

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

SH GTA 04

Révision 00 – Avril 2011



Section Santé Humaine

## SOMMAIRE

<b>1</b>	<b>OBJET DU DOCUMENT</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>DEFINITIONS ET REFERENCES</b> .....	<b>3</b>
2.1	Définitions .....	3
2.2	Abréviations .....	4
2.3	Références .....	4
<b>3</b>	<b>DOMAINE D'APPLICATION</b> .....	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>MODALITES D'APPLICATION</b> .....	<b>5</b>
<b>5</b>	<b>SYNTHESE DES MODIFICATIONS</b> .....	<b>5</b>
<b>6</b>	<b>QUELLES SONT LES EXIGENCES D'ACCREDITATION ?</b> .....	<b>6</b>
<b>7</b>	<b>PROCEDURE DE VERIFICATION / VALIDATION DE METHODE ET PROCEDURE DE GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE</b> .....	<b>8</b>
<b>8</b>	<b>QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE AU PREALABLE ?</b> .....	<b>9</b>
<b>9</b>	<b>VERIFICATION SUR SITE / VALIDATION DES PERFORMANCES D'UNE METHODE – (PORTEE FLEXIBLE A OU B)</b> .....	<b>10</b>
9.1	Vérification/validation d'une méthode d'analyse quantitative - Contenu du dossier ...	10
9.2	Vérification/validation d'une méthode d'analyse qualitative - Contenu du dossier.....	12
<b>10</b>	<b>MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE</b> .....	<b>14</b>
<b>11</b>	<b>ANNEXE I : DEFINITIONS DES CRITERES DE PERFORMANCES ET METHODES DE CALCUL</b> .....	<b>15</b>
11.1	Evaluation de la répétabilité .....	15
11.2	Evaluation de la fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) .....	16
11.3	Evaluation de la justesse .....	17
11.4	Exemple d'application – Approche de l'estimation de l'incertitude (cf. LAB GTA 14 dans l'attente de la parution du SH GTA 14) .....	17
11.5	Evaluation de la contamination .....	19
11.6	Evaluation de la limite de détection et de la limite de quantification.....	20
11.7	Evaluation de la limite supérieure de linéarité .....	20
11.8	Evaluation de la durée de stabilité des réactifs.....	20
11.9	Comparaison de méthodes .....	21
11.10	Vérification des intervalles de référence biologique .....	23
<b>12</b>	<b>ANNEXE II - TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS</b> .....	<b>24</b>
12.1	Terminologie .....	24
12.2	Autres définitions .....	28
<b>13</b>	<b>ANNEXE III – EXEMPLES DE FICHES TYPE QUANTITATIF ET QUALITATIF</b> .....	<b>32</b>
<b>14</b>	<b>ANNEXE IV - BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>41</b>

## 1 OBJET DU DOCUMENT

La norme NF EN ISO 15189 définit les exigences générales concernant la qualité et la compétence des laboratoires de biologie médicale (LBM).

Le présent guide technique explicite les exigences des paragraphes 5.3 & 5.5 de la norme NF EN ISO 15189 ainsi que celles de la norme NF EN ISO 22870 concernant la vérification sur site/validation des méthodes en Biologie Médicale, en se fondant sur les bonnes pratiques dans ce domaine et les performances communément observées et acceptées (état de l'art).

Les recommandations présentées dans ce guide, que le LBM est libre d'appliquer, sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le COFRAC pour répondre aux prescriptions et exigences de la norme NF EN ISO 15189, et des documents Cofrac SH REF 02 et SH REF 08. Toute autre démarche argumentée et documentée est cependant acceptable. Dans tous les cas, le laboratoire devra démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire les exigences de la norme.

Ce guide s'adresse :

- aux Laboratoires de Biologie Médicale (LBM) engagés dans une démarche d'accréditation COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189, complétée le cas échéant par la norme NF EN ISO 22870;
- aux évaluateurs du COFRAC, il constitue à ce titre une base d'harmonisation à leur usage ;
- aux membres des instances du COFRAC (Comité de Section, Commission Technique d'Accréditation Santé Humaine, Commission Interne d'Examen des Rapports pour l'Accréditation) ;
- aux industriels du DM-DIV pour comprendre et accompagner les laboratoires dans leur démarche.

## 2 DEFINITIONS ET REFERENCES

### 2.1 Définitions

Les termes indiqués en gras dans le corps du document sont définis dans le présent paragraphe ou dans l'ANNEXE IV du guide.

Ce guide technique d'aide à la vérification/validation des méthodes à l'usage des LBM dans le cadre de l'accréditation, fait appel à des termes techniques dont les principales définitions sont précisées dans le document SH REF 08 « Expression et évaluation des portées d'accréditation » et rappelées ci-dessous :

**Adopter une méthode (portée A)** : intégrer dans la portée d'accréditation une méthode reconnue (méthode normalisée, méthodes/équipements/réactifs « fournisseur » correspondant à l'utilisation des DM-DIV marqués CE, ...).

**Portée flexible standard (portée A)** : portée correspondant à une demande d'accréditation du LBM souhaitant avoir la possibilité, entre 2 visites d'évaluation du Cofrac, d'utiliser sous accréditation les révisions successives des méthodes reconnues et d'adopter des méthodes reconnues reposant sur des compétences techniques qu'il a précédemment démontrées.

**Adapter une méthode (portée B) :** modifier une méthode validée pour l'ajuster aux besoins du LBM/du client (patient/prescripteur).

**Portée flexible étendue (portée B) :** portée correspondant à une demande d'accréditation du LBM souhaitant avoir la possibilité, entre 2 visites d'évaluation du Cofrac, de mettre en œuvre sous accréditation, des méthodes qu'il a adaptées ou développées.

**Dispositif médical de diagnostic *in vitro* (DM-DIV) :** dispositif, utilisé seul ou en combinaison, désigné par le fabricant pour l'examen *in vitro* d'échantillons prélevés sur le corps humain uniquement ou principalement dans le but de fournir des informations à des fins de diagnostic, de surveillance ou de compatibilité incluant les réactifs, les étalons, les matériaux de contrôle, les réceptacles d'échantillons, les logiciels et les instruments ou appareillages associés ou autres articles...

**Validation** (NF EN ISO 9000) : Confirmation par des preuves tangibles que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue ont été satisfaites.

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

La validation des méthodes utilisées par le LBM en portée A est réduite à une vérification sur site pour s'assurer que les performances annoncées et souhaitées sont atteintes dans les conditions de travail du LBM. Dans le cas d'une méthode en portée B, le LBM devra effectuer une validation complète.

## 2.2 Abréviations

- AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
- CIQ : Contrôle Interne de Qualité
- CLHP : chromatographie liquide haute performance
- CV : Coefficient de variation
- DM-DIV : Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*
- EBMD : Examens de biologie médicale délocalisée
- EEQ : Evaluation Externe de la Qualité
- LBM : Laboratoire de Biologie Médicale
- MRC : Matériau de référence certifié
- SFBC : Société Française de Biologie Clinique (cf. Annexe IV)
- SMQ : Système de Management de la Qualité

## 2.3 Références

Les références sur lesquelles s'appuie ce guide se trouvent listées en annexe IV, "BIBLIOGRAPHIE".

### 3 DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique de la « validation » au sens large des méthodes en Biologie Médicale. Il est important de préciser que la grande majorité des LBM **adoptent** des méthodes/équipements/réactifs « fournisseur », correspondant à l'utilisation de DM-DIV marqués CE (**portée flexible standard A**). Dans ce cas, la "validation" correspond à une vérification des performances annoncées par le fabricant et souhaitées par le laboratoire du couple automate-réactif, lors de la mise en application (routine) dans le laboratoire. Cette vérification confirme au laboratoire la validité des résultats obtenus ("aptitude à l'emploi"), par rapport à ses propres besoins. Cette vérification est à prendre en termes de maîtrise du processus analytique (cf. SH REF 02, § 5.5.2), et ce **pour l'ensemble des examens de la portée**.

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

Ce document présente les recommandations pour chaque cas :

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

Seule la **phase analytique est envisagée**, en excluant la phase pré-analytique (notamment l'étude de la conservation de l'échantillon biologique). Cette phase pré-analytique bien qu'essentielle, n'est pas abordée dans le présent document. Toutefois, les laboratoires doivent la prendre en considération et mettre en place des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation et **a minima respecter les instructions des notices d'utilisation si elles sont spécifiques au fournisseur ou en valider les adaptations**.

### 4 MODALITES D'APPLICATION

Ce document est applicable à compter du 15 avril 2011.

Dans le domaine de la Biologie Médicale et au jour de son approbation, ce guide technique d'accréditation reflète l'état d'avancement des connaissances en termes de vérification/validation de méthodes.

### 5 SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS

Il s'agit de la première version du document; il porte l'indice de révision 00. Aucune marque de modification n'est indiquée.

## 6 QUELLES SONT LES EXIGENCES D'ACCREDITATION ?

Dans les normes NF EN ISO 15189 et 22870, la validation est abordée au niveau des § 5.3 et 5.5.

### NF EN ISO 15189 & 22870 § 5.3.2 :

Ce paragraphe indique qu'*"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.*

*La direction du laboratoire doit élaborer un programme de surveillance régulière permettant de démontrer l'adéquation de l'étalonnage et du fonctionnement des instruments, des réactifs, et des systèmes analytiques. Elle doit également instaurer un programme de maintenance préventive documenté et enregistré respectant, au minimum, les recommandations du fabricant."*

### NF EN ISO 15189 § 5.3.4 :

Ce paragraphe indique que le laboratoire doit conserver *"les enregistrements de la performance du matériel et la conformité aux spécifications et à l'utilisation"*.

### NF EN ISO 15189 § 5.5.2 :

*"Les méthodes et les procédures sélectionnées doivent être évaluées et donner des résultats satisfaisants avant d'être utilisées pour les analyses médicales. Une revue des procédures par le directeur<sup>1</sup> du laboratoire ou une personne désignée<sup>2</sup> doit être réalisée à l'origine à intervalles définis. Ces revues sont généralement effectuées une fois par an. Ces revues doivent être documentées."*

### NF EN ISO 15189 § 5.5.3:

*"Les performances et l'aptitude à l'emploi prévu de chaque nouvelle version des trousse de réactifs prêts à l'emploi présentant des modifications importantes en termes de réactifs ou de procédure doivent être vérifiées. Tout changement de la procédure doit être daté et faire l'objet d'une autorisation comme pour les autres procédures"*.

D'autre part, le Cofrac considère que, conformément au document SH REF 08 :

- les méthodes reconnues, (DM-DIV marqués CE ou méthodes « fournisseur »), sont a priori validées dans leur domaine d'application. Dans le cadre des normes NF EN ISO 15189 & 22870, le LBM doit, pour ses méthodes, **vérifier** qu'elles sont utilisées dans leur domaine d'application, qu'elles correspondent aux besoins de ses clients (patients/prescripteurs) et qu'elles sont maîtrisées au sein du laboratoire (« vérification de méthodes – portée A») (cf. SH REF 02, § 5.5.2).

- en revanche, le LBM doit caractériser les critères de qualité de la méthode et la valider (« validation de méthode-portée B ») dès lors qu'il ne s'agit pas d'une méthode reconnue ou que celle-ci est employée hors de son domaine d'application (modification de la prise d'essai ou de la matrice/milieu biologique, ...).

*Note* : La nécessité de la validation des méthodes s'inscrit aussi dans la mise en application de la directive européenne sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (directive européenne 98/79/CE du 27.10.1998) et de l'utilisation du marquage CE associé.

Cette directive indique dans l'annexe I, exigences essentielles générales (A), point 3: *"Les dispositifs doivent être conçus et fabriqués de manière qu'ils puissent être utilisés aux fins*

<sup>1</sup> Biologiste médical

<sup>2</sup> Personne du laboratoire sous la responsabilité du biologiste médical

prévues à l'article 1er, paragraphe 2, point b), comme spécifié par le fabricant compte-tenu de l'état de la technique généralement reconnu" ("état de l'art"). Cette validation est de la responsabilité du fabricant et n'entre pas dans le champ de ce document.

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 la méthode sont en principe déterminés par le 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 ces coffrets réactifs et ces 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<sup>3</sup>) qu'il s'est fixés, 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 (« habileté, dextérité ») de l'utilisateur (par ex : méthodes manuelles).

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.**

Il appartient au biologiste de s'appuyer sur la documentation technique du fournisseur (notices, fiches techniques, références bibliographiques, ...). Il doit évaluer et apprécier ces informations à la lueur de recommandations ou de textes réglementaires, des attentes du prescripteur, des critères de performance proposés par des sociétés savantes, ... **Ce travail d'expertise est la base du métier de biologiste médical.** La vérification/validation proprement dite est ensuite effectuée. Le champ et la profondeur de cette évaluation dépendent des circonstances et de chaque cas particulier. Elle doit être initiale, puis se continuer dans le temps (changement de lots de réactifs [si effet de lot connu], extensions analytiques, maintenance lourde,...). Dans certains cas, cette vérification est une simple confirmation, *a posteriori*, des performances d'une technique déjà en cours d'utilisation (par exemple dans le cas de LBM en démarche d'accréditation n'ayant pas procédé à une vérification/validation de méthode initialement à l'installation).

D'une manière générale, une méthode d'analyse présente plusieurs caractéristiques essentielles que le laboratoire se doit de connaître. **La connaissance de ces critères peut être acquise par la bibliographie** (si possible indépendante du fournisseur) **et/ou par l'expérimentation sur site.**

<sup>3</sup> Spécifications : correspondent aux limites d'acceptabilité ("seuils"), sont préalablement définies sur certains critères et doivent être remplies pour déclarer la méthode valide.

## 7 PROCEDURE DE VERIFICATION / VALIDATION DE METHODE ET PROCEDURE DE GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE

Pour respecter les exigences du § 5.5.2 de la norme NF EN ISO 15189 & 22870, le LBM rédigera une procédure générale de vérification/validation de méthode précisant sa démarche et les données expérimentales établies sur site dans le cas d'une portée de type A et/ou de type B.

De même, l'adoption de portées de type flexible, s'accompagne d'une procédure dite de "gestion de la portée flexible" (ou encore "gestion des changements techniques") listant l'ensemble des opérations à réaliser pour maîtriser le processus lors d'un changement de méthode ou de réactif ne faisant pas intervenir de compétence nouvelle. Le laboratoire doit mettre en place une procédure spécifique destinée à cadrer une portée A et/ou B et à maîtriser les changements de méthodes intégrant notamment la vérification/validation de méthodes, la formation et l'habilitation du personnel, la gestion des équipements, les contrôles qualités, ... Cette procédure décrit l'ensemble des étapes en partant du besoin initial du laboratoire (nouvel automate, évolution de méthodes,...) jusqu'à la mise à jour de la liste détaillée des examens et la communication au COFRAC avec les responsabilités associées à chacune des étapes (cf. document SH REF 08).

Cette procédure de gestion de la portée flexible est destinée à passer en revue les processus mis en jeu lors de toutes modifications tels que changement d'automates, modification de méthodes, ajouts d'examens, ... Elle peut se rapporter à la procédure de la validation de méthode et comprend notamment les preuves de la maîtrise des items suivants :

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

## 8 QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE AU PREALABLE ?

Afin de réaliser au mieux la vérification/validation de ses méthodes, le LBM analyse et définit pour chaque examen la nature des opérations à mettre en œuvre en fonction :

- du **type de flexibilité** :
  - o Méthodes « fournisseur » (portée flexible standard A), dites adoptées, avec uniquement une vérification de performances sur site,
  - o Méthodes adaptées ou développées en interne (portée flexible étendue B), avec une validation de méthode.
- du **type de méthodes** (quantitatif ou qualitatif).

Schématiquement, on distingue deux types de méthodes d'examen :

### Les méthodes de type quantitatif :

Elles fournissent un résultat chiffré, sur une échelle continue à partir de la mesure d'un signal en relation directe avec une quantité (analyte, molécule, substance, cellule ou organisme, ...) ou une activité donnée de l'analyte (enzymes). Sont également assimilés au type quantitatif, les examens fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'un signal continu quantifiable (absorbance par exemple), avec interprétation par rapport à un seuil (examens réalisés en technique EIA ou RIA par exemple).

### Les méthodes de type qualitatif :

Le résultat de ce type de méthode n'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte (cellule ou organisme), mais seulement 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 positif et négatif notamment

#### Exemples :

- La plupart des examens de biochimie, d'hormonologie, d'hémocytométrie, et d'hémostase sont des examens réalisés par des méthodes de type quantitatif. De même en immunologie par exemple le dosage des immunoglobulines, des IgE totales, des fractions du complément, ou des anticorps (Ac anti-HBs, etc.) et certains examens de sérologies virales (hépatites, HIV et HTLV, CMV, etc.), parasitaires (toxoplasmose, etc.) sont des examens assimilables à des méthodes quantitatives,
- Les examens faisant appel à des principes d'immuno chromatographie (sérologies unitaires par exemple), de Blot et assimilés (Western-Blot, RIBA, etc.), d'agglutination de latex, de particules sensibilisées ou d'hématies (VDRL, TPHA, Facteur rhumatoïde, RAI, groupage sanguin, etc.), d'Immunoélectrophorèse, ou d'Immunofluorescence (auto-anticorps, sérologies,) sont typiquement réalisés par des méthodes de type qualitatif, tout comme les examens d'identification de germes en microbiologie ou de cellules en hématocytologie.

## 9 VERIFICATION SUR SITE / VALIDATION DES PERFORMANCES D'UNE METHODE – (PORTEE FLEXIBLE A OU B)

Cette vérification comprend 3 étapes :

- **L'étude de documents bibliographiques,**
- **La détermination des critères de performance pertinents à établir et le choix des limites d'acceptabilité correspondantes pour la méthode,**
- **La réalisation des vérifications expérimentales selon la procédure établie par le LBM.**

Les limites d'acceptabilité peuvent reposer sur différentes approches : l'intervalle des valeurs de référence (prise en compte de la variation biologique inter-individuelle et de la variation analytique), les variations biologiques inter-individuelles et intra-individuelles, l'opinion des cliniciens et l'état de l'art (établi à partir des résultats de contrôle interne de qualité et/ou des évaluations externes de la qualité).

Exemple : un des critères de performance (paramètres) et limites acceptables sont par exemple en Biochimie, les CV de fidélité intermédiaire et leurs valeurs limites associées, pouvant provenir des recommandations de la SFBC par exemple, pour des examens quantitatifs (cf. Annexe IV – Bibliographie).

Il est fondamental de souligner que :

- Le choix des critères de performances (fidélité, justesse, linéarité, ...) et limites d'acceptabilité (seuils) pour une méthode donnée doit se faire **PREALABLEMENT** à l'étude expérimentale. Il doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. Il peut s'appuyer sur des recommandations de sociétés savantes, de groupes de travail de conférences de consensus, de publications scientifiques, sur des valeurs limites utilisées pour la gestion du CIQ, sur des résultats de campagnes de comparaisons inter laboratoire, ...et sera confronté aux données du fournisseur.

Ce choix est du ressort du biologiste médical, mais il appliquera les recommandations fournies par l'HAS et les consensus internationaux (ex : HbA<sub>1c</sub>, recommandations de l'HAS : CV interlaboratoire < 5% et CV intra-laboratoire < 3 %).

Exemple : Pour le dosage des triglycérides, **le laboratoire retient les limites acceptables fournies par la SFBC, soit 3,6 % de répétabilité pour un niveau de 1,5 mmol/l** ; la notice du fournisseur indique un CV de répétabilité de 3,0 %. Le laboratoire mène une étude de répétabilité et teste un échantillon sur son analyseur 30 fois, par exemple, et obtient, après compilation de ses données, un CV de 3,4 %. **Il conclut que la répétabilité de la méthode est acceptable.**

- Les limites d'acceptabilité choisies doivent être adaptées et notifiées pour chacun des examens (analytes, molécules, cellules, micro-organismes, ...) testés et pour chacun des niveaux ; elles doivent être en adéquation avec les besoins cliniques.

### 9.1 Vérification/validation d'une méthode d'analyse quantitative - Contenu du dossier

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.

9.1.1 Vérification/validation initiale d'une méthode quantitative

Le dossier de vérification/validation peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement référencés et accessibles. Le LBM pourra s'appuyer sur la **Fiche Type QUANTITATIF** (Portée A/B ; **SH FORM 43**) présenté en ANNEXE III du présent guide.

Ce dossier apporte les éléments de vérification suivants, par recherche bibliographique et/ou par vérification sur site :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU A CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site Portée de type A	Validation Portée de type B
<b>Spécificité analytique</b>	Oui	Non	Oui
<b>Fidélité</b> (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Oui	Oui	Oui
<b>Justesse</b> (approche de la)	Oui	Oui, dès que possible	Oui
<b>Intervalle de mesure</b> (Limite de quantification et limites de linéarité)	Oui	A vérifier si nécessaire <sup>4</sup>	Oui
<b>Incertitudes/facteurs de variabilité</b> et évaluation	Oui	Oui	Oui
<b>Contamination</b> entre échantillons (s'il y a lieu)	Oui	Oui, pour les paramètres sensibles	Oui
<b>Stabilité réactifs</b> (après ouverture, embarqués)	Oui	Non	Oui
<b>Robustesse</b>	Non	Non	si besoin
<b>Interférences</b> (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments)	Oui	à vérifier si nécessaire <sup>5</sup>	Oui
<b>Intervalle de référence</b> « 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) <sup>6</sup>	Oui (si existe)	Oui (si possible)	Oui
Analyse des discordances <sup>7</sup>	Oui	Oui	Oui
<b>Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude<sup>8</sup> de la méthode ou du système analytique.</b>			

<sup>4</sup> Pour des techniques avec une zone étendue de valeurs possibles.

<sup>5</sup> Pour confirmer ou en cas d'interférences non décrites.

<sup>6</sup> Appareils en miroir : privilégier les appareils utilisant des techniques de principes analytiques identiques sinon il est possible d'utiliser des codes examens différents pour le même paramètre ou d'utiliser un facteur de corrections (pour les techniques linéaires) **de manière transitoire**. Le laboratoire doit avoir une stratégie d'uniformisation des techniques pour un même paramètre.

<sup>7</sup> Pour les examens fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (absorbance par exemple), avec un effet de seuil (étude des faux positifs et des faux négatifs par exemple).

<sup>8</sup> En cas de dépassement des spécifications choisies a priori par le laboratoire, celui-ci justifie l'acceptation des écarts pour pouvoir conclure à l'aptitude de la méthode et l'enregistre.

### 9.1.2 Cas de la validation d'une méthode quantitative en portée Flexible B

Dans le cas d'une méthode en portée B, le dossier de validation comprendra les critères de performances établis dans le cadre d'une portée A auxquels peuvent s'ajouter **après une étude de risques** notamment les évaluations :

- de la stabilité des réactifs,
- de la spécificité analytique,
- de la robustesse.

Concernant la robustesse, un certain nombre de paramètres peut avoir une influence comme par exemple :

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

### 9.1.3 Confirmation des performances en pratique quotidienne

Pour maîtriser pleinement une méthode, l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles internes de qualité (CIQ) et d'évaluation externes de la qualité (EEQ) sont indispensables. Leur exploitation statistique permet de vérifier et de confirmer les éléments suivants :

- **fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)**<sup>9</sup>, doit également être périodiquement vérifiée, en particulier pour les valeurs proches du seuil décisionnel ("cut-off"). En raison des variations de fabrication inter-lots des réactifs, cette information n'est probablement pertinente que pour un seul lot, et devrait donc être réévaluée au fil de l'utilisation successive des différents lots,
- **justesse et inexactitude**, ou du moins en faire une approche<sup>10</sup>,
- **vérification (et l'adaptation éventuelle) des valeurs de références** de la méthode pour la population du laboratoire.

## 9.2 Vérification/validation d'une méthode d'analyse qualitative - Contenu du dossier

### 9.2.1 Vérification/validation initiale d'une méthode qualitative

Il est souvent très difficile pour les laboratoires d'obtenir des échantillons positifs (ou négatifs) en nombre suffisant pour vérifier la spécificité et la sensibilité diagnostique d'une méthode en raison d'un recrutement parfois insuffisant (techniques de RAI, de groupage, de sérologies, etc.).

<sup>9</sup> La fidélité intermédiaire est le terme normatif utilisé, correspondant au terme "reproductibilité intra laboratoire" employé couramment en Biologie Médicale. En toute rigueur la notion de reproductibilité s'applique à plusieurs laboratoires (cf. ISO 5725).

<sup>10</sup> L'exactitude est établie à partir d'étalon primaire et/ou de matériaux de référence certifiés (MRC). En Biologie Médicale, les matériaux de références et étalons primaires sont peu nombreux et utilisés par les fabricants pour le raccordement de leurs étalons. A ce jour, en pratique, les LBM évaluent l'exactitude soit à partir d'étalons des fabricants soit à partir des données des Evaluations Externes de la Qualité (EEQ). La justesse est établie à l'aide de comparaisons interlaboratoires de données de Contrôle Interne de Qualité (CIQ externalisé).

Dans le cadre de cette approche de la justesse, il convient que le laboratoire enregistre la traçabilité des raccordements des étalons utilisés pour chaque technique, quand cela est possible.

La vérification bibliographique critique prend donc ici toute son importance. Inversement, la vérification expérimentale sur site est plus réduite, et s'appuie fortement sur l'étude des performances des Evaluations Externes de la Qualité, sur des études de risques (méthode des 5M), ou encore sur la qualification des opérateurs.

Le dossier de validation/vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement référencés et accessibles. Le LBM pourra s'appuyer sur la **Fiche Type QUALITATIF** (Portée A/B ; **SH FORM 44**) présentée en ANNEXE III.

Ce dossier apporte les éléments de vérifications suivants :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU A CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site Portée de type A	Validation Portée de type B
<b>Spécificité analytique</b>	Oui	Non	Oui
<b>Sensibilité diagnostique</b>	Oui	Non	Oui
<b>Contamination</b> entre échantillons (s'il y a lieu)	Oui	Oui	Oui
<b>Stabilité des réactifs</b> (après ouverture, embarqués)	Oui	Non	Oui
<b>Robustesse</b>	Oui	Non	Oui
Comparaison avec méthode de référence	Oui	Non	Oui (si existe)
Comparaison avec méthode déjà utilisée au laboratoire <sup>11</sup>	Oui (si existe)	Oui (si possible)	Oui
<b>Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude<sup>12</sup> de la méthode ou du système analytique.</b>			

L'évaluation des critères de spécificité et sensibilité est à réaliser en utilisant par exemple des échantillons de sérum (sérothèque) ou des Contrôles Internes de Qualité de caractéristiques connues.

### 9.2.2 Cas de la validation d'une méthode qualitative en portée Flexible B

**La spécificité analytique et la sensibilité diagnostique** sont les paramètres essentiels à maîtriser. Leur surveillance passe :

- Par la comparaison des résultats obtenus avec d'autres méthodes complémentaires ou des techniques de référence mises en œuvre pour vérifier les premiers résultats.
- Par l'étude des CIQ et EEQ (performances du laboratoire, comparaison avec les autres méthodes);

La **stabilité** des réactifs ainsi que la **robustesse** sont également des paramètres à évaluer (cf. annexe I et IV). Les facteurs d'influence devront être étudiés (incubation, pH, position sur un support, etc.)

<sup>11</sup> Avec des échantillons de contrôle ou des échantillons de sérothèque ou d'un autre utilisateur de la même technique.

<sup>12</sup> En cas de dépassement des spécifications choisies *a priori* par le laboratoire, celui-ci justifie l'acceptation des écarts pour pouvoir conclure à l'aptitude de la méthode et l'enregistre.

### 9.2.3 Confirmation des performances en pratique quotidienne

Pour maîtriser une technique, l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles internes de qualité (CIQ) et d'évaluations externes de qualité (EEQ) sont indispensables. Le laboratoire pourra s'appuyer sur le Guide Technique abordant la gestion des contrôles qualité (Cf. LAB GTA 06 dans l'attente de la parution du SH GTA 06). La spécificité et la sensibilité diagnostique sont les paramètres essentiels à maîtriser.

## 10 MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE

L'élaboration de documents de vérification/validation est importante car si beaucoup d'informations et résultats sont collectés, ceux-ci doivent faire l'objet d'une exploitation statistique dans un dossier cohérent et clair, avec une acceptation formelle par un responsable désigné de la validité opérationnelle de la technique, c'est-à-dire une décision ou déclaration quant à l'aptitude de la méthode. Ce dossier sera conservé pendant toute la durée d'utilisation de la méthode et sera archivé conformément aux exigences d'accréditation (cf. SH REF 02, § 4.13). Le laboratoire peut présenter ses dossiers selon le schéma suivant, décrit dans sa procédure de vérification/validation de méthode, et utiliser les formulaires disponibles sur le site du Cofrac :

- Présentation de la technique, de l'appareillage et du mode opératoire, domaine d'application et but de la vérification/validation de méthode,
- Détermination des critères de performances (paramètres) à vérifier (cf. chapitre 11),
- Détermination des spécifications ou limites acceptables (objectifs à atteindre) de ces critères (cf. chapitre 11),
- Vérification bibliographique,
- Plan d'expérience et mise en œuvre expérimentale dans le laboratoire (cf. chapitre 13, Exemples méthodologiques),
- Compilation et traitement statistique des données obtenues,
- **Conclusion et décision** quant à la validation opérationnelle de la technique, au regard des spécifications (limites acceptables) initialement fixées.

## 11 ANNEXE I : DEFINITIONS DES CRITERES DE PERFORMANCES ET METHODES DE CALCUL

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

- Répétabilité,
- Fidélité intermédiaire au laboratoire (Reproductibilité intra-laboratoire),
- Justesse,
- Calcul d'incertitudes,
- Contamination inter-échantillons et inter-réactifs,
- Limite de détection, limite de quantification,
- Limites de linéarité,
- Stabilité des réactifs,
- Comparaison de méthodes,
- Vérification des intervalles de référence, ...

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

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

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

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

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

### 11.1 Evaluation de la répétabilité

L'essai de répétabilité consiste à analyser un même **échantillon dans les conditions suivantes** : même opérateur, même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage dans un délai le plus court possible. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (instrument/réactif) pour le paramètre concerné.

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

En pratique, Il est recommandé d'utiliser au minimum 2 niveaux de concentration avec si possible un niveau proche de la zone décisionnelle.

Ces niveaux sont choisis en fonction des valeurs physiopathologiques. Le nombre de détermination dépend de la cadence de l'analyseur à valider, du coût des réactifs, ... L'effectif idéal est de 30 pour une interprétation statistique optimale. Un nombre d'essais inférieur devra être argumenté en fonction de critères pertinents (coûts des analyses, durée d'analyse, ...). La valeur statistique des résultats obtenus sera d'autant plus réduite que ces effectifs seront faibles.

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

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

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

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

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

## 11.2 Evaluation de la fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)

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,...Classiquement, la fidélité intermédiaire est évaluée à l'aide des coefficients de variation calculés à partir des résultats des CIQ. L'essai est réalisé au cours de séries successives, en général 1 à 2 par jour, d'échantillons de Contrôle Interne de Qualité (CIQ) quotidiens.

La fidélité intermédiaire est établie sur au moins 15 jours avec 30 déterminations et à deux niveaux minimum. Une autre stratégie pourra être employée, mais justifiée par le laboratoire sur le plan statistique.

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

Note : la répétabilité et la fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) apparaissent donc comme les 2 évaluations de la fidélité, au sein du laboratoire. Cela dépend des conditions spécifiées que l'on fait varier. Des résultats d'évaluations proches de ces 2 niveaux de fidélité constituent une manifestation de la robustesse de la méthode.

### 11.3 Evaluation de la justesse

En biologie médicale, il existe peu, de matériaux de référence certifiés; il est donc difficile de parler *stricto sensu* de "valeur vraie" et par là-même de justesse.

Une étude de justesse nécessite la comparaison de la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible. L'écart observé correspond au biais. Le biais ne peut être établi qu'à l'aide de l'externalisation des CIQ. En absence d'externalisation des CIQ, le laboratoire établit l'inexactitude de sa méthode en comparant les valeurs obtenues sur des échantillons d'EEQ aux valeurs cibles. La valeur cible retenue est la moyenne de l'ensemble des participants si les seuils de décision pour le paramètre concerné sont standardisés (HAS, consensus, etc.), sinon la valeur cible retenue est la moyenne des résultats obtenus avec la même méthode (groupe de pairs).

La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire), établie sur des échantillons de CIQ, à la valeur cible attendue, assimilée à la valeur "vraie" (v) de l'échantillon testé.

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

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

En l'absence de CIQ externalisé, l'inexactitude obtenue à partir des résultats des EEQ permettra une approche de l'écart par rapport à la valeur cible.

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

x : valeur trouvée pour l'EEQ

v : valeur cible

L'évaluation de l'inexactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'échantillons d'EEQ est élevé.

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

### 11.4 Exemple d'application – Approche de l'estimation de l'incertitude (cf. LAB GTA 14 dans l'attente de la parution du SH GTA 14)

Cette approche du calcul d'incertitude de mesure est une exigence des normes NF EN ISO 15189 & 22870 abordée notamment dans le paragraphe traitant de la validation, § 5.5.3 (point q) mais également dans le § 5.6.2 où il est indiqué : "*Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans le cas où cela est pertinent et possible. Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure l'échantillonnage, la préparation des échantillons, la sélection des aliquotes d'échantillon, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée, l'équipement utilisé, les conditions expérimentales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateurs.*"

Le laboratoire doit pouvoir mettre à disposition du prescripteur, en cas de besoin, une approche dans l'évaluation des incertitudes de mesure (cf. § 5.8.3 de la norme).

Les données de vérification/validation, et en particulier celles relatives à la fidélité et à la justesse, permettent une approche de l'estimation de l'incertitude associée au résultat de l'examen. En effet, la caractérisation des paramètres de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) d'une part, et de justesse (biais) d'autre part, peuvent être considérés comme deux composantes de l'incertitude de mesure (regroupant les principaux facteurs de variation). On peut y associer une composante d'étalonnage, ou d'autres composantes ; de nombreuses méthodes de calcul sont proposées dans la littérature.

Un exemple simplifié de détermination de l'incertitude est proposé ci-dessous, pour plus de détails se reporter au guide technique COFRAC traitant du thème des incertitudes (SH GTA 14) et présentant les différents moyens de calcul.

Ainsi, si  $u_1$  est la composante d'incertitude due à la fidélité (écart-type de fidélité intermédiaire ou reproductibilité intra-laboratoire) :

$$u_1 = s_{\text{repro}}$$

La composante d'incertitude due à la justesse,  $u_2$ , peut être donnée par la relation :

$$u_2 = \text{biais}/\sqrt{3} \quad (\text{Loi rectangle})$$

En l'absence de matériaux de référence certifiés, *i.e.* d'"étalon", de valeur "vraie" connue (avec une incertitude associée,  $u_{\text{ref}}$ ), le laboratoire peut utiliser pour estimer la composante d'incertitude due à la justesse (biais), les données du CIQ externalisé ou des EEQ.

La somme quadratique des deux composantes (fidélité et justesse : permet une estimation de l'incertitude combinée ( $u_c$ )).

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$$

Ces composantes d'incertitudes, combinées le cas échéant à celle du matériau de référence ( $u_{\text{ref}}$ ), à celles de l'étalonnage ( $u_{\text{ét}}$ ) et à d'autres facteurs de variabilité propres à chaque méthode ( $u_v$ ), permettent de déterminer l'incertitude globale, *i.e.* l'incertitude combinée ( $u_c$ ), selon la relation issue de la somme quadratique des composantes d'incertitude,

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_{\text{ref}}^2 + u_{\text{ét}}^2 + \sum u_v^2}$$

Enfin, l'incertitude élargie  $U$  est alors conventionnellement calculée,

$U = 2.u_c$  (pour indiquer que l'intervalle compris entre la valeur mesurée +/-  $U$  contiendra conventionnellement la valeur "vraie" à 95 %, dans le cas d'une distribution gaussienne)

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

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

## 11.5 Evaluation de la contamination

Des phénomènes de contamination peuvent être observés lors de l'utilisation de systèmes analytiques. Ils peuvent affecter les échantillons à analyser (contamination inter échantillons) ou les réactifs (contamination inter-réactifs).

### - Contamination inter échantillons:

- Cette étude de contamination inter-échantillon est à mener pour tous les systèmes automatisés,
- Elle porte surtout sur les paramètres réputés sensibles à ce genre d'influence ( $\beta$ -HCG, Antigène HBs [l'antigène HBs est aussi souvent déterminé à l'aide d'une technique qualitative assimilable à une technique quantitative], etc.).
- Cette étude est à répéter en cas de doute sur le fonctionnement correct du système automatisé, et en particulier du système de lavage et/ou de décontamination.

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

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

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

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

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

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

### - Contamination inter réactifs:

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

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

Après rinçage de l'appareil, l'activité de la LDH est mesurée n fois (par ex n=10), en série sur un échantillon de sérum. La valeur moyenne de la LDH (évaluée en série) est calculée.

Dans une deuxième étape l'activité de la LDH est établie sur le même sérum mais en alternance (ALAT, LDH, [n fois]). La valeur moyenne de la LDH (évaluée en alternance avec ALAT) est calculée. La différence statistiquement significative entre les 2 moyennes est établie à l'aide d'un test "t", mettant en évidence une contamination inter-réactifs.

## 11.6 Evaluation de la limite de détection et de la limite de quantification

Limite de détection : Il s'agit du plus petit signal exprimé en quantité ou en concentration qui peut être distingué avec une probabilité donnée d'un blanc de réaction réalisé dans les mêmes conditions. C'est la quantité minimale détectable pour laquelle la réponse (en signal mesuré) peut être distinguée avec une probabilité donnée d'un blanc de réaction. (En chromatographie, la limite de détection peut être déterminée comme étant égale au triple de l'écart-type obtenu à partir du signal correspondant à la ligne de base mesuré 10 fois).

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

Pour l'estimer, on peut effectuer 30 mesures répétées des blancs (sérum dépourvu de la substance à doser, "calibrateur" zéro, diluant) dans une même série, et on calcule la moyenne obtenue ( $m_b$ ) et l'écart-type ( $s_b$ ) exprimé en concentration de ces 30 mesures.

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

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

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

Limite de quantification : La limite de quantification correspond à la plus petite valeur mesurée exprimée en concentration, rendue avec un niveau de confiance acceptable et d'incertitude connue.

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

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

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

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

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

## 11.7 Evaluation de la limite supérieure de linéarité

Après la dilution d'un échantillon de concentration très élevée, les résultats obtenus permettront de vérifier la linéarité entre les dilutions effectuées et les concentrations calculées (s'assurer de l'adéquation du diluant nécessaire et des pipettes utilisées). La limite supérieure de linéarité et la limite de quantification permettent de définir le domaine de mesure de la méthode.

## 11.8 Evaluation de la durée de stabilité des réactifs

Dans le cadre d'une validation de méthode (portée B), une évaluation de la stabilité des réactifs est à réaliser.

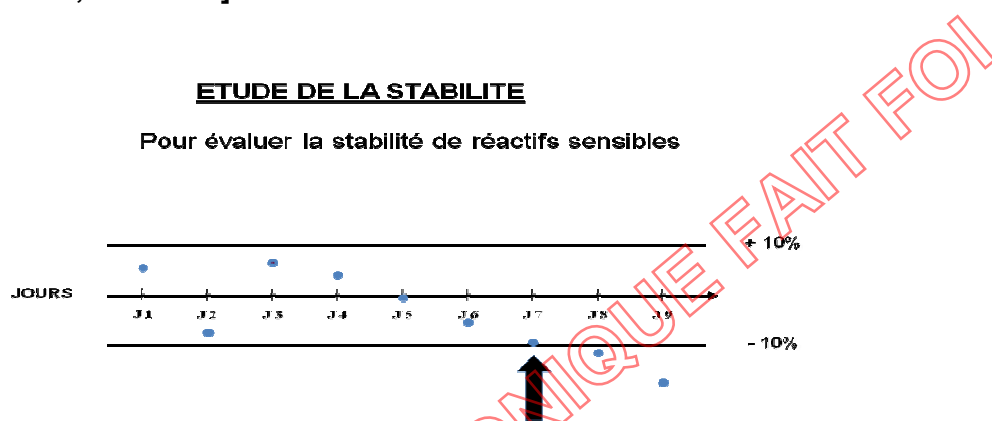
Elle consiste à évaluer par exemple la stabilité des réactifs "sensibles" ou "embarqués" à bords des analyseurs. Dans ce cas, on peut analyser un étalon de niveau de concentration élevée en tant qu'échantillon inconnu à intervalle régulier entre J1 et Jn. Le nombre d'analyses entre ces deux dates est fonction de la durée de conservation attendue pour obtenir un minimum de 10 résultats.

Des limites de stabilité théoriques (Lst en %, par exemple +/- 10 %) adaptées à chaque analytes (en rapport avec limites acceptables pour le CIQ par exemple) sont établies.

Calculer les valeurs correspondant à + Lst en % du taux théorique de l'étalon utilisé.

Vérifier que chaque mesure de l'étalon v est comprise dans l'intervalle [ v - Lst %; v + Lst %]. La limite de durée de stabilité est obtenue comme suit :

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



### 11.9 Comparaison de méthodes

Cette comparaison ne peut intervenir qu'après la vérification des critères suivants : répétabilité, fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire), justesse, limite de détection ou de quantification, limites de linéarité et éventuellement de la stabilité des réactifs pour la portée B.

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

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

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

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

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

Alors Limites de suivi =  $\pm 4.24 \sigma$

Cf. figure 1

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

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

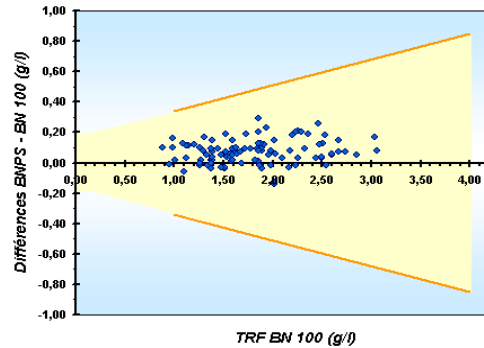


Figure 1

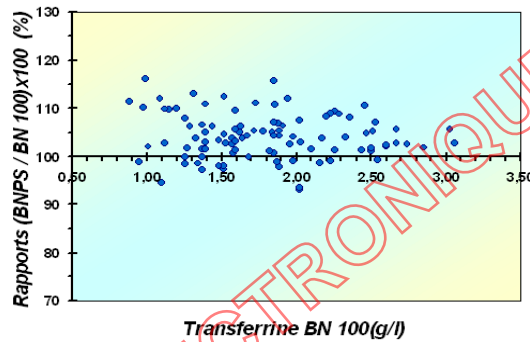


Figure 2

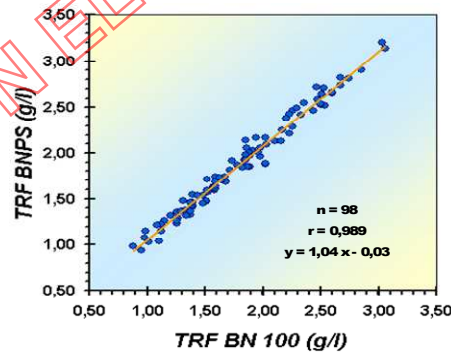


Figure 3

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

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

Le calcul du coefficient de corrélation ne s'applique qu'à des variables indépendantes pour démontrer un lien entre deux variables  $x$  et  $y$ . Ce n'est pas le cas lors d'une comparaison de technique. **La valeur du coefficient de corrélation n'a donc pas d'intérêt pour la comparabilité des deux méthodes.**

Les données pertinentes sont apportées par l'équation de la droite de régression dont la pente et l'ordonnée à l'origine exprimeront la similitude des méthodes comparées (similitude optimale avec pente égale à 1 et ordonnée à l'origine égale à 0).

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

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

Remarque : Il faut donc accorder une valeur toute particulière au graphique des différences et au pourcentage de valeurs discordantes selon un seuil acceptable prédéfini. La répartition des valeurs choisies pour cette comparaison est importante et devra faire l'objet d'une attention particulière.

Changement d'analyseur : en cas d'impossibilité d'évaluer le nouvel analyseur en parallèle avec l'ancien (par exemple manque de place pour positionner les 2 analyseurs dans le laboratoire), le laboratoire établit dans sa procédure de gestion de portée flexible les opérations réalisées *a minima* avant d'effectuer des examens pour les patients.

### 11.10 Vérification des intervalles de référence biologique

Les valeurs de référence (ou intervalle de référence) sont vérifiées le cas échéant et si possible, par la bibliographie et/ou par le calcul statistique.

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

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

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

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

Les valeurs de référence sont comparées à celles annoncées par le fournisseur. En fonction de cette comparaison, les valeurs de référence peuvent être réajustées. L'ajustement des valeurs ne peut être réalisé que sur la base d'une argumentation préalable et pertinente.

## 12 ANNEXE II - TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS

### 12.1 Terminologie

Terme	Définition	Parfois appelé
<b>Biais</b> VIM 3 + ISO 18113	Estimation d'une erreur systématique NOTE 1 : Le biais varie en sens inverse de la justesse. NOTE 2 : Une estimation du biais est la différence entre la valeur moyenne d'une série de mesures et une valeur de référence.	erreur de justesse
<b>Coefficient de variation</b> NF ISO 3534-1	Pour un caractère non négatif, rapport de l'écart-type à la moyenne. NOTE : Ce rapport peut être exprimé en pourcentage.	Ecart type relatif
<b>Dérive</b> VIM 3	Variation continue ou incrémentale dans le temps d'une indication, due à des variations des propriétés métrologiques d'un instrument de mesure NOTE : La dérive instrumentale n'est liée ni à une variation de la grandeur mesurée, ni à une variation d'une grandeur d'influence identifiée.	dérive instrumentale
<b>Erreur</b> VIM	Différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et une valeur de référence	erreur de mesure
<b>Etalon</b> ISO 18113	Réalisation de la définition d'une grandeur donnée, avec une valeur déterminée et une incertitude de mesure associée, utilisée comme référence EXEMPLE 1 : Etalon de masse de 1 kg avec une incertitude type associée de 3 µg. EXEMPLE 2 : Électrode de référence à hydrogène avec une valeur associée de 7,072 et une incertitude type associée de 0,006. EXEMPLE 3 : Série de solutions de référence de cortisol dans du sérum humain, dont chaque solution a une valeur certifiée avec une incertitude de mesure. EXEMPLE 4 : Matériau de référence fournissant des valeurs avec les incertitudes de mesure associées pour la concentration en masse de dix protéines différentes.	
<b>Étalonnage</b> ISO 18113	Opération qui, dans des conditions spécifiées, établit en une première étape une relation entre les valeurs et les incertitudes de mesure associées qui sont fournies par des étalons et les indications de mesure correspondantes avec les incertitudes associées, puis utilise en une seconde étape cette information pour établir une relation permettant d'obtenir un résultat de mesure à partir d'une indication de mesure. NOTE 1 L'étalonnage permet soit l'attribution de valeurs de mesurandes à des indications de mesure fournies par l'instrument de mesure, soit la détermination d'une correction par rapport aux valeurs fournies par l'instrument de mesure. NOTE 2 L'étalonnage est parfois confondu avec l'ajustage d'un système de mesure, souvent appelé improprement «auto-étalonnage» ou avec la <b>vérification de l'étalonnage</b> (3.10).	calibration

Terme	Définition	Parfois appelé
<b>Intervalle de mesure</b> VIM	Ensemble des valeurs de grandeurs d'une même nature qu'un instrument de mesure ou un système de mesure donné peut mesurer avec une incertitude instrumentale spécifiée, dans des conditions déterminées	Domaine d'analyse, gamme de mesure
<b>Exactitude</b> VIM 3	Étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'un mesurande	Exactitude de mesure
<b>Fidélité</b> VIM 3	Étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées. NOTE 1 : La fidélité est en général exprimée numériquement par des caractéristiques telles que l'écart-type, la variance ou le coefficient de variation dans les conditions spécifiées. NOTE 2 : Les conditions spécifiées peuvent être, par exemple, des conditions de répétabilité, des conditions de fidélité intermédiaire ou des conditions de reproductibilité (voir ISO 5725-3:1994).	
<b>Incertitude</b> VIM	Paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées NOTES : Le paramètre peut-être, par exemple, un écart-type (ou un multiple de celui-ci) ou la demi-largeur d'un intervalle de niveau de confiance déterminé. L'incertitude de mesure comprend, en général, plusieurs composantes. Certaines peuvent être évaluées à partir de la distribution statistique des résultats de séries de mesurages et peuvent être caractérisées par des écart-types expérimentaux. Les autres composantes, qui peuvent aussi être caractérisées par des écart-types, sont évaluées en admettant des distributions de probabilité, d'après l'expérience acquise ou d'après d'autres informations. Il est entendu que le résultat du mesurage est la meilleure estimation de la valeur du mesurande, et que toutes les composantes de l'incertitude, y compris celles qui proviennent d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux étalons de référence, contribuent à la dispersion.	
<b>Justesse</b> VIM	étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence	Justesse de mesure
<b>Limite de détection</b> VIM 3 – ISO 18113	Valeur mesurée, obtenue par une procédure de mesure donnée, pour laquelle la probabilité de déclarer faussement l'absence d'un constituant dans un matériau est $\beta$ , étant donné la probabilité $\alpha$ de déclarer faussement sa présence.  Le terme limite de détection est utilisé pour décrire la plus petite valeur de mesurande dont une procédure d'analyse peut indiquer la présence avec un niveau de confiance spécifié. Elle a également été appelée «concentration détectable minimale».  Il convient de ne pas confondre la limite inférieure d'un intervalle de mesure avec la limite de détection.  Le terme « sensibilité » est à proscrire au sens de limite de détection.	

Terme	Définition	Parfois appelé
<p><b>Limite de quantification</b> ISO 18113</p>	<p>Valeur la plus faible du mesurande dans un échantillon pouvant être mesurée avec une incertitude de mesure spécifiée, dans des conditions de mesure déterminées.</p>	<p>limite inférieure de détermination limite inférieure de quantification limite inférieure de mesure</p>
<p><b>Linéarité</b> ISO 18113</p>	<p>Aptitude à fournir des valeurs mesurées qui sont directement proportionnelles à la valeur du mesurande dans l'échantillon. NOTE 1 : Pour les dispositifs médicaux de DIV, la linéarité se rapporte à des résultats de mesure dans un intervalle de mesure donné après correction ou linéarisation des indications de mesure. NOTE 2 : La linéarité est évaluée par le mesurage d'échantillons contenant des mesurandes qui sont connus par formulation ou connus les uns par rapport aux autres (pas nécessairement connus dans l'absolu). Lorsque les résultats de mesure sont représentés en fonction des valeurs absolues ou relatives des mesurandes, le degré auquel la courbe tracée se conforme à une droite est une mesure de la linéarité.</p>	<p>linéarité d'un système de mesure</p>
<p><b>Matériau de référence</b> VIM 3</p>	<p>Matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne des propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue pour un mesurage ou pour l'examen de propriétés qualitatives. EXEMPLE 1 : Exemples de matériaux de référence supports de grandeurs - sérum humain sans valeur assignée à la concentration de cholestérol intrinsèque, utilisé seulement pour le contrôle de la fidélité de mesure ; EXEMPLE 2 : Exemples de matériaux de référence supports de propriétés qualitatives : - ADN contenant une séquence spécifiée de nucléotides ; - urine contenant de la 19-androstènedione</p>	<p>MR</p>
<p><b>Matériau de référence certifié</b> VIM 3</p>	<p>Matériau de référence, accompagné d'une documentation délivrée par un organisme faisant autorité et fournissant une ou plusieurs valeurs de propriétés spécifiées avec les incertitudes et les traçabilités associées, en utilisant des procédures valables EXEMPLE : Sérum humain dont la valeur assignée à la concentration de cholestérol et l'incertitude de mesure associée sont indiquées dans un certificat et qui sert d'étalon dans un étalonnage ou de matériau de contrôle de la justesse de mesure.</p>	<p>MRC</p>
<p><b>Mesure</b> VIM 3</p>	<p>Processus consistant à obtenir expérimentalement une ou plusieurs valeurs que l'on peut raisonnablement attribuer à une grandeur.</p>	<p>mesurage</p>

Terme	Définition	Parfois appelé
<p><b>Mesurande</b> VIM 3 ISO 18113-1</p>	<p>Grandeur que l'on veut mesurer NOTE 1 : La spécification d'un mesurande en biologie médicale exige la connaissance de la nature de la grandeur (par exemple la concentration massique), une description de la matrice dont la grandeur est une propriété (par exemple le plasma sanguin) et les entités chimiques en jeu (par exemple l'analyte). NOTE 2 : Le mesurande peut être une activité biologique. NOTE 3 : En chimie, «analyte» ou le nom d'une substance ou d'un composé sont quelquefois utilisés à la place de «mesurande». Cet usage est erroné puisque ces termes ne désignent pas des grandeurs.</p>	
<p><b>Répétabilité</b> VIM 3</p>	<p>Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité. Condition de répétabilité = condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps. NOTE 1 Une condition de mesurage n'est une condition de répétabilité que par rapport à un ensemble donné de conditions de répétabilité. NOTE 2 En chimie, on utilise quelquefois le terme « condition de fidélité intra-série » pour désigner ce concept.</p>	<p>répétabilité de mesure</p>
<p><b>Reproductibilité</b> VIM 3</p>	<p>Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de reproductibilité. Condition de reproductibilité = condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires. NOTE 1 Les différents systèmes de mesure peuvent utiliser des procédures de mesure différentes. NOTE 2 Il convient qu'une spécification relative aux conditions contienne, dans la mesure du possible, les conditions que l'on fait varier et celles qui restent inchangées.</p>	<p>reproductibilité de mesure</p>

Terme	Définition	Parfois appelé
<b>Spécificité analytique</b> ISO 18113	Capacité d'un système de mesure, utilisant une procédure de mesure spécifiée, à produire des résultats de mesure, pour un ou plusieurs mesurandes, qui ne dépendent ni les uns des autres ni de toute autre grandeur dans le système soumis au mesurage. EXEMPLE Capacité d'un système de mesure à mesurer la concentration en créatinine dans le plasma sanguin par une procédure au picrate alcalin sans interférence des concentrations de glucose, d'urates, de cétone ou de protéines. NOTE 1 Le manque de spécificité analytique est appelé interférence analytique (A.3.2). NOTE 2 Le manque de spécificité analytique dans les procédures de mesure immunochimiques peut être dû à la réactivité croisée (A.3.12).	sélectivité d'une procédure de mesure

## 12.2 Autres définitions

D'autres définitions sont proposées ci-après. Leur connaissance permet de mieux comprendre les objectifs de la vérification/validation et les éléments permettant de l'effectuer.

Ces définitions ont été reprises à partir de documents qui font référence; parmi ceux-ci nous rappellerons plus particulièrement la norme "Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie" (VIM 3), la norme "Vocabulaire et symboles", NF ISO 3534-1, la DÉCISION DE LA COMMISSION du 7 mai 2002 portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* [notifiée sous le numéro C(2002) 1344], texte présentant de l'intérêt pour l'EEE (2002/364/CE) et le dictionnaire des termes à l'usage de la validation des techniques de la Société Française de Biologie Clinique.

**Acceptabilité**, (critères d') : critères selon lesquels les performances d'une technique sont jugées satisfaisantes dans les conditions d'emploi définies par l'utilisateur (ces critères s'appuient en particulier sur les concepts d'imprécision, d'inexactitude et d'erreur totale acceptable).

**Analyse**, (domaine d') : intervalle de concentrations (ou autres quantités) d'un analyte pour lequel la technique est applicable sans modification. Son évaluation nécessite l'établissement des limites de linéarité et/ou de la limite de détection de la technique. Synonyme : "domaine de mesurage, gamme de mesure".

**Analyte** : constituant d'un échantillon avec une propriété mesurable.  
 EXEMPLES Dans l'expression «masse de protéine dans l'urine de 24 h», le terme «protéine» est l'analyte et le terme «masse» la propriété. Dans l'expression «concentration du glucose dans le plasma», le terme «glucose» est l'analyte et le terme «concentration» la propriété. Dans les deux cas, la longue expression désigne le mesurande

**Blanc du spécimen** : Signal imputable à certaines propriétés du milieu dans lequel se trouve l'analyte. Dans le cas idéal, il résulte d'une mesure de signal effectuée dans les conditions de la réaction sur l'échantillon ne contenant pas l'analyte ou sur l'échantillon après élimination ou inactivation de l'analyte.

**Blanc réactif** : correspond au signal imputable au(x) réactif(s) utilisé(s) lors d'un dosage ou d'une mesure d'activité catalytique. L'échantillon est remplacé par un égal volume d'un solvant approprié.

**Bruit de fond** : correspond aux variations aléatoires du signal de mesure pour un niveau donné. Il est mesuré par l'écart-type d'une suite d'au moins 30 mesures du signal, au niveau considéré.

**Caractérisation** (évaluation) : étude visant à éprouver le protocole d'analyse (procédure analytique) afin de connaître les valeurs des critères de performance d'une méthode. Cette étude peut être menée par un LBM, par un fournisseur ou un fabricant, en intra laboratoire ou en inter laboratoire.

**Coefficient de corrélation** : quotient de la covariance de deux caractères par le produit de leurs écarts-types.

NOTE : Il exprime la relation éventuelle entre deux variables réputées indépendantes. Sa valeur doit être uniquement testée par rapport à zéro en fonction d'un risque  $\alpha$  choisi. Il est habituellement sans intérêt dans les comparaisons de techniques.

**Contamination** : introduction d'un composant dans un mélange réactionnel auquel il n'appartient pas

EXEMPLE Portion d'un échantillon, d'un réactif, d'un agent diluant ou d'une solution de lavage qui est transférée d'un contenant ou d'un mélange réactionnel à un autre pendant l'analyse.

**Correction** : compensation d'un effet systématique connu.

NOTE La modification peut prendre différentes formes, telles que l'addition d'une valeur ou la multiplication par un facteur, ou peut se déduire d'une table de correspondance.

**Critères de performance** : paramètre caractérisant la procédure analytique (linéarité, fidélité, justesse, ...)

Valeur seuil = valeur de cut-off: valeur d'une grandeur, utilisée comme une limite pour identifier des échantillons qui indiquent la présence ou l'absence d'une maladie, d'un état ou d'un mesurande spécifique

NOTE 1 Les résultats de mesure supérieurs à la valeur seuil sont considérés positifs et ceux inférieurs à ce seuil sont considérés négatifs.

NOTE 2 Les résultats de mesure proches de la valeur seuil peuvent être considérés non concluants.

NOTE 3 Le choix de la valeur seuil détermine la spécificité et la sensibilité diagnostiques de l'analyse.

**Ecart-type de la moyenne**, s.e.m. ("Standard deviation of the mean") : paramètre statistique indiquant la dispersion des valeurs au niveau de la moyenne d'une série de mesures.

**Erreur aléatoire** : résultat d'un mesurage moins la moyenne d'un nombre infini de mesurages du même mesurande, effectués dans des conditions de répétabilité.

NOTES :

- l'erreur aléatoire est égale à l'erreur moins l'erreur systématique.

- comme on ne peut faire qu'un nombre fini de mesurages, il est seulement possible de déterminer une estimation de l'erreur aléatoire.

**Erreur de justesse** (d'un instrument de mesure) : erreur systématique d'indication d'un instrument de mesure.

NOTE : L'erreur de justesse est normalement estimée en prenant la moyenne de l'erreur d'indication sur un nombre approprié d'observations répétées.

**Erreur systématique** : moyenne qui résulterait d'un nombre infini de mesurages du même mesurande, effectués dans les conditions de répétabilité, moins une valeur vraie du mesurande.

NOTES :

- l'erreur systématique est égale à l'erreur moins l'erreur aléatoire.
- comme la valeur vraie, l'erreur systématique et ses causes ne peuvent être connues complètement.
- pour un instrument de mesure, voir "erreur de justesse".

**Etat de l'art**, (Performance de l') : désigne la qualité des méthodes analytiques actuellement disponibles. Celle-ci est habituellement estimée à partir d'enquêtes inter laboratoires.

**Evaluation selon une méthode de type A** (de l'incertitude) : méthode d'évaluation de l'incertitude par l'analyse statistique de séries d'observations.

**Evaluation selon une méthode de type B** (de l'incertitude) : méthode d'évaluation par des moyens autres que l'analyse statistique de séries d'observations.

**Facteur d'élargissement** : facteur numérique utilisé comme multiplicateur de l'incertitude-type composée pour obtenir l'incertitude élargie.

NOTE : Un facteur d'élargissement  $k$  a sa valeur généralement de 2, parfois 3.

**Incertitude-type** : incertitude du résultat d'un mesurage exprimée sous la forme d'un écart-type.

**Incertitude-type composée** : incertitude-type du résultat d'un mesurage, lorsque ce résultat est obtenu à partir des valeurs d'autres grandeurs, égal à la racine carrée d'une somme de termes, ces termes étant les variances ou covariance de ces autres grandeurs, pondérés selon la variation du résultat de mesure en fonction de celle de ces grandeurs.

**Incertitude élargie** : grandeur définissant un intervalle, autour du résultat d'un mesurage, dont on puisse s'attendre à ce qu'il comprenne une fraction élevée de la distribution des valeurs qui pourraient être attribuées normalement au mesurande.

NOTES :

- la fraction peut être considérée comme la probabilité ou le niveau de confiance de l'intervalle.
- l'association d'un niveau de confiance spécifique à l'intervalle défini par l'incertitude élargie nécessite des hypothèses explicites ou implicites sur la loi de probabilité caractérisée par le résultat de mesure et son incertitude-type composée. Le niveau de confiance qui peut être attribué à cet intervalle ne peut être connu qu'avec la même validité que celle qui se rattache à ces hypothèses.
- l'incertitude élargie est parfois appelée incertitude globale.

**Matrice** : milieu dans lequel se trouve l'analyte.

**Moyenne**,  $m$  : quotient de la somme des observations par leur nombre. Sauf indication contraire, le terme "moyenne" désigne la valeur arithmétique.

**Procédure de mesure de référence** : procédure de mesure considérée comme fournissant des résultats de mesure adaptés à leur usage prévu pour l'évaluation de la justesse de valeurs mesurées obtenues à partir d'autres procédures de mesure pour des grandeurs de la même nature, pour un étalonnage ou pour la caractérisation de matériaux de référence.

**Résultat d'un mesurage** : valeur attribuée à un mesurande, obtenue par mesurage.

**Robustesse** : par "robustesse" d'une technique d'analyse, on entend une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles mais délibérées des paramètres de la méthode, et qui fournit une indication sur sa fiabilité dans les conditions normales d'utilisation.

**Sensibilité (diagnostique)** : La probabilité qu'un dispositif donne un résultat positif en présence du marqueur cible.

**Sensibilité analytique** : quotient de la variation d'une indication de mesure par la variation correspondante de la valeur de la grandeur mesurée

NOTE 1 : La sensibilité d'une procédure de mesure peut dépendre de la valeur de la grandeur mesurée.

NOTE 2 : La sensibilité analytique d'un système de mesure est la pente de la courbe d'étalonnage.

NOTE 3 : Il convient de ne pas utiliser la sensibilité analytique au sens de limite de détection ou de limite de quantification et de ne pas la confondre avec la sensibilité diagnostique

Aux fins de l'application des spécifications techniques communes (STC), on entend par "sensibilité analytique" la limite de détection, soit la plus petite quantité de marqueur cible pouvant être détectée avec précision même si cette acceptation est erronée.

**Sensibilité d'une technique** : rapport de la variation de signal mesuré à l'unité de concentration de l'analyte étudié.

**Spécificité analytique** : capacité d'un système de mesure, utilisant une procédure de mesure spécifiée, à produire des résultats de mesure, pour un ou plusieurs mesurandes, qui ne dépendent ni les uns des autres ni de toute autre grandeur dans le système soumis au mesurage.

**Spécificité diagnostique** : aptitude d'une procédure d'analyse de DIV à reconnaître l'absence d'un marqueur cible associé à une maladie particulière ou à un état particulier.

**Spécimen** : = échantillon primaire : une ou plusieurs parties prélevées sur un système.

**Traçabilité métrologique** : propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure.

**Traçabilité (ISO 9000)** : aptitude à retrouver l'historique, la mise en œuvre ou l'emplacement de ce qui est examiné.

**Valeur conventionnellement vraie** (d'une grandeur) : Valeur attribuée à une grandeur particulière et reconnue, parfois par convention, comme la représentant pour une incertitude appropriée pour un usage donné.

**Valeur de référence** : valeur d'une grandeur servant de base de comparaison pour les valeurs de grandeurs de même nature.

NOTE 1 : La valeur de référence peut être une valeur vraie d'un mesurande, et est alors inconnue, ou une valeur conventionnelle, et est alors connue.

NOTE 2 : Une valeur de référence associée à son incertitude de mesure se rapporte généralement à :

- a) un matériau, par exemple un matériau de référence certifié,
- b) un dispositif, par exemple un laser stabilisé,
- c) une procédure de mesure de référence,
- d) une comparaison d'étalons.

## 13 ANNEXE III – EXEMPLES DE FICHES TYPE QUANTITATIF ET QUALITATIF

### Exemple Fiche type quantitatif

Note : le laboratoire se référera au tableau du § 9.1.1 du Document Cofrac SH GTA 04 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera **une fiche par examen de biologie médicale**

<b>EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :</b>
<b>Calcémie</b>

DESCRIPTION DE LA METHODE	
<b>Analyte/Mesurande :</b>	Calcium
<b>Principe de la Mesure :</b>	Spectrophotométrie d'absorption dans le visible
<b>Méthode de mesure :</b>	Ortho-crésol-phtaléine-complexon
<b>Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...) :</b>	Plasma
<b>Type de récipient, Additifs (tubes, ...) :</b>	Héparinate de lithium avec gel séparateur
<b>Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :</b>	Centrifugation 2000 g 10 min à 20°C.
<b>Unités :</b>	mmol/l
<b>Intervalles de référence<sup>13</sup> :</b>	2,25-2,45 mmol/l
<b>Marquage CE (Oui/Non) :</b>	Oui
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe) :</b>	XX
<b>Instrument (analyseur automatique, etc.) :</b>	Nom de marque et modèle
<b>Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :</b>	YY
<b>Matériau d'étalonnage (références)/ Raccordement métrologique :</b>	Etalon fournisseur NIST SRM 909b
<b>Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :</b>	Linéaire en deux points 2.0 et 2,60 mmol/l

<sup>13</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

<b>MISE EN ŒUVRE</b>	
<b>Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :</b>	DUPONT
<b>Procédure de validation :</b>	P01 V02
<b>Procédure de gestion de la portée flexible :</b>	P02 v01
<b>Période d'évaluation :</b>	<b>Du : 01/09/10 au 10/09/10</b>
<b>Date de mise en service :</b>	15/09/10
<b>Autorisation de mise en service par :</b>	DURAND

<b>MAITRISE DES RISQUES</b>		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :</b>	Recommandé héparinate de Li Acceptable tube sec ou gel Non acceptable EDTA oxalate, citrate	Vérification à réception MO-137
<b>Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :</b>	Tube héparine : centrifugation > 30 mn après prélèvement et < 6 h Tube sec : temps avant centrifugation 1heure	Centrifugation Programme 01 MO-642
<b>Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.</b>	PO-123 ENR-567	Habilitation
<b>Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage, ...) :</b>	T <sup>°</sup> ambiante : 15 à 30°C (spécifications fabricants)	Vérification quotidienne
<b>Référence du réactif (référence fournisseur, version) :</b>	Référence 1 Référence 2	Vérification de la date de péremption et date limite d'utilisation après ouverture
<b>Matériau de référence :</b>	Sérums étalon 1 & 2 lyophilisés	Pipette pour régénération Délai de reconstitution Température de conservation
<b>Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques</b>	Qualité eau	Vérification résistivité eau osmosée

\* item à renseigner si nécessaire

## EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

### Répétabilité:

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (mmol/l) <sup>14</sup>	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs <sup>15</sup> ) SFBC	Conclusion <sup>16</sup>
pool	30	2.40	0.027	1.15	1.2	1.2	conforme
Sérum niveau 1	28	1.80	0.022	1.2	1.2	1.2	conforme
Sérum niveau 2	29	3.40	0.034	1	1.2	1.2	conforme

**Conclusions :** Conforme

### Fidélité intermédiaire :

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (mmol/l) <sup>14</sup>	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs <sup>15</sup> ) SFBC/RICOS	Conclusion <sup>16</sup>
Sérum niveau 1	30	1,80	0,025	1.4	1.5	1,6/1.0	conforme
Sérum niveau 2	30	2.52	0.042	1,3	1.5	1,6/1.0	conforme
Sérum niveau 3	30	3.20	0.038	1.2	1.5	1,6/1.0	conforme

**Conclusions :** Conforme aux spécifications fournisseurs et SFBC pour les trois niveaux.

### Justesse (approche de la) :

#### Cas des contrôles internes externalisés

Echantillons	Nombre (N)	Valeurs Labo <sup>14</sup> (mmol/l)	Cible (mmol/l) Groupe de pairs	Moyenne générale (mmol/l) Toutes techniques	Biais (%) /groupe de pairs	Biais (%) /moyenne générale	Biais (%) limite SFBC/RICOS	Conclusion <sup>16</sup>
Sérum CIQ niveau 1	30	1,80	1.82	1.83	- 1.35	- 1.6	1.7/0.8	conforme
Sérum CIQ niveau 2	30	2.52	2.53	2.56	- 0.39	- 1.5	1.7/0.8	conforme
Sérum CIQ niveau 3	30	3.20	3.24	3.25	- 1.20	- 1.5	1.7/0.8	conforme

**Conclusions :** conforme

<sup>14</sup> Nombre de chiffres significatifs

<sup>15</sup> Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

<sup>16</sup> Conforme/non conforme

**Exactitude :**

Cas des contrôles externes ponctuels

Echantillons	Nombre (N)	Valeur Labo <sup>17</sup> (mmol/l)	Cible (mmol/l) Groupe de pairs	Moyenne générale (mmol/l) Toutes techniques	Biais (%) /groupe de paris	Biais (%) /moyenne générale	Biais (%) limite SFBC/RICOS	Conclusion <sup>18</sup>
Sérum CQN	1	1.83	1.83	1.86	0	- 1.61	2.3/2.4	Conforme
Sérum ponct xy	1	2.48	2.53	2.51	- 1.98	- 1.37	2.3/2.4	Conforme
Sérum ponct zy	1	3.18	3.20	3.24	- 0.6	- 1.82	2.3/2.4	Conforme

**Conclusions :** conforme.

<b>INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :</b>	
<b>Mode de calcul (cf. SH GTA 14)</b>	CIQ + EEQ
<b>Quantification de l'incertitude (niveau 1) :</b>	2.3 +/- 0.03 mmol/l
<b>Quantification de l'incertitude (niveau 2) :</b>	2.8 +/- 0.04 mmol/l
<b>Interprétation :</b>	RICOS (2.4 %) : +/- 0.048 (niveau 1) RICOS (2.4 %) : +/- 0.067 (niveau 2)

**Conclusions :** conforme.

<b>COMPARAISON DE METHODES :</b>	
<b>Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :</b>	Références méthodes
<b>Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou EBMD :</b>	ARSENAZO III (ancienne méthode) Appareils en miroir : oui
<b>Nombre de mesures :</b>	30
<b>Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire :</b>	1.80 à 2.80 mmol/l
<b>Méthode d'exploitation des résultats :</b>	Droite des moindres rectangles
<b>Equation de la droite de régression :</b>	$Y = 1.02x + 0.02$
<b>Diagramme des différences et/ou des rapports :</b>	Nombre de déviants = 1
<b>Conclusions et dispositions<sup>19</sup> :</b>	Conforme

<sup>17</sup> Nombre de chiffre significatifs

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

<sup>19</sup> Le laboratoire précise les dispositions mises en œuvre (par exemple : utilisation **transitoire et documentée** d'un facteur de correction).

<b>INTERVALLE DE MESURE (indispensable en portée B) (si possible et pertinent, ex : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH) :</b>	
Mode de détermination :	NA
Limite inférieure de linéarité (de quantification)/ Profil de fidélité :	NA
Limite supérieure de linéarité	NA

<b>INTERFERENCES (ex : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) :</b>	
Vérification bibliographique :	NA
Vérification :	NA

<b>CONTAMINATION (indispensable en portée B et pour les paramètres sensibles en portée A)</b>	
Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, $\beta$ HCG) :	NA
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides) :	NA
Vérification bibliographique :	NA
Vérification :	NA

Exemple Fiche type qualitatif

Note : le laboratoire se réfèrera au tableau du § 9.2.1 du Document Cofrac SH GTA 04 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B<sup>20</sup>) et complètera **une fiche par examen de biologie médicale**

**EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :**  
**Détermination de groupe ABO-RH1**

DESCRIPTION DE LA METHODE	
<b>Analyte/Mesurande :</b>	Groupage ABO-RH1 dans le sang
<b>Principe de la Mesure :</b>	Agglutination
<b>Méthode de mesure :</b>	Agglutination avec mesure automatisée par analyse à l'aide d'une caméra
<b>Marquage CE (Oui/Non)</b>	oui
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe) :</b>	XX

MISE EN OEUVRE	
<b>Opérateurs (Habilitation) :</b>	Pierre Adam
<b>Procédure de validation :</b>	B.080.0.EN.107, B.80.0.EN.109 et B.080.0.EN110
<b>Procédure de gestion de la portée flexible :</b>	B.080.0.PS.007
<b>Période d'évaluation :</b>	<b>Du</b> : 10/04/2010 <b>au</b> 06 mai 2010
<b>Date de mise en service :</b>	1 <sup>er</sup> Juin 2010
<b>Autorisation par :</b>	JB THIBAUD

<sup>20</sup> Dans le cadre d'une portée B, le laboratoire aura à sa charge d'établir un protocole d'évaluation propre aux items et aux examens concernés par la portée B.

<b>MAITRISE DES RISQUES</b>		
<b>Données d'entrée</b>	<b>Points critiques à maîtriser</b>	<b>Modalités de maîtrise</b>
<b>Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :</b>	Sang Total sur EDTA, Tube hémogard	Tubes prélevés en dehors du laboratoire Mode opératoire : réception des échantillons
<b>Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :</b>	Centrifugation	Mode opératoire : centrifugation des échantillons par du personnel habilité Programme de centrifugation selon protocole MQ123 Repère des non conformes par le personnel technique (hémolysé)
<b>Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.</b>	Personnel habilité à chaque poste de travail	Enregistrements : B.080.1.PS.001 B.080.1.EN.003
<b>Conditions ambiantes requises (ex : température, organisation des locaux, éclairage,...) :</b>	Locaux sous surveillance de température : sonde reliée entre 15 et 30 °C	Sonde vérifiée par le service métrologie et relevé quotidien
<b>Référence du réactif (référence fournisseur, version) :</b>	La liste des réactifs fournit en annexe	Marqués CE Contrôlés à réception
<b>Matériau de références (témoins) :</b>	CIQ ABO - RH1 : EFS de Nantes	Marqués CE Passés en début et fin de série
<b>Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques</b>	Analyseur XX 7300 N°série 905018A A maîtriser : pipetage et température de l'analyseur.	Le SAV vérifie tous les 6 mois le système de distribution des volumes et la température d'incubation

\* item à renseigner si nécessaire

## EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

### SPECIFICITE & SENSIBILITE DIAGNOSTIQUES (indispensable en portée B)

Résultats de l'étude des courbes ROC à partir d'une étude clinique :	NA
--	----

### CONTAMINATION

Inter échantillon pour les paramètres sensibles :	OUI
Inter réactif si nécessaire :	Une contamination éventuelle se traduirait par une discordance Beth-Vincent/ Simonin ; vérifiée tout au long de la validation et confirmée par la concordance des résultats. Absence de contamination inter-réactifs
Vérification bibliographique :	OUI
Vérification sur site :	Vérification en alternant les échantillons de groupe AB et O : Absence de contamination inter-échantillons

### COMPARAISON DE METHODES

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire :	ABO RH1 sur XX 7200
Nombre de mesures :	1000
Descriptif de l'échantillon étudié :	1000 échantillons de routine connus
Méthode d'exploitation des résultats (études des concordances) :	Concordance à savoir résultat identique sur les deux automates (ancien/nouveau). Etude de discordance éventuelle et justification
Résultats et interprétations des discordances :	3 discordances repérées car tous les résultats sont examinés visuellement, aboutissant à une concordance totale.
Conclusions et dispositions <sup>21</sup> :	Concordance totale

### ROBUSTESSE (indispensable en portée B)

Données bibliographiques :	OUI
Résultats :	NA
Conclusions et dispositions <sup>21</sup> :	NA

### STABILITE (indispensable en portée B)

Données bibliographiques :	OUI
Résultats :	NA
Conclusions et dispositions <sup>21</sup> :	NA

<sup>21</sup> Le laboratoire précise les dispositions mises en œuvre (par exemple : utilisation **transitoire et documentée** d'un facteur de correction).

**TABLEAU DES REACTIFS :**

Désignation du produit	Référence fournisseur	Numéro de clones
Reac Group I Anti-A	72314	2521B8+16243G2
Reac Group I Anti-B		9621A8
Reac Group I Anti-AB		2521B8+16243G2+16247 <sup>E</sup> 10+ 7821D9
Reac Totem		P3X61 + P3X2122B10 +P3X29
Reac Group I control		
Reac Phéno Anti-C		72310
Reac Phéno Anti-c	MS33	
Reac Phéno Anti-E	906	
Reac Phéno Anti-e	P3GD512 + MS63	
Reac Phéno Anti-K	MS56	
Reac Group II Anti-A	72400	
Reac Group II Anti-B		164B5G10+7821D9
Reac Group II Anti-AB		152D12+9113D10
Reac Group II Anti-D		HM10
Reac Control		
Reac Screen Anti-C		72420
Reac Screen Anti-c	951	
Reac Screen Anti-E	P3X234+MS258	
Reac Screen Anti-e	HS128+MS21	
Reac Screen Anti-K	601	

## 14 ANNEXE IV - BIBLIOGRAPHIE

### Références réglementaires

Directive 98/79/CE du Parlement européen et du Conseil, du 27 octobre 1998, relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* ([http://www.lne.fr/fr/essais/essais\\_conformite/essais\\_conformite.shtml](http://www.lne.fr/fr/essais/essais_conformite/essais_conformite.shtml)).

Décret n° 2004-108 du 4 février 2004 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et modifiant le code de la santé publique (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat): J.O. du 6 février 2004, page 2577, NOR: SANP0324626D.

Décret n° 2002-637 du 29 avril 2002 relatif à l'accès aux informations personnelles détenues par les professionnels et les établissements de santé en application des articles L. 1111-7 et L. 1112-1 du code de la santé publique: J.O n° 101 du 30 avril 2002, page 7790, NOR: MESP0221143D.

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

DÉCISION DE LA COMMISSION du 7 mai 2002 portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*

DÉCISION DE LA COMMISSION du 3 février 2009 modifiant la décision 2002/364/CE portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*

DÉCISION DE LA COMMISSION du 27 novembre 2009 modifiant la décision 2002/364/CE portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*

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

Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale : J.O. du 15 janvier 2010.

### Références normatives générales

Analyses de biologie délocalisées (ABDD) - Exigences concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 22870: Mai 2006 ([AFNOR](#)).

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

Critères de validation intra-laboratoire pour les méthodes de détection et quantification de séquences d'acides nucléiques spécifiques. XP V03-044 ([AFNOR](#)).

Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM). ENV 13005 ([AFNOR](#)) et JCGM 100 ([BIPM](#)).

Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 15189: août 2007 ([AFNOR](#)).

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

Matériaux de référence - Contenu des certificats et étiquettes. ISO Guide 31 (AFNOR).

Métrologie – Systèmes de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure. NF EN ISO 10012 : Septembre 2003 ([AFNOR](#)).

Normes fondamentales - Métrologie et applications de la statistique - Aide à la démarche pour l'estimation et l'utilisation de l'incertitude des mesures et des résultats d'essais. FD X07-021: Octobre 1999 ([AFNOR](#)).

Normes fondamentales - Vocabulaire des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM). ISO/CEI GUIDE 99 ([AFNOR](#)) et JCGM 200 ([BIPM](#)).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 1 : probabilité et termes statistiques généraux. NF ISO 3534-1 ([AFNOR](#)).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 2 : maîtrise statistique de la qualité. NF ISO 3534-2 ([AFNOR](#)).

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

Systèmes de management de la qualité — Principes essentiels et vocabulaire. ISO 9000: 2005 ([AFNOR](#))

Utilisation des matériaux de référence certifiés. ISO Guide 33 ([AFNOR](#)).

### **Documentation Cofrac - EA**

[Document Cofrac SH REF 02](#), "Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale".

[Document Cofrac SH INF 50](#), "Portées-types d'accréditation" (dans l'attente de sa parution, se référer au document Cofrac [LAB INF 50](#)).

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

[Document Cofrac SH REF 08](#), "Expression et évaluation des portées d'accréditation".

[Document Cofrac SH GTA 06](#), (dans l'attente de sa parution, se référer au document Cofrac [LAB GTA 06](#), "Les contrôles de la qualité analytique en Biologie Médicale").

[Document Cofrac SH GTA 14](#), "Guide d'évaluation des incertitudes d'analyse en Biologie Médicale" (dans l'attente de sa parution, se référer au document Cofrac [LAB GTA 14](#), "Guide d'évaluation des incertitudes de mesures des analyses de Biologie Médicale").

[Document EA 4/17](#), "EA Position Paper on the description of scopes of accreditation of medical laboratories.

[Document EA 4/16](#), "EA Guideline on the Expression of Uncertainty in Quantitative Testing".

## Validation des méthodes

The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. [Eurachem Guides](#) (1998).

A WHO guide to good manufacturing practice requirements - [Part 2: Validation](#). [World Health Organisation](#) (1997).

Radioprotection - Critères de performance pour l'analyse radiotoxicologique - Partie 1 : principes généraux. NF ISO 12790-1: Mars 2002 ([AFNOR](#)).

Validation des procédures analytiques quantitatives – Harmonisation des démarches. SFSTP. [STP Pharma Prat](#) mai/juin 2003, vol. 13 (3): 101-138.

Guide de validation analytique. SFSTP. [STP Pharma Prat](#) 1992, vol. 2: 205-226.

Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques: stratégie de validation. SFSTP. [STP Pharma Prat](#) 1997, vol. 7: 169-194.

Validation of Analytical Procedures Q2A - FDA [ICH Harmonised Tripartite Guideline](#), International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use ([ICH](#) ou [Q2A](#)).

Bioanalytical Method Validation - Guidance for Industry, U.S. Depart. Health and Human Services, May 2001 ([FDA](#))

Validation of Analytical Procedures: Methodology Q2B - FDA [ICH Harmonised Tripartite Guideline](#), International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use ([ICH](#) ou [Q2B](#)).

Preparation and harmonisation of guidelines for in-house method validation. 1999-006-1-500, [IUPAC](#).

IUPAC recommendations for defining and measuring detection and quantification limits, Analytical method validation M24-M26

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude. NF V03-110: Mai 2010 ([AFNOR](#)).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole d'évaluation intra-laboratoire d'une méthode alternative d'analyse qualitative par rapport à une méthode de référence. XP V03-111: Octobre 1995 ([AFNOR](#)).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Guide pour l'utilisation des matériaux de référence. FD V03-115: Juillet 1996 ([AFNOR](#)).

Évaluation des performances des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. NF EN 13612: Septembre 2002 ([AFNOR](#)).

La validation des méthodes d'analyse. M. Feinberg, 1996, Edition Masson.

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

Recommandations pour l'installation dans le laboratoire de la fonction métrologie et de la documentation correspondante (Document B). Dumontet M, Vassault A, Fuss-Ohlen I, Guitel F, Perrin A, Giroud C, Robineau S, Braconnier F, Beaudeau JL, Le Moel G. *Ann Biol Clin* 2004, 62 : 479-86.

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

### Validation des méthodes en Biologie Médicale

A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. Christopher J Mattocks, Michael A Morris, Gert Matthijs, Elfriede Swinnen, Anniek Corveleyn, Els Dequeker, Clemens R Müller, Victoria Pratt and Andrew Wallace. *European Journal of Human Genetics* (2010) 18, 1276–1288.

A reference method laboratory network for cholesterol: a model for standardization improvement of clinical laboratory measurements de Gary L. Myers, Mary M. Kimberly, Parvin P. Waymacks, S. Jay Smith, Gerald R. Cooper, and Eric J. Sampson. *Clin. Chem.* 46 (11) : 1762-1772.

CLSI EP17- A Protocol for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, 2004

CLSI EP15 A User Demonstration of Performance for Precision and Accuracy; Approved Guideline, 2001

CUMITECH report: Verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory. American Society for Microbiology, February 1997.

Current databases on biological variations : pros, cons and progress, Ricos C. *et al.*, *Scand J Clin Lab Invest* 1999, 59, 491-50

Determination of peripheral blood stem cells by the Sysmex SE-9500. Peng L, Yang J, Yang H, Peng Z, Xu C, Liu T. *Clin Lab Haematol.* 2001, 23(4) : 231-6.

Development and clinical application of nucleated red blood cell counting and staging on the automated haematology analyser XE-2100. Wang FS, Itose Y, Tsuji T, Hamaguchi Y, Hirai K, Sakata T. *Clin Lab Haematol.* 2003, 25(1) : 17-23.

Dosage de l'homocystéine plasmatique par chromatographie liquide haute performance et comparaison à deux autres techniques, F. Ceppa, I. Drouillard, D. Chianea, P. Burnat, F. Perrier, C. Vaillant, Y. El Jahiri. *Ann Biol Clin* 1999, 57 : 474-80.

Evaluation de l'automate Axsym. C. Duval *Annales de Biologie Clinique* 2001, 59 n° spécial : 48-51.

Evaluation de l'accord entre trois automates d'hématologie. F. Hennouchi, S. Anselme Martin, V. Chantepedrix, N. Roux Bouisson, B. Polack, P. Mossuz. *Ann Biol Clin* 2002, 60 : 351-5.

Evaluation d'un nouvel automate de cytologie sanguine : l'Advia 70. V. Siguret, N. Hanna, I. Gouin, P. de Guetony, C. Chevance, J.-P. Andreux, *Ann Biol Clin* 2002, 60 : 541-8.

Evaluation de la numération des réticulocytes sur automate Cell-Dyn 3500® : comparaison avec une technique par cytométrie en flux. C. Alvarez, C. Chabert, P. Quillet, H. Baufine-Ducrocq. Ann Biol Clin 1997, 55 : 215-221.

Evaluation of the Beckman Coulter HmX hematology analyser at a general hospital. Darnige L, Cluet-Dennetiere S, Delavenne J, Belaouni H, Fourcade C. Ann Biol Clin 2002, 60(1) : 47-55.

Formation continue conventionnelle des directeurs de laboratoires privés d'Analyses de Biologie Médicale. Cahier de formation. Biochimie. Tome I. Validation de techniques pp 17-36, 1992.

Guidelines for the evaluation of analyzers in clinical chemistry ECCLS Document 3 n°2. Haeckel R, Busch EW, Jennings RD, Truchaud A (1986) Beuth Verlag Berlin.

Incertitude de mesure. C. Giroud, J. Arnaud, A. Vassault et les membres du sous-groupe 2 analytique du groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale ». Ann Biol Clin 2010 ; 68 (Hors série no 1) : 237-246

Intervalles de référence : détermination et vérification. J. Henny, J. Arnaud, C. Giroud, A. Vassault et les membres du sous-groupe 2 analytique du groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale ». Ann Biol Clin 2010 ; 68 (Hors série no 1) : 305-313

Laboratory evaluation of the Sysmex SE-9500 automated haematology analyser. Peng L, Gao X, Jiang H, Peng Z, Su J. Clin Lab Haematol. 2001, 23(4) : 237-42.

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

Performance evaluation of the Abbott Cell-Dyn 1800 automated hematology analyzer. Kendall R, Benoit E, Bogiages J, Bordenkircher R, Caple K, Chen LL, Cheng T, Hoshino T, Kelley J, Ngo N, Schisano T, Stevenson P, Tsou C, Yang JP. Lab Hematol. 2003, 9(3) : 143-52.

Performance evaluation of the Coulter LH 750 Hematology Analyser. Fernandez T., Bessert Domack I., Montes D., Pineiro R., Landrum E., Vital E. Laboratory Hematology, 7 : 217-228.

Platelet count and parameters determined by the Bayer ADVIA 120 in reference subjects and patients. Giacomini A, Legovini P, Gessoni G, Antico F, Valverde S, Salvadego MM, Manoni F. Clin Lab Haematol. 2001, 23(3) : 181-6.

Platelets counts and flagging rates from the LH 750 Hematology Analyser compared with the ICSH/ISLH platelet reference method and the GEN.S Hematology Analyser. Keeney M, Brown W., Chen Yee I. Laboratory Hematology, 7 : 204-210.

Procédure de validation d'une technique. Spectra Biologie 1997, 16 (90) : 43-50.

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

Selection and implementation for coagulation instruments/reagents in a multiple hospital/clinic network. Cary E. R., Fink M., Stokes S. L., Simmons V. L., Kaczor D. A., Harmon S., Qualres L., Escobar C. Joiner Maier D. *Blood Coag Fibrin* 2000, 11(7) : 599-608.

Spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques. (Quality specifications and allowable standards for validation of methods used in clinical biochemistry) Vassault A, Grafmeyer D, de Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1999 Nov-Dec, 57(6) : 685-95.

Standardisation of platelet counting accuracy in blood banks by reference to an automated immunoplatelet procedure: comparative evaluation of Cell-Dyn CD4000 impedance and optical platelet counts. Johannessen B, Haugen T, Scott CS. *Transfus. Apheresis Sci.* 2001, 25(2) : 93-106.

The Advia 120 red blood cells and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron-deficiency anemia. Kotisaari S, Romppanen J, Penttila I, Punnonen K. *Eur J Haematol.* 2002, 68(3) : 150-6.

The evaluation kit for clinical chemistry: a practical guide for the evaluation of methods, instruments and reagents kits. White GH and Fraser CG. *J. of Automatic Chemistry* 1984, 6(3) : 122-148.

The new hematology analyzer Sysmex XE-2100: performance evaluation of a novel white blood cell differential technology. Ruzicka K, Veitl M, Thalhammer-Scherrer R, Schwarzingler I. *Arch Pathol Lab Med.* 2001, 125(3) : 391-6.

Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse. A. Vassault, A. Hulin, E. Chapuzet, J. Arnaud, C. Giroud et les membres du sous-groupe 2 analytique du groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale ». *Ann Biol Clin* 2010 ; 68 (Hors série no 1) : 247-294.

Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology, Holger *et al.*, *J. Clin. Virology* 40 (2007): 93–98.

White blood cell flagging rates of the Coulter LH 750 Hematology Analyser compared with the GEN.S Hematology Analyser. Chen Yee I., Keeney M., Johnson K., Wolfe N., Brown W., Kaplan S. *Laboratory Hematology*, 7 : 211-216.

Workflow improvement with random access and enhanced flagging on the new Coulter LH 750 Hematology Analyser. Brown W., Kaplan S., Keeney M., Johnson K., Wolfe N., Chen Yee I. *Laboratory Hematology*, 7 : 229-235.

### Sites Internet

James O. Westgard, PhD, [www.westgard.com](http://www.westgard.com)

Ph. Marquis, [www.multipqc.com](http://www.multipqc.com).

Cofrac, Comité Français d'Accréditation, [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)

AFNOR, Association Française de Normalisation, [www.afnor.fr](http://www.afnor.fr)

HAS, Haute Autorité de Santé [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

EA, European co-operation for Accréditation, [www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org)