible (altération de l'exactitude)

A réaliser en fonction:

- Du mode opératoire du système analytique
- De l'examen : ceux pour lesquels il existe un différentiel de concentration important (Ex : β hCG)

Matériel

2 spécimens de matrice identique au spécimen à analyser

- Spécimen de conc. la plus élevée possible
- Spécimen de conc. la plus faible possible



Evaluation de la contamination d'un échantillon à l'autre (2)

Mode opératoire

3 séries

EEE BBB

EEE BBB

EEE BBB

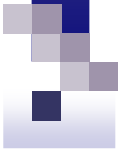
	Moyenne	Ecart-type
Susceptibles d'être contaminés B1	45	3.6
Non contaminés B3	24	1.2

Test t B1 vs B3 : significatif

Moyenne E = 150 000

$$\text{Pourcentage de contamination} = \frac{\text{Moy. B1} - \text{Moy. B3}}{\text{Moy. E} - \text{Moy. B3}} = 0,0014\%$$

% doit tendre vers 0, sinon déclencher des règles de réanalyse



Exactitude

Objectif

Qualité de l'accord entre la valeur observée et la valeur « acceptée »
de référence = valeur conventionnellement vraie

⇒ Somme des erreurs systématiques et aléatoires = Erreur totale
(justesse + fidélité)

Etude des résultats d'au moins 4 EEQ

Différence entre valeur observée et valeur cible comparée à la limite acceptable d'exactitude

A utiliser lorsque évaluation de la justesse et fidélité impossible



Conclusion - Mise en œuvre de la vérification/validation de méthode selon la norme NF/EN/ISO 15 189

Opérateur

Procédure de validation

Date d'évaluation

Date de mise en service

Ce processus de validation s'intègre dans une démarche d'évaluation globale de la qualité d'une technique d'analyse. L'intérêt d'un protocole rationnel et standardisé est de simplifier et d'optimiser le travail d'évaluation, d'uniformiser la présentation des données et de permettre un jugement comparatif des résultats obtenus par des évaluateurs ou des laboratoires différents.