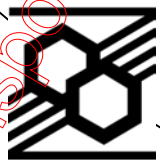


GUIDE DE VALIDATION DES METHODES EN BIOLOGIE MEDICALE

Document LAB GTA 04

Révision 00 – Juin 2004

cofrac



Dispositions valides au jour de l'impression

SOMMAIRE

1. OBJET DU DOCUMENT.....	3
2. DEFINITIONS.....	3
3. DOMAINE D'APPLICATION.....	4
4. MODALITES D'APPLICATION.....	4
5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS.....	4
6. MODALITE DE REEXAMEN.....	4
7. AVANT-PROPOS.....	5
8. ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF.....	6
9. QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE ?.....	10
10. CHOIX PREALABLE A LA VERIFICATION.....	11
11. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE - CONTENU DU DOSSIER.....	12
11.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUANTITATIVE.....	12
11.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE.....	13
12. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE - CONTENU DU DOSSIER.....	14
12.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUALITATIVE.....	14
12.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE.....	14
13. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF) - CONTENU DU DOSSIER.....	15
13.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF.....	15
13.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE.....	16
14. MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE.....	17
15. EXEMPLES METHODOLOGIQUES.....	17
15.1. EVALUATION DE LA REPETABILITE.....	18
15.2. EVALUATION DE LA REPRODUCTIBILITE (FIDELITE INTERMEDIAIRE).....	18
15.3. EVALUATION DE LA JUSTESSE.....	19
15.4. EXEMPLE D'APPLICATION – APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE.....	20
15.5. EVALUATION DE LA CONTAMINATION.....	20
15.6. EVALUATION DE LA LIMITE DE DETECTION ET DU SEUIL DE QUANTIFICATION.....	21
15.7. EVALUATION DE LA LINEARITE.....	22
15.8. EVALUATION DE LA STABILITE.....	22
15.9. CORRELATION DE METHODES.....	22
15.10. VERIFICATION DES VALEURS DE REFERENCE.....	23
16. ANNEXE I - REACTOVIGILANCE.....	24
17. ANNEXE II - TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS.....	27
17.1. TERMINOLOGIE.....	27
17.2. AUTRES DEFINITIONS.....	27
18. ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE.....	36

1. OBJET DU DOCUMENT

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

Le présent guide technique définit les recommandations résultant de l'application de la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189 aux domaines de compétences recensées au chapitre 3.

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

Ce document constitue un guide pratique d'aide à la validation des méthodes afin de préciser les recommandations en termes de vérification de performances sur site d'une technique analytique (ou d'un couple analyseur/réactif) dans le cadre spécifique des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale.

Ce guide s'adresse :

- aux Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) engagés dans une démarche d'accréditation Cofrac selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189, dans ce cas il représente des recommandations fortes, toute autre démarche argumentée et documentée étant cependant acceptable ;
- aux auditeurs du Cofrac et constitue une base d'harmonisation à leur usage ;
- aux fournisseurs pour comprendre et aider les biologistes dans leur démarche.

Ce guide a pour but d'explicitier ce qui est entendu par les aspects de "validation de méthode" dans le cadre précis des laboratoires d'analyses de biologie médicale (LABM). Dans ce domaine, la problématique de la "validation" repose sur le fait que les méthodes d'analyses ne sont pas issues de normes publiées, mais proposées souvent par les fournisseurs et fabricants, avec notamment l'utilisation d'automates et kits de réactifs. Cette "validation" s'inscrit alors dans une vérification des performances annoncées par le fabricant ou souhaitées par le laboratoire, lors de la mise en application (routine) dans son laboratoire du couple automate-réactif, afin de lui apporter confirmation et preuve de la validité des résultats rendus (phase de "qualification"), par rapports à ses propres besoins, c'est-à-dire ceux de leurs clients. Cette validation est à prendre en termes de maîtrise du processus analytique, au niveau initial.

2. DEFINITIONS

Les définitions des termes utilisés dans le présent document se trouvent au chapitre 17, en annexe II, "TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS".

Les références sur lesquelles s'appuie ce guide se trouvent listées au chapitre 18, en annexe III, "BIBLIOGRAPHIE".

3. DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique de la validation des méthodes en Biologie Médicale, tel que précisé au chapitre 1 – Objet du document, et ci-après dans le chapitre 7 – Avant-propos et le chapitre 8 - Etat des lieux – Contexte réglementaire et normatif. En particulier, le présent guide s'attache uniquement à la validation des techniques concernant la phase analytique, en excluant la phase pré-analytique: la "validation" du prélèvement et la conservation du prélèvement en termes de préservation de son intégrité, bien qu'essentiels, ne sont pas abordés dans le présent document, ce qui ne signifie pas que les laboratoires ne doivent pas s'y attacher en prenant des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation.

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

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

4. MODALITES D'APPLICATION

Ce guide est applicable à compter du 15/06/2004.

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

5. SYNTHÈSE DES MODIFICATIONS

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

6. MODALITE DE REEXAMEN

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

7. AVANT-PROPOS

La validation d'une technique doit s'envisager en fonction des différents contextes auxquels est confronté le biologiste ainsi que des différentes spécialités de la Biologie Médicale. "*La validation est toujours un équilibre entre les coûts, les risques et les possibilités techniques*" (extrait de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.3 note 3), et le temps. On entend par validation, "[...] *la confirmation par examen et apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation déterminée sont remplies.*" (extrait de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.1).

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

Dans un deuxième temps, la validation proprement dite est effectuée. Le champ et la profondeur de cette évaluation dépendent des circonstances et de chaque cas particulier. Cette validation 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 validation est une confirmation de performances d'une technique déjà en cours d'utilisation.

Les Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale font un usage important de coffrets réactifs et systèmes commerciaux. Les critères fondamentaux de caractérisation de la méthode (exemple dossier de marquage CE) sont en principe déterminés par le fabricant. Si ces coffrets réactifs et systèmes sont utilisés strictement dans les conditions préconisées par le fabricant, les méthodes qui y font appel sont prises en compte comme des méthodes "normalisées". Dans ce cas, le laboratoire doit uniquement valider (vérifier) la mise en application dans son environnement propre par rapport à des critères et des limites acceptables (spécifications) qu'il s'est fixé, pour correspondre aux besoins de ses clients. Il n'est en effet pas demandé aux laboratoires d'effectuer de nouveau la caractérisation approfondie des techniques ou des automates, études qui ont déjà été réalisées par le fournisseur ou le fabricant, qui annoncent les performances de leurs méthodes, mais qui ne connaissent pas les besoins du laboratoire.

NOTE : De la définition de la validation découle la méthodologie de la conduite d'un processus de validation.

- "Les prescriptions particulières" identifient les caractéristiques, i.e. les spécifications préalablement définies sur certains critères également choisis, conditions qui doivent être remplies pour déclarer la méthode valide.

Exemple : Pour l'analyse des triglycérides, le laboratoire peut choisir comme étant l'un des paramètres à valider le CV de répétabilité, avec pour limite acceptable une valeur de 3,2 % (critère de performance), cette valeur est la spécification sur ce paramètre et l'un des critères qui doivent être validés.

- "Examen et apport de preuves objectives" sont constitués par la recherche de références bibliographiques et/ou la mise en œuvre expérimentale de la méthode, pour aboutir à sa caractérisation, sur les paramètres/critères prédéfinis.

Exemple : Pour la réalisation de l'analyse des triglycérides, la bibliographie indique que, sur tel automate, après étude de la documentation du fournisseur, le CV de répétabilité annoncé est de 3,0 %. Le laboratoire mène une étude de répétabilité et passe un échantillon sur son automate 30 fois par exemple et obtient, après compilation de ses données, un CV de 2,8 %.

-"la confirmation" et "sont remplies" indiquent l'étape de confrontation des données bibliographiques et expérimentales (la caractérisation de la méthode) avec les spécifications prédéfinies: il s'agit de la dernière étape du processus de validation, étape de vérification, de déclaration sur la validation de la méthode, de prise de décision et de conclusion.

Exemple : Pour l'analyse des triglycérides, le laboratoire compare les CV obtenus et celui fixé, soit 3,0 % et 2,8 %, CV inférieur à celui préalablement défini (spécification de 3,2 %) : il peut déclarer sa méthode valide, pour ce paramètre/critère de la répétabilité.

8. ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF

Ce guide sert à établir un protocole d'évaluation des techniques utilisées dans un laboratoire d'analyses de biologie médicale. Cette évaluation permet de constituer le dossier de validation des techniques utilisées dans le laboratoire.

1. Cette validation est une exigence de la norme NF EN ISO/CEI 17025 dans son paragraphe § 5.4 traitant des "*Méthodes d'essai et d'étalonnage et validation des méthodes*", et plus précisément au § 5.4.5 Validation des méthodes, qui est définie au § 5.4.5.1 : "*La validation est la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies.*"

Le paragraphe 5.4.2 indique que : "*Lorsque le client ne spécifie pas la méthode à utiliser, le laboratoire doit sélectionner des méthodes appropriées qui ont été publiées dans des normes internationales, régionales ou nationales, par des organisations techniques de renom ou dans des textes ou revues scientifiques spécialisés, ou spécifiées par le fabricant de l'équipement. Des méthodes développées par le laboratoire ou des méthodes adoptées par le laboratoire peuvent également être employées si elles conviennent à l'usage prévu et qu'elles ont été validées. Le client doit être informé de la méthode choisie. Le laboratoire doit confirmer qu'il peut correctement appliquer des méthodes normalisées avant de les mettre en œuvre pour des essais ou des étalonnages. En cas de changement de la méthode normalisée, la confirmation doit être répétée.*"

Cette exigence figure dans le Guide de Bonnes Exécution des Analyses de Biologie Médicale (Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicales) : Définition des termes Evaluation (§ 2.6), Qualification (§ 2.11), Transférabilité (§ 2.13), Valeurs de référence (§2.14), Validation (§ 2.15) ; dans le § 1.1c concernant les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits fongibles et les réactifs "... *s'assurer que les installations, l'équipement et l'instrumentation du laboratoire sont fonctionnels.*"

Dans la nouvelle norme NF EN ISO 15189, la validation est retrouvée au niveau du § 5.3.2, § 5.3.4 et son point. h) mais surtout dans le paragraphe 5.5.1 : "*Le laboratoire doit utiliser*

des procédures analytiques, incluant celle de sélection et d'aliquotage d'échantillons, qui correspondent aux besoins des utilisateurs des prestations de laboratoire et qui conviennent à chaque type d'analyse. Les procédures analytiques conseillées sont celles qui ont été publiées dans des manuels bien établis et faisant autorité, dans des textes et des journaux revus par des experts ou des recommandations régionales, nationales ou internationales. Si des procédures internes sont utilisées, elles doivent être validées de manière appropriée pour l'utilisation prévue et parfaitement documentées.", et le paragraphe 5.5.2 : "Le laboratoire doit utiliser uniquement des procédures validées pour s'assurer qu'elles conviennent à l'utilisation prévue. Les validations doivent être aussi approfondies que nécessaire pour répondre aux besoins de l'application ou du domaine d'application concerné(e). Le laboratoire doit enregistrer les résultats obtenus et la procédure utilisée pour la validation.

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 du laboratoire ou une personne désignée doit être réalisée à l'origine à intervalles définis. Ces revues sont généralement effectuées une fois par an. Ces revues doivent être documentées." Le paragraphe suivant (§ 5.5.3) développe cet aspect de validation en précisant "[...] 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."

Le paragraphe 5.3.2 quant à lui indique que "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.

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."

2. La notion de validation fait partie des questions les plus fréquemment posées à James O. WESTGARD, PhD (www.westgard.com), référent international en matière de Contrôle de Qualité en Biologie Médicale et qui a édicté leurs règles d'exploitation du même nom : Why is it necessary to validate method performance when the manufacturer has already performed extensive studies? Dans la réponse, il est rappelé que : "method validation studies are actually required by the CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments,) regulations".

Note : un amendement pour l'amélioration des laboratoires d'analyses médicales (CLIA) a été voté par le Congrès des USA en 1988. Cet amendement établit des standards de qualité pour tous les tests de laboratoires. L'agence américaine de contrôle pharmaceutique et alimentaire (Food and Drug Administration, FDA) définit les critères du CLIA. Ils doivent être régulièrement revus.

La nécessité de la validation des techniques s'inscrit aussi dans la mise en application de la directive européenne sur le diagnostic *in vitro* (directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* du 27.10.1998) et le 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 prévues à l'article 1er, paragraphe 2, point b), comme spécifié par le fabricant compte-tenu

de l'état de la technique généralement reconnu" ("state of the art" dans la version anglaise). (Voir chapitre 16, Annexe I - Réactovigilance).

Remarque 1 : L'état de l'art (ou état de la technique généralement reconnu) est une notion vague dont la mention a pour but d'indiquer aux fabricants qu'il n'est pas approprié de développer des techniques globalement jugées obsolètes en terme de performances, au regard de l'ensemble des autres techniques présentes sur le marché pour un même paramètre. La seule exigence imposée aux fabricants est qu'ils sont tenus d'atteindre les performances qu'ils annoncent. Ces performances devront donc être impérativement réclamées au fournisseur par le biologiste, si ce dernier ne trouve pas de façon suffisamment explicite au niveau de la documentation. Pour les produits évalués par les organismes notifiés (réactifs et produits listés dans l'annexe II de la directive), les certificats émis par les organismes notifiés ont une durée maximum de 5 ans. Il faut donc être très attentif sur les performances retenues par les fournisseurs comme étant représentatives de l'état de l'art. Le délai de 5 ans pour la réévaluation des produits de l'annexe II peut s'avérer trop long pour certaines techniques très évolutives. La durée du marquage CE pour les réactifs et produits hors annexe II n'est pas explicite et peut conduire à trouver sur le marché des produits pour lesquels l'état de l'art a sensiblement évolué depuis leur mise sur le marché.

Remarque 2 : La validation ne constitue pas un "doublet" avec les études approfondies effectuées par les fournisseurs. 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 pour les patients. Beaucoup de facteurs peuvent affecter les performances d'une méthode, tels que les différents lots de calibrateurs et de réactifs, les changements dans les consommables et de fournisseurs d'accessoires, les changements selon les lots de fabrication des instruments et/ou des réactifs, les conditions d'expédition et de stockage, les conditions ambiantes locales, la qualité de l'eau, la stabilité de l'alimentation électrique et bien évidemment la compétence ("habileté, dextérité") de l'utilisateur. Cette validation est une validation de mise en application, ou encore une vérification de performance sur site.

3. La validation apparaît alors dans cet environnement comme un élément incontournable. En effet, outre la compétence du Biologiste, et l'utilisation et la correcte gestion des contrôles de Qualité (CQI, CQE), elle permet d'assurer la qualité de la prestation d'analyse et la fiabilité du résultat. En outre cette validation sera mise à profit pour estimer les incertitudes de mesures analytiques du laboratoire, à partir des performances analytiques des méthodes, notion présente dans le GBEA, § 4. Expression des résultats et comptes rendus d'analyses, § 4.1. Expression des résultats : *"L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige. Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent."*

Cette estimation de l'incertitude de mesure se retrouve dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 au § 5.4.6 "Estimation de l'incertitude de mesure", avec au § 5.4.6.2 "Les laboratoires d'essais doivent aussi posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure. Dans certains cas, la nature de la méthode d'essai exclut un calcul rigoureux, métrologiquement et statistiquement valable, de l'incertitude de mesure. Dans de tels cas, le

laboratoire doit au moins tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et faire une estimation raisonnable, tout en assurant que la manière d'en rendre compte ne donne pas une impression erronée de l'incertitude. Une estimation raisonnable doit se baser sur une connaissance de la performance de la méthode et sur le domaine de la mesure et faire appel, par exemple, à l'expérience acquise et aux données de validation antérieures."

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

Il faut enfin remarquer que la notion d'information de bénéfice-risque pour le patient est une disposition réglementaire, conformément au décret 2002-637 du 29 avril 2002 relatif à l'accès aux informations personnelles détenues par les professionnels de la santé ; chaque patient peut avoir accès à son dossier médical directement ou par l'intermédiaire d'un médecin qu'il désigne. De ce fait le biologiste doit pouvoir mettre à disposition du prescripteur et du patient, en cas de besoin, une approche dans l'évaluation des incertitudes de mesure.

Dispositions valides au jour de l'impression

9. QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE ?

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

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

1. Les analyses de type quantitatif vrai :

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

2. Les analyses de type qualitatif :

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

3. Les analyses assimilables à des analyses quantitatives (semi-quantitatives) :

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

Remarques :

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

Selon l'appartenance de la méthode à un de ces trois types d'analyse ainsi défini, les informations pertinentes à connaître, paramètres, sont exposées dans le tableau ci-dessous :

Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode assimilable au quantitatif (semi-quantitatif)
<i>Spécificité</i>	<i>Spécificité</i>	<i>Spécificité</i>
<i>Fidélité (répétabilité et reproductibilité)</i>	NA*	<i>Répétabilité et reproductibilité</i>
<i>Justesse (approche de la)</i>	NA*	NA*
<i>Domaine d'analyse</i>	NA*	NA*
<i>Sensibilité :</i> <i>Limite de détection</i> <i>Limite de quantification</i>	<i>Sensibilité diagnostique</i>	<i>Sensibilité diagnostique</i>
<i>Linéarité</i>	NA*	NA*
<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>	<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>	<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>
<i>Stabilité</i>	<i>Stabilité</i>	<i>Stabilité</i>
<i>Robustesse</i>	<i>Robustesse</i>	<i>Robustesse</i>
<i>Valeurs de référence « ex- valeurs normales »</i>	NA*	NA*
<i>Interférences</i>	<i>Interférences</i>	<i>Interférences</i>
<i>Corrélation avec méthode de référence **</i> <i>Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire **</i>	<i>Corrélation avec méthode de référence **</i> <i>Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire **</i>	<i>Corrélation avec méthode de référence **</i> <i>Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire **</i>

* : Non applicable

** : Chaque fois que cela est nécessaire

NOTE 1 : La notion de justesse est abordée par l'"approche" de la justesse. En absence d'étalons primaires et/ou de matériaux de référence certifiés (CRM) pour la plupart des analytes, la notion de justesse en biologie médicale est d'approche difficile, voire relative. Le laboratoire pourra utiliser les "calibrants" des fournisseurs, les données du Contrôle de Qualité Externe (CQE), ou encore la confrontation externe du Contrôle de Qualité Interne (CQI) pour approcher cette justesse. Il convient cependant de bien tracer les raccordements pour les techniques, quand cela est possible.

NOTE 2 : la caractérisation des paramètres de répétabilité et de reproductibilité (fidélité) d'une part, et de justesse d'autre part, constituent deux composantes de l'incertitude de mesure, dans le calcul d'incertitude globale selon l'approche ISO 5725. Associées aux composantes d'étalonnage, le cas échéant, et à d'autres composantes, l'incertitude globale peut alors être déterminée (voir chapitre 15.4, Exemple d'application).

10. CHOIX PREALABLE A LA VERIFICATION

- DES CRITERES DE PERFORMANCE ET LIMITES D'ACCEPTABILITE DE LA METHODE,
- DES VERIFICATIONS EXPERIMENTALES,
- DES VERIFICATIONS BIBLIOGRAPHIQUES.

A ce stade, il est fondamental de souligner que :

- Le choix des critères de performances (paramètres) et limites d'acceptabilité (spécifications, seuils) associés d'une méthode doit se faire PREALABLEMENT à l'étude de validation,
- Ce choix est du ressort du biologiste,
- Ce choix doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. Il peut s'appuyer sur des recommandations de l'ANAES, de sociétés savantes ou de groupes de travail, ou issues de conférences de consensus, sur des publications scientifiques, ses propres valeurs limites utilisée pour la gestion du CQI, sur des résultats de campagnes d'inter-comparaison, etc.,
- Les limites d'acceptabilité ainsi choisies doivent être adaptées et notifiées pour chacun des niveaux et pour chacun des analytes qui seront contrôlés dans l'étude,
- Les recommandations de l'AFSSAPS en matière de réactifs de laboratoires doivent être respectées.

Ces 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 (il est généralement établi à partir des résultats de contrôle de qualité intra et/ou inter laboratoires).

Exemple : un des critères de performance (paramètres) et limites acceptables sont par exemple en Biochimie, les CV de reproductibilité et leurs valeurs limites associées, pouvant provenir des recommandations de la SFBC par exemple, pour des analyses quantitatives (article de A. VASSAULT et col., 1999, Annales de Biologie Cliniques; cf. chapitre 18, Annexe III – Bibliographie).

11. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE - CONTENU DU DOSSIER

La vérification 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.

11.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUANTITATIVE

Dans ce cadre, le dossier doit apporter les éléments de vérification suivants, par recherche bibliographique et/ou par vérification sur site :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site
Spécificité	Oui	Non
Fidélité (répétabilité et reproductibilité)	Oui	Oui
Justesse (approche de la)	Oui	Oui, si possible
Domaine d'analyse	Oui	Si besoin
Sensibilité : Limite de détection Limite de quantification	Oui	Si besoin
Linéarité	Oui	Si besoin et si possible
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	Oui	Oui, pour les paramètres sensibles
Stabilité	Oui	Si besoin
Robustesse	Oui	Non
Interférences	Oui	Si besoin
Valeurs de référence « ex- valeurs normales »	Oui	(plus tard)
Corrélation avec méthode de référence	Oui	Non
Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo	Oui (si existe)	Oui (si possible)
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ou d'inaptitude de la méthode ou du système analytique.		

Certains de ces éléments peuvent éventuellement être vérifiés au début de la mise en œuvre en routine de la méthode (la reproductibilité notamment).

Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement identifiés et accessibles.

11.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE

Pour maîtriser pleinement une technique, l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles de qualité internes (CQI) et externes (EEQ) est indispensable.

Leur exploitation statistique permet de vérifier et de confirmer les éléments suivants :

- **fidélité intermédiaire (reproductibilité interne au laboratoire),**
- **justesse**, ou du moins en faire une approche en l'absence de matériau de référence,
- **vérification (et l'adaptation éventuelle) des valeurs de références** de la méthode pour la population du laboratoire.

Note : La fidélité intermédiaire est le terme normatif utilisé, notamment dans les autres domaines analytiques, correspondant au terme "reproductibilité" employé couramment en laboratoire d'analyses de Biologie Médicale (reproductibilité interne au laboratoire). En toute rigueur la notion de reproductibilité s'applique à plusieurs laboratoires (cf. ISO 5725, partie 2 et 3). Cependant dans le domaine de la biologie médicale, on l'entend par la variation interne d'un laboratoire.

12. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE - CONTENU DU DOSSIER

12.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE 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 forcément insuffisant, cela n'est possible que dans les laboratoires importants (techniques de RAI, de groupage, de sérologies, etc.).

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.

Dans ce cadre, le dossier doit apporter les éléments de vérifications suivants :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site
<i>Spécificité</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Sensibilité diagnostique</i>	<i>Oui</i>	<i>Si besoin</i>
<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
<i>Stabilité</i>	<i>Oui</i>	<i>Si besoin</i>
<i>Robustesse</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Corrélation avec méthode de référence</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo</i>	<i>Oui (si existe)</i>	<i>Oui (si possible)</i>
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ou d'inaptitude de la méthode ou du système analytique.		

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

NOTE à propos de l'étude de contamination :

- 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 (β -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 au moindre doute quant au fonctionnement correct du système automatisé, et en particulier du système de lavage et/ou de décontamination.

Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement identifiés et accessibles.

12.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE

Pour maîtriser pleinement une technique, là aussi, l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles de qualité internes (CQI) et externes (CQE) est indispensable.

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

- Par l'étude des CQI et CQE (performances du laboratoire, comparaison avec les autres méthodes),
- Par le suivi des informations de réactovigilance (cf. chapitre 16, Annexe I - Réactovigilance).

13. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF) - CONTENU DU DOSSIER

Ce cas de figure est très proche de celui des méthodes purement qualitatives, mais certaines caractéristiques supplémentaires peuvent être vérifiées sur site.

13.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF

S'agissant de méthodes fournissant un résultat final de type qualitatif, les laboratoires se heurtent à la même difficulté pour obtenir des échantillons positifs (ou négatifs) en nombre suffisant pour vérifier la spécificité et la sensibilité diagnostique.

La vérification bibliographique critique prend donc ici toute son importance. Le fabricant doit donc fournir ces éléments en s'appuyant sur des études menées par des experts indépendants.

Inversement, la vérification expérimentale sur site est plus réduite que pour une méthode quantitative, mais elle permet néanmoins de vérifier certains éléments.

Dans ce cadre, le dossier doit apporter les éléments de vérifications suivants :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site
<i>Spécificité</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Fidélité (répétabilité et reproductibilité)</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
<i>Sensibilité diagnostique</i>	<i>Oui</i>	<i>Si besoin</i>
<i>Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>
<i>Stabilité</i>	<i>Oui</i>	<i>Si besoin</i>
<i>Robustesse</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Interférences</i>	<i>Oui</i>	<i>NA</i>
<i>Corrélation avec méthode de référence</i>	<i>Oui</i>	<i>Non</i>
<i>Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo</i>	<i>Oui (si existe)</i>	<i>Oui (si possible)</i>
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ou d'inaptitude de la méthode ou du système analytique.		

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

NOTE à propos de l'étude de contamination :

- Cette étude de contamination inter-échantillons est à mener pour tous les systèmes automatisés,
- Elle porte surtout sur les paramètres réputés sensibles à ce genre d'influence (β -HCG, Antigène HBs, etc.),
- Cette étude est à répéter au moindre doute quant au fonctionnement correct du système automatisé, et en particulier du système de lavage et/ou de décontamination.

Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement identifiés et accessibles.

NOTE à propos de la robustesse : l'influence de l'incubation peut avoir des conséquences directes sur le résultat, il peut être recommandé de vérifier que l'incubateur atteint bien le point de consigne sans dépassement supérieur lors de la stabilisation, de vérifier que sur une microplaque, les bords de celle-ci ne donnent pas des résultats différents de ceux des puits du centre.

13.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE

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

- Par la comparaison avec les résultats obtenus par d'autres méthodes complémentaires ou par des techniques de référence mises en œuvre pour vérifier un premier résultat.
- Par l'étude des CQI et CQE (performances du laboratoire, comparaison avec les autres méthodes)
- Par le suivi des informations de réactovigilance (cf. chapitre 16, Annexe I - Réactovigilance).

La reproductibilité (interne au laboratoire ou fidélité intermédiaire) doit également être régulièrement vérifiée, surtout 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 régulièrement réévaluée au fil de l'utilisation successive des différents lots.

14. MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE

Cette partie du guide est importante car si beaucoup d'informations et résultats sont collectés, ceux-ci doivent faire l'objet d'un document cohérent et clair, avec une acceptation formelle par le laboratoire de la validité opérationnelle de ses techniques, c'est-à-dire une décision ou déclaration quant à la validation de la méthode, proprement dit. Le laboratoire peut présenter ses dossiers suivant le schéma suivant, qui pourra être celui de sa procédure ou de sa méthodologie :

- Présentation de la technique, de l'appareillage et du mode opératoire. But de la vérification/validation. Domaine d'application,
- Détermination des critères de performances (paramètres) à vérifier (cf. chapitres 10,11, 12 et 13),
- Détermination des spécifications ou limites acceptables (objectifs à atteindre) de ces critères à remplir (cf. chapitre 10, Choix préalable à la vérification),
- Vérification bibliographique,
- Mise en œuvre – Expérimentations (cf. chapitre 15, 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.

15. EXEMPLES METHODOLOGIQUES

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

- Répétabilité,
- Reproductibilité interne au laboratoire (fidélité intermédiaire),
- Justesse,
- Contamination inter-échantillons,
- Limite de détection, seuil de quantification,
- Linéarité,
- Stabilité,
- Corrélation de méthodes,
- Vérification des valeurs de référence, ...

NOTE : Après la présentation des paramètres de fidélité (reproductibilité interne) et de justesse, est présenté en exemple d'application, une approche de l'estimation de l'incertitude de mesure.

Les laboratoires peuvent s'en inspirer. D'autres démarches peuvent être possibles, elles devront être justifiées.

Remarque : Ce dossier peut dans certains cas être constitué au fil du travail du laboratoire. Dans ce cas la période doit être la plus courte possible, le rappel éventuel de résultats de patient doit être documenté. Il est souhaitable de prévoir une sérothèque particulière 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 en parallèle de corrélation.

NOTE : Dans le cadre de l'accréditation, le laboratoire doit présenter au COFRAC, deux éléments différents :

la procédure qui décrit les lignes directrices et les modalités du processus qu'il suit pour la validation de ces méthodes en général (cf. ce guide),

les dossiers de validation de ces méthodes proprement dites, qui sont des enregistrements : éléments de preuve, bibliographie, choix et spécifications, données brutes, calculs, conclusions quant à la validation du biologiste, ...

15.1. EVALUATION DE LA REPETABILITE

L'essai de répétabilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse dans des conditions standardisée : même opérateur, même lots et réactifs, même instrument, même calibrateur. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales.

En pratique, cet essai est réalisé au cours d'une même série. Il est recommandé d'utiliser plusieurs niveaux de concentration ("bas", "moyen", "élevé"). Ces niveaux sont choisis en fonction des valeurs physiopathologiques. Le nombre de détermination dépend de la cadence de l'automate à valider, du coût des réactifs... Cet effectif peut être compris entre 10 et 30 (5 si technique manuelle et/ou réactif très onéreux). La valeur statistique des résultats obtenus dépend de ces effectifs.

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. Pour mémoire, le CV est,

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

Le CV ainsi calculé est une expression simplifiée de la répétabilité de la méthode en %. Cette façon d'estimer la répétabilité est d'usage courant en laboratoires d'analyses de Biologie Médicale. La définition stricte et le mode d'expression exacte de la fidélité se trouvent dans la norme ISO 5725-2. Pour la vérification, le CV est comparé au CV% limite admissible, préalablement choisi (cf. chapitre 10, Choix préalable à la vérification).

Ce calcul est répété pour chacun des échantillons (sérum, urine, LCR,...) soumis à analyse ou sur les échantillons du Contrôle de Qualité Interne (CQI). Pour un même analyseur, ce calcul doit être effectué pour chaque analyte à mesurer : substrats, activité catalytiques, immuno-dosages.

15.2. EVALUATION DE LA REPRODUCTIBILITE (FIDELITE INTERMEDIAIRE)

L'essai de reproductibilité (interne au laboratoire, ou fidélité intermédiaire) consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse dans des conditions différentes : l'opérateur, les lots de réactifs, les calibrateurs et courbes de calibration peuvent être des données variables, correspondant à une activité normale et quotidienne du laboratoire, pour évaluer la fidélité intermédiaire en routine.

En pratique, cet essai est réalisé au cours de séries successives, en général 1 à 2 par jour, par le passage des échantillons de Contrôle de Qualité Interne (CQI) quotidiens.

15 à 30 déterminations minimum, selon les techniques sont nécessaires pour chacun des types d'échantillons.

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 ainsi calculé est comparé au CV limite admissible.

Le CV obtenu représente la reproductibilité (interne au laboratoire) de la méthode, exprimé en %. De même, la définition stricte et le mode d'expression exacte de la reproductibilité interne (ou fidélité intermédiaire) se trouvent dans la norme ISO 5725-2. Cette norme présente en outre des méthodes de décomposition de la reproductibilité interne pour permettre d'évaluer l'importance et la part de chaque facteur de variabilité.

N.B. : Pour des raisons pratiques, cette évaluation peut éventuellement être menée après l'installation en routine du système analytique et la mise en œuvre de la méthode, si et seulement si, les autres spécifications sont bien atteintes.

Note : la répétabilité et la reproductibilité (interne au laboratoire ou fidélité intermédiaire) apparaissent donc comme les 2 extrêmes de la fidélité, au sein du laboratoire. Il convient que ces deux extrêmes soient les plus proches possibles, signe de robustesse de la méthode.

15.3. EVALUATION DE LA JUSTESSE

En biologie médicale, il n'existe pas, à de rares exceptions près, d'échantillons de contrôles raccordés sur le plan métrologique à des étalons internationaux ; il est donc impossible de parler *stricto sensu* de "valeur vraie" et par là-même de justesse.

En absence d'échantillon certifié, on peut utiliser des échantillons utilisés pour des EEQ réguliers (et dont la commutabilité a été vérifiée ou prouvée), et pour lesquels la valeur cible retenue est la moyenne des résultats cumulés de l'ensemble des utilisateurs de la méthode pour le lot en cours. Il est souhaitable (mais pas obligatoire) d'utiliser des échantillons de différentes origines commerciales (différente du couple analyseur/technique).

La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de répétabilité et/ou de reproductibilité 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 :

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

Cette justesse peut aussi être contrôlée à l'aide des valeurs de référence qui peuvent être comparées à celles de la littérature.

Le concept de justesse et les méthodes d'évaluation du biais sont développées dans l'ISO 5725-4.

15.4. EXEMPLE D'APPLICATION – APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE

Les données de 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'analyse. En effet, la caractérisation des paramètres de fidélité (répétabilité ou reproductibilité interne) d'une part, et de justesse (biais) d'autre part, constitue deux composantes de l'incertitude de mesure, dans un calcul d'incertitude globale selon l'approche ISO 5725. Pour cette approche de calcul, on prend le cas de composantes indépendantes.

Ainsi, si u_1 est la composante d'incertitude due à la fidélité, celle-ci est approchée par l'écart-type de reproductibilité :

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

Pour ce qui est de la composante d'incertitude due à la justesse, u_2 , elle est donnée par la relation :

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

En l'absence de matériaux de référence, *i.e.* d'"étalon", de valeur "vraie" connue (avec une incertitude associée, u_{ref}), le laboratoire peut utiliser pour estimer la composante d'incertitude due à la justesse, les données de Contrôle de Qualité Externe (CQE). Dans ce cas, u_2 peut alors s'exprimer différemment.

Ces composantes d'incertitudes, combinées le cas échéant à celle de matériau de référence (u_{ref}), celles d'étalonnage (u_{et}) ainsi qu'aux 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,

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

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,

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

15.5. EVALUATION DE LA CONTAMINATION

Une étude des contaminations inter-échantillon peut être effectuée de la façon suivante : Après rinçage de l'appareil, un échantillon élevé (ou positif fort) est analysé 3 fois consécutivement (H1, H2, H3, de moyenne H) suivi d'un échantillon bas également passé 3 fois (B1, B2, B3).

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 calculée selon la formule suivante :

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

NB : Compte tenu de l'importance clinique de certains paramètres, le niveau de la contamination doit être maintenue à zéro ou entraîner des règles de repassage argumentées.

Remarque : Cette méthode de calcul ne peut pas s'appliquer à la micro plaque et l'EIA. Mais il est possible de vérifier que les valeurs de DO des échantillons négatifs sont bien négatifs, de même pour les échantillons positifs.

15.6. EVALUATION DE LA LIMITE DE DETECTION ET DU SEUIL 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 meilleures 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 (pour une HPLC 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) et l'écart-type (s) exprimé en concentration de ces 30 mesures.

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

$$\text{Limite de détection} = m + 3s$$

Seuil de quantification : Le seuil de quantification correspond à la plus petite valeur exprimée en concentration, rendue avec une confiance acceptable et d'incertitude connue. Il est convenu qu'il s'agit donc la valeur pour laquelle le CV et/ou l'écart à la valeur théorique est supérieur à une valeur pré-établie, fonction du paramètre à doser (exemple : 10 %, dans le cas de la troponine plasmatique).

Pour cela, on peut réaliser des dilutions du calibrateur ou de l'échantillon de Contrôle de Qualité Interne le plus bas (différent de 0) avec le diluant, selon le schéma : 100 + 0 ; 90 + 10 ; ...10 + 90 ; 0 + 100 soit 11 échantillons à mesurer chacun 10 fois dans une série unique.

Pour déterminer le seuil de quantification, 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.

Seuil de quantification = valeur pour laquelle le CV et/ou l'écart à la valeur théorique est supérieur à la valeur pré-établie (ex. 10%).

15.7. EVALUATION DE LA LINEARITE

Par dilution d'échantillons de concentration très élevée, les résultats obtenus permettront de vérifier cette linéarité, mais aussi de s'assurer de la nature du diluant nécessaire et/ou recommandé et des pipettes utilisées à cet effet. Cette étude porte sur les analyses pour lesquelles les étendues de mesure sont particulièrement élevées et en cas d'une pré-dilution des échantillons. Par exemple, sur un même analyseur et pour un analyte, le facteur entre la valeur la plus basse et la plus élevée peut être de trente tandis que, pour un autre analyte, ce même facteur peut être supérieur à 1500. Cette vérification permet de rappeler les limites (supérieures et inférieures) au-delà desquelles l'extrapolation des résultats est illicite.

15.8. EVALUATION DE LA STABILITE

L'objectif ici est d'évaluer la stabilité des réactifs "sensibles" "embarqués" à bords des automates. Afin d'étudier cette stabilité, on peut passer chaque standard en tant que spécimen inconnu à intervalle régulier entre J1 et J_n, n_x représentant le nombre de jours de stabilité annoncé par le fabricant. Le nombre de passages entre ces deux dates est fonction de la durée attendue pour obtenir un minimum de 10 résultats.

Des limites de stabilité théoriques (Lst en %, par exemple 20 %) adaptées à chaque analytes (à l'aide des résultats de répétabilité) permettent de valider ou non la stabilité annoncée par le fabricant.

Calculer les valeurs correspondant à - Lst en % et + Lst en % du taux théorique (v). Vérifier pour chaque mesure du standard mesuré qu'elle est comprise dans l'intervalle [v - Lst %; v + Lst %]. La limite de stabilité est obtenue comme suit:

Limite de stabilité = correspond à la dernière valeur comprise dans l'intervalle [v - Lst %; v + Lst %]

15.9. CORRELATION DE METHODES

Cette corrélation ne peut intervenir qu'après la vérification de la répétabilité, reproductibilité, justesse, inexactitude, et éventuellement de la stabilité, limite de détection et seuil de quantification.

Pour comparer une méthode B que l'on évalue à une méthode A utilisée au laboratoire, on analyse au moins 40 échantillons de patient couvrant l'étendue du domaine physiopathologique rencontré et répartis si possible selon les recommandations de l'article des Annales de Biologie Cliniques (A. VASSAULT et col., 1999; cf. chapitre 10, Choix préalable à la vérification et chapitre 18, Annexe III - Bibliographie).

Ces échantillons, frais de préférence, sont analysés en simple par les 2 techniques, dans des conditions de temps les plus proches possibles.

Les résultats sont examinés au fur et à mesure, et vérifiés si la discordance est jugée supérieure aux limites préétablies.

Pour chacun des couples retenus x_i (méthode A) et y_i (méthode B) :

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

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 de spécimens discordants identifiés, et rechercher la cause de la discordance si elle subsiste après vérification (aspect, fibrine, hémolyse, etc.),

Remarque : les essais de corrélation en statistiques (régression linéaire) sont prévus pour des variables indépendantes ce qui n'est pas le cas lors d'une validation de technique. Cette dépendance explique les valeurs de "r", coefficient de régression, trouvées qui exceptionnellement permettront de mettre en évidence une différence significative. Il faut donc accorder une valeur toute particulière au graphique des différences et au pourcentage de valeurs discordantes selon une différence acceptable prédéfinie. La répartition des valeurs choisies pour cette corrélation est importante et devra faire l'objet d'une attention particulière.

15.10. VERIFICATION DES VALEURS DE REFERENCE

Les valeurs de référence devront être vérifiées le cas échéant et si possible, par la bibliographie et/ou par calcul statistique.

Ce calcul peut se faire de la manière suivante :

- après une période d'utilisation permettant d'obtenir un nombre de valeurs significatif (et ce pour chaque sexe et tranche d'âge si cela peut avoir une incidence) ($n > 100$),
- à partir de patients exempts de pathologie (si possible),
- en écartant les valeurs aberrantes,
- en vérifiant que la répartition de la population est gaussienne d'après la bibliographie, ou par calcul,
- Ecarter toutes les valeurs $> m + 2s$ et $< m - 2s$,
- Recalculer la moyenne (moyenne normalisée) m_n et l'écart-type (écart-type normalisé) s_n à partir des valeurs ainsi retenues,

Les valeurs de référence seront données par l'intervalle $[m_n - 2s_n ; m_n + 2s_n]$.

Elles seront comparées avec celles annoncées par le fournisseur. En fonction de cette comparaison, ces valeurs devront être réajustées.

16. ANNEXE I - REACTOVIGILANCE

Le renforcement du système de vigilance est précisé dans la directive 98/79/CE dans les termes suivants : "Les Etats membres prennent toutes les mesures nécessaires pour que toute information portée à leur connaissance conformément aux dispositions de la présente directive, relative aux incidents mentionnés ci-après qui concernent les dispositifs portant le marquage CE, fasse l'objet d'un enregistrement et d'une évaluation centralisée." (directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* du 27.10.1998, Article 11).

La réactovigilance par essence est destinée à gérer des événements exceptionnels. Pour pouvoir juger du caractère anormal de ces événements, le biologiste pourra entre autres se référer à ses dossiers de validation des méthodes.

En France, la loi de transposition reprend, elle aussi, dans le décret du 4 février 2004 concernant ce principe de libre circulation des produits, le renforcement du système de réactovigilance afin d'assurer la sécurité d'utilisation des DM-DIV (dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*). Notamment elle impose aux professionnels de santé utilisateurs ainsi qu'aux industriels d'alerter l'AFSSAPS de tout incident susceptible d'engendrer un effet néfaste ou un risque d'effet néfaste pour le patient.

Le contrôle s'effectue **a posteriori** notamment grâce à la vigilance exercée par l'utilisateur et/ou le fabricant du DM-DIV. Depuis 1998, et dans le cadre du marquage CE, l'absence de contrôle préalable, pour la plupart des réactifs, doit inciter les utilisateurs à exercer une **vérification des performances sur site** lors de l'utilisation des DM-DIV. Ils ont ainsi un rôle de premier plan à jouer dans la mise en œuvre de la réactovigilance.

Il est joint ci-après, pour information, le formulaire de déclaration de réactovigilance (fiche de signalement de réactovigilance, FIR V.5 AFSSAPS février 2004) émanant de l'AFSSAPS, et disponible sur son site Internet, à l'adresse suivante : <http://agmed.sante.gouv.fr/hm/3/3000.htm>.



143/147, bd Anatole France
93285 Saint-Denis Cedex
Fax : 01.55.87.42.82

REACTOVIGILANCE

DECLARATION
d'un
INCIDENT ou
RISQUE D'INCIDENT

Cadre réservé à l'AFSSAPS

Numéro
Attributaire
Date d'attribution

Date d'envoi du signalement

ENVOI PAR FAX : Si un accusé de réception ne vous est pas parvenu dans les 10 j prière de confirmer le signalement par ENVOI POSTAL AVEC AR

Le Déclarant	Le DMDIV concerné (1)
Nom, prénom	Type de DMDIV (*) • réactif • automate (*) • autotest • récipient pour échantillon • accessoire • autre
Qualité	(*) Dans ce cas merci de joindre par fax la copie de la notice d'utilisation
Adresse professionnelle	Nom commercial/modèle/type/référence
code postal commune	Domaine d'application
E-mail	Dénomination commune
Téléphone	N° de série ou de lot
Fax	Version logicielle
<input type="checkbox"/> Etablissement de santé <input type="checkbox"/> EFS <input type="checkbox"/> Fabricant <input type="checkbox"/> Mandataire <input type="checkbox"/> Distributeur <input type="checkbox"/> LABM privé <input type="checkbox"/> Autre	Date de péremption
L'émetteur du signalement est-il le correspondant de réactovigilance ? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Date de mise en service
Nom du correspondant :	Nom et adresse du distributeur
Tél. :	code postal commune
Fax. :	Nom et adresse du fabricant
	code postal commune

(1) Si plusieurs DMDIV sont susceptibles d'être concernés remplir une fiche par DMDIV

<i>Circonstances et conséquences de l'incident ou du risque d'incident</i>	
Date de survenue : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	lieu de survenue :
Nom, qualité, téléphone, fax de l'utilisateur si différent du déclarant	
Nature de l'incident	
Description des faits et conséquences constatées (joindre les données chiffrées nécessaires à l'expertise)	
Une description plus complète sur papier libre de • page(s) est jointe à cette fiche	
Le fabricant ou fournisseur est-il informé de l'incident ou risque d'incident ? Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>	Si oui , quelle attitude a-t-il préconisée ?
Mesure(s) prise(s) par l'utilisateur le cas échéant (mesures conservatoires)	

Dispositions valides au jour de l'impression

17. ANNEXE II - TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS

17.1. TERMINOLOGIE

Terme	Définition	Parfois appelé
Biais NF ISO 3534-1	Différence entre l'espérance mathématique des résultats d'analyse et la valeur de référence acceptée. NOTE : Le biais est une erreur systématique totale par opposition à l'erreur aléatoire. Il peut y avoir une ou plusieurs composantes d'erreurs systématiques qui contribuent au biais. Une différence systématique importante par rapport à la valeur de référence acceptée est reflétée par une grande valeur du biais.	Erreur
Calibrage VIM	Positionnement matériel de chaque repère (éventuellement de certains repères principaux seulement) d'un instrument de mesure en fonction de la valeur du mesurande. NOTE : Ne pas confondre « calibrage » et « étalonnage ».	Étalonnage
Coefficient de variation 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. Le terme « écart-type relatif » est parfois utilisé à la place de « coefficient de variation », mais cet usage n'est pas recommandé.	
Dérive VIM	Lente variation au cours du temps d'une caractéristique métrologique d'un instrument de mesure.	
Ecart VIM	Valeur moins sa valeur de référence.	
Erreur VIM	Résultat d'un mesurage moins une valeur vraie du mesurande.	Biais
Étalon VIM	Mesure matérialisée, appareil de mesure, matériau de référence ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs d'une grandeur pour servir de référence. Exemples : Étalon de masse 1 kg ; Résistance étalon de 100 Ω ; Ampèremètre étalon ; Étalon de fréquence à césium ; Électrode de référence à hydrogène ; Solution de référence de cortisol dans le sérum humain, de concentration certifiée.	

<p>Etalonnage VIM</p>	<p>Ensemble des opérations établissant, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs de la grandeur indiquées par un appareil de mesure ou un système de mesure ou les valeurs représentées par une mesure matérialisée ou par un matériau de référence, et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisées par des étalons.</p> <p>NOTES :</p> <ul style="list-style-type: none"> - le résultat d'un étalonnage permet soit d'attribuer aux indications les valeurs correspondantes du mesurande, soit de déterminer les corrections à appliquer aux indications. - un étalonnage peut aussi servir à déterminer d'autres propriétés métrologiques telles que les effets de grandeur d'influence. - le résultat d'un étalonnage peut être consigné dans un document appelé certificat d'étalonnage ou rapport d'étalonnage. 	<p>Calibration</p>
<p>Etendue de mesure VIM</p>	<p>Ensemble des valeurs du mesurande pour lesquelles l'erreur d'un instrument de mesure est supposée comprise entre des limites spécifiées.</p>	<p>Domaine d'analyse, gamme de mesure</p>
<p>Exactitude VIM</p>	<p>Etroitesse de l'accord entre le résultat d'un mesurage et la valeur vraie du mesurande.</p>	<p>Précision</p>
<p>Fidélité VIM</p>	<p>Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications très voisines lors de l'application répétée du même mesurande dans les mêmes conditions de mesure.</p> <p>NOTES : Ces conditions comprennent</p> <ul style="list-style-type: none"> Réduction au minimum des variations dues à l'observateur <ul style="list-style-type: none"> Même mode opératoire de mesure Même observateur Même équipement de mesure, utilisé dans les mêmes conditions Même lieu Répétition durant une courte période de temps. La répétabilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des indications. 	<p>Précision</p>
<p>Incertitude VIM</p>	<p>Paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>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.</p>	
<p>Justesse VIM</p>	<p>Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications exemptes d'erreur systématique.</p>	

Limite de détection XP T 90-210	Plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc(avec une probabilité donnée),mais non nécessairement quantifiée. En fait, il faut prendre en compte deux risques : - le risque α de considérer la substance présente dans l'échantillon alors que sa grandeur est nulle ; - le risque β de considérer absente une substance alors que sa grandeur n'est pas nulle.	
Limite de quantification XP T 90-210	Plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminé quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans le méthode avec une variabilité définie (coefficient de variation déterminé).	
Linéarité XP T 90-210	Capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon pour laboratoire. Cette proportionnalité s'exprime au travers d'une expression mathématique définie a priori. Les limites de linéarité sont les limites expérimentales de grandeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage linéaire peut être appliqué avec un niveau de confiance connu (généralement pris égal à 1 %).	
Matériau de référence VIM	Matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) suffisamment homogène(s) et bien définie(s) pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux.	Calibrateur, valeurs de référence
Matériau de référence certifié VIM	Matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) certifiée(s) par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de propriété sont exprimées et pour laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué.	
Mesurage VIM	Ensemble d'opérations ayant pour but de déterminer une valeur d'une grandeur.	
Mesurande VIM	Grandeur particulière soumise à mesurage.	

<p>Répétabilité VIM</p>	<p>Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure.</p> <p>NOTE : Ces conditions sont appelées conditions de répétabilité. Les conditions de répétabilité comprennent :</p> <ul style="list-style-type: none"> Même mode opératoire Même observateur Même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions Même lieu <p>Répétition durant une courte période de temps. La répétabilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats.</p>	
<p>Reproductibilité VIM</p>	<p>Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande, mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesure.</p> <p>NOTE : Pour qu'une expression de la reproductibilité soit valable, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier. Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre : Méthode de mesure, Observateur, Instrument de mesure, Étalon de référence, Lieu, Conditions d'utilisation, Temps.</p> <p>La reproductibilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats. Les résultats considérés ici sont habituellement les résultats corrigés.</p>	
<p>Spécificité XP T 90-210</p>	<p>Propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la détermination de la grandeur de l'analyte considéré.</p>	
<p>Vérification NF EN ISO 10012</p>	<p>Confirmation par examen et établissement des preuves que les exigences spécifiées ont été satisfaites.</p> <p>NOTE : dans le cadre de la gestion d'un parc d'instruments de mesure, la vérification permet de s'assurer que les écarts entre les valeurs indiquées par un appareil de mesure et les valeurs connues correspondantes d'une grandeur mesurées sont tous inférieurs aux erreurs maximales tolérées, définies par une norme, par une réglementation ou une prescription propre au gestionnaire du parc d'instruments de mesure.</p> <p>Le résultat d'une vérification se traduit par une décision de remise en service, d'ajustage, de réparation, de déclassement ou de réforme.</p>	

17.2. AUTRES DEFINITIONS

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

Ces définitions ont été reprises à partir de documents qui font références ; parmi ceux-ci nous rappellerons plus particulièrement la norme "Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie" (VIM), 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' (Performance standard) : 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 (éventuellement) de la limite de détection de la technique. Synonyme : "domaine de mesurage, gamme de mesure".

Analyte : Composant, substance, matériau à mesurer dans un milieu éventuellement complexe (voir milieu).

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.

Calibrateur ou "calibrant" : Matériau de concentration déterminée en analyte soit par pesée, soit par titrage dont le milieu et les propriétés sont imparfaitement connus. Il peut présenter des propriétés physico-chimiques nécessitées par une technique.

Caractérisation (évaluation) : étude visant à éprouver le protocole d'analyse (procédure analytique) afin de connaître les valeurs des critères de performance, retenus au préalable. Cette étude peut être menée en intralaboratoire (par le fournisseur ou le fabricant) ou en interlaboratoire.

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 α choisi. Il est habituellement sans intérêt dans les comparaisons de techniques.

Contaminant, (Effet) : Effet indésirable, résultant de la contamination. Le plus souvent, il s'agit de l'effet exercé par un sérum sur celui qui le suit ou qui le précède. Il peut également survenir des effets contaminants entre réactifs.

Correction : valeur ajoutée algébriquement au résultat brut d'un mesurage pour compenser une erreur systématique.

NOTES :

- la correction est égale à l'opposé de l'erreur systématique estimée.
- puisque l'erreur systématique ne peut pas être connue parfaitement la compensation ne peut pas être complète.

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

Cut Off : Ce que l'on appelle communément le "cut-off" est la valeur du Z-score (nombre de déviations standards par rapport à la normale) au-delà de laquelle les résultats sont susceptibles de présenter un intérêt biologique. Souvent, cette valeur est déterminée de manière expérimentale par les biologistes.

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".

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.

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.

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.

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 : 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.

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

Spécificité analytique : La capacité de la méthode à déterminer uniquement le marqueur cible.

Spécificité chimique, spécificité : Propriété que représente une méthode analytique de pouvoir déterminer sélectivement la concentration du ou des composants qu'elle est supposée mesurer.

Spécificité (diagnostique) : La probabilité qu'un dispositif donne un résultat négatif en l'absence du marqueur cible.

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

Technique de référence (Méthode de référence) : Technique reconnue au niveau international dont l'exactitude a été évaluée par rapport à une technique définitive ou, à

défaut, après une étude complète et détaillée. Le principe, les réactifs, les appareils, le protocole opératoire et les calculs sont exactement décrits.

Technique de validation : Une technique de validation est une technique, qui, après étude exhaustive (recherche bibliographique et expérimentale), est retenue pour être utilisée comme référence d'exactitude, pour des essais comparatifs ou des titrages de sérums de contrôle.

Elle est choisie parmi les techniques de référence ou sélectionnées par des sociétés nationales ou internationales ou, à défaut, par consensus. Elle présente une précision et une praticabilité acceptables et connues.

Elle doit être soigneusement décrite, testée dans plusieurs laboratoires et comporter la définition du matériel, le contrôle de l'appareillage nécessaire, la description des différents réactifs et spécifications, les conditions de conservation et d'utilisation des réactifs, le protocole opératoire, le mode d'étalonnage ou de calibrage, la nature des calibrateurs et le mode de contrôle.

Traçabilité (VIM) : propriété du résultat d'un mesurage ou d'un étalon tel qu'il puisse être relié à des références déterminées, généralement des étalons nationaux ou internationaux, par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue de comparaisons ayant toutes des incertitudes déterminées.

NOTES :

- ce concept est souvent exprimé par l'adjectif traçable.
- la chaîne ininterrompue de comparaisons est appelée chaîne de raccordement aux étalons ou chaîne d'étalonnage.
- la manière dont s'effectue la liaison aux étalons est appelé raccordement aux étalons.

Traçabilité (ISO 9000 : 2000) : aptitude à retrouver l'historique, la mise en oeuvre 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.

Valeurs de référence : Résultats obtenus pour un constituant donné dans une population de référence dont les individus sont exempts de pathologie ou de traitement susceptibles de modifier leurs valeurs.

Les valeurs de référence peuvent varier notamment en fonction de l'origine géographique, du sexe et de l'âge des individus. Elles sont exprimées généralement en tenant compte des limites inférieures et supérieures déterminées par étude statistique. Elles peuvent être établies par le biologiste, en fonction des techniques analytiques qu'il utilise, ou éventuellement vérifiées lorsqu'il emploie les données des publications scientifiques.

L'expression "valeur de référence" est préférable à celles de "valeur usuelle" ou de "valeur normale".

Validation (analytique et biologique) : C'est l'ensemble des procédures à mettre en oeuvre pour s'assurer qu'une technique présente la fiabilité requise pour répondre aux exigences de qualité dans l'état de l'art.

La validation comporte généralement deux étapes : une validation technique et une validation biologique. La première consiste, à l'issue d'une série de dosages, à vérifier par des contrôles appropriés que les principales erreurs ont été maintenues dans des limites acceptables. La seconde consiste à s'assurer de la cohérence du résultat en le remplaçant

dans son contexte clinique, en le comparant à d'éventuels résultats antérieurs et en le confrontant aux résultats d'autres analyses demandées pour explorer la même fonction.

Validation (Validation des méthodes) : étape de vérification consistant à comparer les valeurs des critères de performance telles que déterminées au cours de l'étude de caractérisation ou de mise en œuvre expérimentale (phase de test) de la méthode analytique à celles attendues ou assignées au préalable (limites acceptables, objectifs à atteindre), puis à déclarer la méthode d'analyse valide ou non valide (cf. définition de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.1; chapitre 7 de ce document, Avant-propos).

Dispositions valides au jour de l'impression

18. ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE

Références réglementaires

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

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).

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* [notifiée sous le numéro C(2002) 1344], Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE (2002/364/CE).

[CLIA](#) (Clinical Laboratory Improvement Amendments) regulation, (www.westgard.com/cliafinalrule4.htm).

Références normatives générales

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

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

Normes fondamentales - Vocabulaire des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM). NF X 07-001: Décembre 1994 ([AFNOR](#)).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 1 : probabilité et termes statistiques généraux. NF ISO 3534-1: Décembre 1993 ([AFNOR](#)).

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

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

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

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

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

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

Documentation Cofrac - EA

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

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

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

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

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

[Document Cofrac LAB Inf 09 \(1133\)](#), "Procédure de validation interne des méthodes d'essais".

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

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).

Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence. XP T 90-210: Décembre 1999 ([AFNOR](#)).

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](#)).

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](#).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Procédure de validation intra-laboratoire d'une méthode alternative par rapport à une méthode de référence - Cas de méthodes d'analyse quantitatives. NF V03-110: Décembre 1998 ([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](#)).

Microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes. EN ISO 16140: Octobre 2003 ([AFNOR](#)).

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

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

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

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

Validation des méthodes en Biologie Médicale

Analyses de biologie médicale : spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques. A. Vassault, D. Grafmeyer, J. de Graeve, R. Cohen, A. Beaudonnet, J. Bienvenu. [Ann Biol Clin 1999, 57 : 685-95.](#)

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.

Protocole de validation de techniques (Protocole Valtec) - Document B. Ann. Biol. Clin 44, 686-745. Vassault A., Grafmeyer D., Naudin C., Dumont G., Bailly M., Henny J., Gerhardt MF., Georges P. et les membres de la commission de Validation de techniques de la SFBC (1986).

Dictionnaire des termes à l'usage de la validation des techniques, Commission validation de technique SFBC, Ann Biol Clin 1986, 44: 679-85.

Le protocole Valtec: évolution du concept et du contenu. [Ann. Biol. Clin 1997, 55 : 167-173.](#)

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.

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.

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

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

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

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.

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 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.

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. Clinical Chemistry 46 (11) : 1762-1772.

Evaluation de l'automate Axsym. C. Duval [Annales de Biologie Clinique 2001, 59 n° spécial : 48-51.](#)

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

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

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.

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, Penttilä I, Punnonen K. Eur J Haematol. 2002, 68(3) : 150-6.

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.

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

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Sites Internet

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

Ph. Marquis, www.multiqc.com.

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

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

ANAES, Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé, www.anaes.fr

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

Dispositions valides aujourd'hui de l'impression