

Résumé :

La norme ISO 15189 définit les critères de qualité et de compétence exigés pour les laboratoires de biologie médicale. Dans ce contexte nous avons réalisé une vérification des performances analytiques au niveau de l'unité de biochimie du laboratoire centrale de l'hôpital Belloua du CHU de Tizi-Ouzou, sur l'automate HORIBA ABX Pentra C400, par des études prospective et rétrospective des paramètres des bilans : rénal, hépatique et inflammatoire (CRP) en suivant le guide de la société française de biologie clinique (SFBC).

L'étude à bien montré que 80% des méthodes d'analyse du contrôle normal (N multicontrol) évalués présentent des performances satisfaisantes, tandis que l'étude du contrôle pathologique (P multicontrol) présente un pourcentage de conformité à 60% lors de l'étude de la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la justesse dus aux erreurs aléatoires et systématiques. Certains paramètres tels que la PAL présente des anomalies qui sont liés aussi à la présence d'erreurs aléatoires et systématiques et qui requièrent une intervention corrective.

Mots clés :

Vérification, Société Française de Biologie Clinique (SFBC), HORIBA, Laboratoire de Biologie Médicale (LBM), contrôle interne de qualité.

Abstract:

The ISO 15189 standard defines the quality and competence criteria required of medical biology laboratories. In this context, we carried out a verification of analytical performance at the biochemistry unit of the central laboratory of the Belloua hospital of the UHC of Tizi-Ouzou, on the HORIBA ABX Pentra C400 automated system, by means of prospective and retrospective studies of the renal, hepatic and inflammatory (CRP) workup parameters, following the guide of the French Society of Clinical Biology (SFBC).

The study showed that 80% of the analytical methods evaluated for normal control (N multicontrol) performed satisfactorily, while the study of pathological control (P multicontrol) showed a compliance percentage of 60% for repeatability, intermediate precision and accuracy due to random and systematic errors. Some parameters, such as PAL, show anomalies that are also linked to the presence of random and systematic errors and require corrective action.

Keywords:

Verification, French Society of Clinical Biology (SFBC), HORIBA, Medical Biology Laboratory (MBL), internal quality assurance.

Introduction :

Laboratoire de biologie médicale (LBM) est un laboratoire destiné à réaliser des examens biologiques, microbiologiques, immunologiques, biochimiques, biophysiques, cytologiques, hématologiques et génétiques, qui sont un élément essentiel du parcours de soin. En effet, ils participent à la prévention, au dépistage, au diagnostic et le suivi thérapeutique des pathologies. La qualité des examens est donc un impératif de santé publique et un critère majeur témoignant de l'efficacité d'un système de santé(1-3).

Le contrôle de qualité est un outil universellement reconnu depuis de nombreuses années pour garantir la fiabilité des examens de biologie médicale. Son développement dans le domaine de la santé était inévitable tant la moindre erreur peut engendrer de graves conséquences. Il permet d'évaluer, de corriger et de valider le processus d'analyse partant de l'étape pré analytique à l'étape post analytique(4).

La vérification/validation d'une technique consiste à évaluer les performances du processus analytique (fidélité, justesse, exactitude, domaine de mesure, sensibilité aux interférences, limite de détection s'il y a lieu), à les quantifier en suivant un protocole opératoire standardisé puis à les juger, par rapport à des critères définis. Une adaptation du protocole proposé par la société française de biologie clinique (SFBC) en 1986 est présentée pour répondre aux exigences de la norme ISO 15189. L'intérêt d'un protocole rationnel et standardisé est de simplifier et d'optimiser le travail d'évaluation, d'uniformiser la présentation des données et de permettre un jugement comparatif des résultats obtenus par des évaluateurs ou des laboratoires différents(5).

De nombreux travaux de fin d'études menés ont contribué à la satisfaction de l'unité de biochimie du laboratoire centrale de l'hôpital Belloua du CHU de Tizi-Ouzou, aux exigences des normes internationales de compétence et de qualité, propres aux LBM. Ces travaux ont fait objet de vérifications et validations des techniques analytiques tout en soulignant l'importance de la démarche contrôle qualité, en s'intéressant à la gestion et au contrôle des réactifs, la maintenance des instruments d'une manière systématique, la comparaison des performances des autres automates et à la maîtrise des conditions opératoires et environnementales essentielles pour améliorer la qualité. Ils recommandent ainsi de procéder à la vérification régulière des méthodes préalablement validées par l'obtention de preuves de conformité sous forme de caractéristiques de performance(4, 6).

L'automate HORIBA ABX Pentra C400 est d'installation récente au niveau du laboratoire centrale de l'hôpital Belloua et qui n'a jamais subi de vérification préalable, pour cette raison nous avons effectué par l'intermédiaire de ce travail, une vérification des performances analytiques de cet automate qui est devenu une obligation et une exigence afin d'apporter des preuves de fiabilité des résultats du laboratoire.

Objectif :

Ce travail a pour objectif :

La vérification des performances analytiques des techniques de dosage en biologie médicale, selon les exigences de la norme ISO 15189 : 2012 spécifique aux laboratoires de biologie médicale LBM.

Matériels et Méthodes :

L'étude s'est déroulée au niveau de l'unité de biochimie du laboratoire central de l'hôpital Belloua du CHU de Tizi-Ouzou du 09/01/2023 au 08/04/2023. Selon le guide de la SFBC : SG2-07 « Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse », la stratégie adoptée est :

La stratégie 2 : une vérification rétrospective des performances (portée A) dans le cas d'une méthode déjà utilisée par le laboratoire(5).

Le travail est effectué sur les paramètres suivants : ASAT, ALAT, CRÉATININE, URÉE, BILIRUBINE TOTALE, BILIRUBINE DIRECT, PAL, GGT, CRP qui sont choisis par rapport à la disponibilité de toutes les données nécessaires à la réalisation de la vérification et du contrôle qualité interne (CQI) et la fréquence de demande de ces paramètres.

L'étude de la stratégie 02 est complétée par une étude rétrospective pour la fidélité intermédiaire et la justesse.

I. Matériels :

1-L'automate :

HORIBA ABX PENTRA C400 (Fig 01), est un dispositif médical de diagnostic in vitro (DMDIV) marqué CE (Fig 02) dont les méthodes d'analyse sont validées, non adaptés, non modifiées et déjà utilisées par le laboratoire(6).



Figure 1 : Dispositif médical d'analyse in vitro HORIBA ABX Pentra C 400.



Figure 2 :Modèle du dispositif médical du diagnostic in vitro DMDIV marqué CE.

Les méthodes utilisées par l’HORIBA pour le calcul de la concentration de l’échantillon pour les paramètres étudiés sont détaillées dans le tableau1.

Tableau 1 : Description des méthodes utilisées pour les paramètres étudiés(7).

Paramètre	Principe
Urée	Méthode UV cinétique, enzymatique à détection spectrophotométrique.
Créatinine	Méthode cinétique et colorimétrique de Jaffé à détection spectrophotométrique.
ASAT, ALAT	Méthode UV à détection spectrophotométrique.
BIL T, BIL D	Méthode colorimétrique à détection spectrophotométrique.
PAL, GGT	Méthode colorimétrique basée sur un test photométrique cinétique.
CRP	Méthode par immun-turbidimétrie au latex d’agglutination Ag-Ac.

2-Sérums de contrôle :

Ils sont composés de sérum humain auquel sont ajoutés des substances chimiques et des extraits tissulaires d’origine humaine ou animale. Ils se présentent sous forme de lyophilisat à reconstituer avec 5 ml d’eau distillée ou désionisée en veillant à ne pas perdre le lyophilisat et le garder 30 min à température ambiante tout en agitant doucement. À l’aide d’une pipettegraduée on transfère le volume requis dans un godet échantillon(7).

Les sérums de contrôles spécifiques à l’automate Horiba se présentent avec deux niveaux de concentrations :

Contrôle normal : N MultiControle lot n°1 : 20033, DP : 04-02-2023, REF : 1300054414.

Contrôle pathologique : P MutiControle lot n°1 : 21052, DP : 23-08-2024, REF : 1300054415.

3-Calibrants :

Les calibrants sont des lyophilisats à base de sérum humain et additifs chimiques et extraits tissulaires d'origine humaine et animale. Le contenu d'un flacon est reconstitué avec 3 ml d'eau distillée ou désionisée en veillant à ne pas perdre le lyophilisat et le garder 30min à température ambiante tout en agitant doucement. À l'aide d'une pipette on transfère le volume requis dans un godet échantillon(7).

L'étude s'intéresse exclusivement à l'ABX Pentra Multical et ABX Pentra CRPcal :

ABX Pentra Multical: N° lot: 2102301, DP: 25-01-2023, REF: A11A01652.

ABX Pentra CRPcal: N° lot: 01611031, DP: 01-03-2023, REF: A11A01616.

o **Valeurs cibles des contrôles et des calibrants :**

Tableau 2 : Valeurs cibles des contrôles et des calibrants tirées à partir des données des fiches techniques(7).

Paramètres	N et P Multicontrol		Pentra Multical
	N	P	
Urée mg/dl	36.7	114.5	92.6
Créatinine mg/dl	1.096	3.691	3.824
ASAT U/L	56.7	174.6	113.5
ALAT U/L	55	143.8	103.8
BIL T mg/dl	1.27	4.72	4.5
BIL D mg/dl	1.08	2.67	2.55
PAL U/L	123.4	271	284.24
GGT U/L	54.5	262	142.5
CRP mg/dl	1.15	5.82	/

4-Réactifs :

Les réactifs utilisés par l'automate et leurs identifications sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3: Identifications des réactifs de l'HORIBAABX Pentra C400.

Paramètres	Références	N° lot	DP
Urée	A11A01641	032608118	23-03-2024
Créatinine	A11A01933	216308453	21-02-2025
ASAT	A11A01629	0045676242	12-03-2022
ALAT	A11A01627	003567880	29-07-2023
Bilirubine directe	A11A01635	013224978	04-11-2023
Bilirubine total	A11A01639	012297978	04-11-2023
PAL	A11A01626	002267943	30-09-2023
GGT	A11A01630	008567859	08-07-2023
CRP	A11A01611	041257795	05-05-2023

DP : date de péremption.

5-Autres :

Tubes secs, pipette automatique, godets échantillons, eau pour préparation injectable, pipette graduée de 5 ml.

6-Logiciel de traitement des données :

Les calculs sont effectués sur le logiciel tableur Microsoft Excel.

II. Méthode :

Une vérification des performances de l'analyse de 09 paramètres biochimiques est effectuée selon le processus général basé sur les modalités décrites dans le guide de la SFBC du sous-groupe 02 du groupe de travail de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, en suivant la stratégie 02 étude prospective qui est complétée l'étude rétrospective pour la fidélité intermédiaire et la justesse, en exploitant les résultats obtenus dans la pratique quotidienne du contrôle interne de qualité (QIC) de 30 jours successifs, afin de renforcer et d'assurer la fiabilité des résultats obtenus.

Module 01 : Fidélité

1. Répétabilité :

Est mesurée dans les mêmes conditions opératoires suivantes : procédure de mesure, opérateur, système de mesure, conditions de fonctionnement, milieu et lot de réactifs pendant une courte période(7).

L'analyse est évaluée en prospective, la SFBC permet l'utilisation de 06 déterminations pour les paramètres étudiés qui sont : ASAT, ALAT, CRÉATININE, PAL, GGT, BILIRUBINE TOTALE, BILIRUBINE CONJUGUÉE, UREE, CRP, en fonction de la disponibilité du réactif du dosage, d'échantillons de contrôle et de leur coût réactif. En plus on a calculé l'intervalle de confiance de l'écart type propre à chaque paramètre (car 06 déterminations qui ont été faites) et qu'on admet un risque d'erreur à 5%.

Commencer par placer les godets échantillons décongelés au préalable pour chaque niveau de contrôle (Net P) reconstitués et aliquotés à l'avance, sur le portoir de l'automate HORIBA ABX PENTRA C400 ; passer à la programmation des paramètres au niveau de l'automate ; recueillir et enregistrer les données individuelles puis calculer la moyenne, l'écart type et le coefficient de variation pour chaque niveau de concentration(7, 8).

$$\text{La moyenne : } m = \frac{\sum xi}{n}$$

m : la moyenne

xi : résultat obtenu.

n : nombre total de répétition.

$$\text{L'écart type : } s = \sqrt{\frac{\sum (xi - m)^2}{n - 1}}$$

S : l'écart type

$$\text{Le coefficient de variation : } cv \% = \frac{s}{m} \times 100$$

Cv % : coefficient de variation

La répétabilité est évaluée à partir du CV de la répétabilité calculé pour le N et P Multicontrol. Si le CV obtenu est inférieur au CV préconisé par la SFBC ou celui du fournisseur, la méthode d'analyse pour un paramètre donné est **répétable**.

Dans le cas où le CV obtenu est supérieur au CV préconisé par la SFBC et celui du fournisseur, la méthode d'analyse pour un paramètre donné est **non répétable**.

2. Fidélité intermédiaire :

Les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode en utilisant des échantillons identiques dans le même laboratoire et des conditions opératoires différentes (opérateur, étalonnage, lot de réactifs, etc.) pendant un intervalle de temps donné(7).

Selon la SFBC, l'analyse de chacun des échantillons en double dans 15 séries différentes, 15 jours différents au minimum est nécessaire. Dans ce cas, le plan expérimental alternatif proposé par la SFBC est adopté pour l'étude

prospective, le nombre de séries est réduit à 05 incluant chacune 06 déterminations pour diminuer la durée de l'évaluation(7).

Cette étude est limitée à 04 paramètres les moins stables en prospective : GGT, ALAT, PAL pour le bilan hépatique et la CRÉATININE pour le bilan rénal. Afin de compléter l'étude prospective, une étude rétrospective est réalisée pour l'ensemble des paramètres. La SFBC préconise de suivre le protocole proposé par la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutique (SFSTP) pour l'estimation de la fidélité intermédiaire : la moyenne, la variance totale qui est la somme de la variance intra et inter-série et le coefficient de variation pour chaque niveau de concentration en suivant la SFSTP (2004-2006)(7-10).

La fidélité intermédiaire est évaluée à partir du CV de la fidélité intermédiaire calculé pour le N et P Multicontrol, Si le CV obtenu est inférieur au CV préconisé par la SFBC ou celui du fournisseur, la méthode d'analyse pour un paramètre donné est **fidèle**.

Dans le cas où le CV obtenu est supérieur au CV préconisé par la SFBC et celui du fournisseur, la méthode d'analyse pour un paramètre donné est **non fidèle**.

Module 02 : Justesse

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essai et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée(7).

Cette évaluation permet de mettre en évidence le biais d'une méthode ou une différence systématique entre deux méthodes et de la quantifier à condition de s'assurer que les échantillons de contrôle utilisés se comportent comme les échantillons biologiques. Les échantillons et valeurs retenus pour l'évaluation de la justesse sont ceux utilisés pour l'évaluation de la fidélité intermédiaire(7).

Une étude rétrospective pour l'ensemble des paramètres et prospective pour : GGT, ALAT, PAL et la CRÉATININE sont à la fois menées ; La justesse est quantifiée par le biais relatif estimé en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de fidélité intermédiaire à la valeur cible (v) des échantillons de contrôle interne de qualité testés.

$$\text{Biais relatif (\%)} : \text{Biais} = 100 \times ((m-v) / v)$$

La justesse est évaluée à partir du biais relatif, quand le biais relatif obtenu est inférieur au biais relatif préconisé par la SFBC, la méthode d'analyse pour un paramètre donné est **juste**.

Par contre, si le biais relatif obtenu est supérieur au biais relatif préconisé par la SFBC, la méthode d'analyse pour un paramètre donné est **non juste**.

Module 03 : Limite de détection

La limite de détection d'une méthode d'analyse correspond à la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée. Elle est réalisée par une étude bibliographique, en se basant sur les données accompagnant les fiches techniques des lots réactifs(7).

Module 04 : Limite de linéarité

La limite de linéarité consiste à déterminer les limites de validité de la relation entre les concentrations observées et les concentrations théoriques des dilutions d'un spécimen, elle définit l'intervalle de mesure à l'intérieur duquel les mesures peuvent être effectuées avec fiabilité(7).

La limite de linéarité est évaluée par une étude bibliographique, en se basant sur les données bibliographiques des fiches techniques selon le protocole SFBC.

Module 05 : Comparaison avec une autre méthode

Elle consiste à évaluer les résultats obtenus avec une méthode par rapport à une autre. En raison de la non-disponibilité de réactifs du dosage pour d'autres méthodes de dosage l'essai de comparaison avec une autre méthode n'est pas effectué(7).

Et par absence de données bibliographiques sur les fiches techniques réactives HORIBA, la vérification bibliographique n'est pas effectuée.

Module 06 : Contamination inter-échantillon (carry-over)

La contamination inter-échantillon est un phénomène qui résulte du transfert d'une partie d'un échantillon dans un autre tel qu'il produit une modification dont l'effet peut être évalué et quantifié, qui a pour but d'assurer que la contamination des échantillons n'altère pas l'exactitude des mesures. Les échantillons utilisés pour l'examen doivent être d'une concentration la plus élevée possible pour lesquels il existe un différentiel de concentration important en physiopathologie et échantillons de concentration faible ou nulle. Après rinçage de l'appareil, l'échantillon de concentration élevée ou positif fort est analysé 03 fois consécutivement (H1, H2, H3 de moyenne H) suivi d'un échantillon bas également dosé 03 fois (B1, B2, B3), la séquence est répétée trois fois(7).

$$\text{Contamination \%} = 100 \times (B1m - B3m) / (Hm - B3m)$$

B1m = moyenne des B1. B3m = moyenne des B3. Hm = moyenne des H.

Module 07 : Evaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons

La présence de certaines substances endogènes dans les liquides biologiques, tels que la bilirubine, l'hémoglobine (qui est à l'origine de l'hémolyse) et des lipoprotéines causant la turbidité, ces substances peuvent être à l'origine d'anomalies et conduire à des résultats erronés. Ces interférences peuvent influencer la stabilité ou la spécificité de la méthode d'analyse utilisée(7).

Les critères sont évalués en se basant sur la disponibilité de données bibliographiques accompagnant les fiches techniques réactifs.

Module 08 : Autres critères

-Fonction de réponse ; choix de la matrice ; stabilités : (délai maximum d'acheminement, d'attente dans l'analyseur ou le système de préparation des échantillons, de conservation à différentes températures) ; rendement (d'extraction, d'ionisation, etc.) ; spécificité analytique ; sélectivité ; exactitude(7).

Ces critères sont évalués si nécessaire. Et pour des raisons de non-disponibilité de données bibliographiques sur les fiches techniques réactives fournisseur, seule la stabilité des réactifs et échantillons qui sont traités dans ce module.

Résultats :

1. Résultats de l'évaluation de la Répétabilité sur HORIBA Pentra C400 :

Etude prospective :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude prospective de la répétabilité.

Tableau 4: Résultats de l'étude prospective de la répétabilité.

Paramètres	UREE (g/l)	CREAT (mg/l)	ASAT (UI/l)	ALAT (UI/l)	BILT (μ mol/l)	BIL D (μ mol/l)	PAL (U/l)	GGT (U/l)	CRP (mg/l)
Echantillon	ABX Pentra N Multicontrol								
Nombre de valeur	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Moyenne	0,35	10,15	55,28	49,73	12,9	10,82	94,23	48,4	9,27
Ecart-type	0,006	0,686	1,162	0,804	0,489	0,098	1,857	2,101	0,103
CV obtenu	1,81%	6,76%	2,10%	1,62%	3,83%	0,91%	1,97 %	4,34%	1,11%
CV fournisseur	2,27%	2,36%	2,71%	1,00%	2,14%	0,67%	1,27 %	3,38%	1,08%
CV SFBC	3,0%	3,4%	4,5%	4,5%	4,2%	4,2%	4,5%	4,5%	4,5%
Intervalle de confiance	0,007	0,720	1,219	0,844	0,513	0,103	1,948	2,205	0,108
Conclusion	V	NV	V	V	V	V	V	V	V
Echantillon	ABX Pentra P Multicontrol								
Nombre de valeurs	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Moyenne	1,047	38,116	169,05	119,93	44,7	25,2	232,8 5	252,73	53,32
Ecart-type	0,014	0,943	9,152	7,603	3,609	1,431	18,64 2	9,928	1,993
CV obtenu	1,31%	2,47%	5,41%	6,34%	8,07%	5,68%	8,01 %	3,93%	3,74%
CV fournisseur	1,66%	0,51%	1,43%	1,19%	0,99%	0,44%	0,62 %	0,70%	3,07%
CV SFBC	1,9%	1,8%	3,8%	3,8%	3,2%	3,2%	3,8%	3,8%	3,8%
Intervalle de confiance	0,014	0,989	9,605	7,979	3,787	1,502	19,56 4	10,419	2,092
Conclusion	V	V	NV	NV	NV	NV	NV	NV	V

V : Validé.

NV : Non Validé.

CV : coefficient de variation.

2. Résultats de l'évaluation de la Fidélité Intermédiaire sur HORIBA Pentra C400 :
Etude rétrospective :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude rétrospective de la fidélité intermédiaire.

Tableau 5 : Résultats de l'étude rétrospective de la fidélité intermédiaire.

Paramètre	PAL (U/l)	GGT (U/l)	ALAT (UI/l)	CREAT (mg/l)	ASAT (UI/l)	URÉE (g/l)	BIL D (μmol/l)	BIL T (μmol/l)	CRP (mg/l)
Echantillon	ABX PENTRA N Multicontrol								
Nombre de valeur	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Moyenne	103,590	53,170	52,627	10,590	53,487	0,358	10,620	12,320	9,837
Ecart-type	5,372	2,886	2,348	0,413	3,571	0,010	0,238	0,641	0,367
CV obtenu	5,19%	5,43%	4,46%	3,90%	6,68%	2,75%	2,24%	5,21%	3,73%
CV fournisseur	3,62%	5,13%	2,53%	3,39%	3,15%	2,14%	4,26%	4,04%	4,31%
CV SFBC	6,0%	6,0%	6,0%	4,5%	6,0%	4,0%	5,6%	5,6%	6,0%
Conclusion	V	V	V	V	NV	V	V	V	V
Échantillon	ABX Pentra P Multicontrol								
Nombre de valeur	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Moyenne	4,812	261,077	136,497	35,800	170,483	1,102	25,520	46,403	56,057
Ecart-type	0,185	5,755	6,008	1,002	6,926	0,387	0,909	2,274	2,525
CV obtenu	3,83%	2,20%	4,40%	2,80%	4,06%	3,51%	3,56%	4,90%	4,50%
CV fournisseur	2,39%	2,95%	1,77%	2,46%	2,50%	1,93%	4,22%	1,70%	2,17%
CV SFBC	5,0%	5,0%	5,0%	2,4%	5,0%	2,5%	4,2%	4,2%	5,0%
Conclusion	V	V	V	NV	V	NV	V	NV	V

V : Validé

NV : Non Validé.

CV : coefficient de variation.

Etude prospective :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude prospective de la fidélité intermédiaire.

Tableau 6: Résultats de l'étude prospective de la fidélité intermédiaire.

Paramètres	GGT (U/l)	ALAT (UI/l)	PAL (U/l)	CREAT (mg/l)
Echantillon	ABX Pentra N Multicontrol			
Nombre de valeurs	30	30	30	30
Moyenne totale	52,17	52,39	103,65	10,07
Variance intra série	3,06	1,83	27,61	0,05
Variance inter série	0,6	1,01	55,28	0,17
Variance de la FI	3,66	2,84	82,9	0,23
CV obtenu	3,67%	3,21%	8,78%	4,78%
CV Fournisseur	5,13%	2,53%	3,62%	3,39%
CV SFBC	6,0%	6,0%	6,0%	4,5%
Conclusion	V	V	NV	NV
Echantillon	ABX Pentra P Multicontrol			
Nombre de valeurs	30	30	30	30
Moyenne totale	264,12	135,6	227,63	35,26
Variance intra série	76,85	2,59	73,09	0,93
Variance inter série	36,53	20,7	247,632	2,29
Variance de la FI	113,38	23,29	320,72	3,22
CV obtenu	4,03%	3,55%	7,86%	5,09%
CV Fournisseur	2,95%	1,77%	2,39%	2,46%
CV SFBC	5,0%	5,0%	5,0%	2,4%
Conclusion	V	V	NV	NV

V : Validé

NV : Non Validé.

CV : coefficient de variation.

3. Résultats de l'évaluation de la justesse sur HORIBA Pentra C400 :

Etude rétrospective :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude rétrospective de la justesse.

Tableau 7 : Résultats de l'étude rétrospective de la justesse.

Paramètres	PAL (U/l)	GGT (U/l)	ALAT (UI/l)	CREAT (mg/l)	ASAT (UI/l)	UREE (g/l)	BILT (μ mol/l)	BIL D (μ mol/l)	CRP (mg/l)
Échantillon	ABX PENTRA N Multicontrol								
Moyenne	103,590	53,170	52,627	10,590	53,487	0,358	10,620	12,320	9,837
Valeur cible	123,4	54,5	55	10,96	56,7	0,37	10,8	12,7	11,5
2Biais relatif	16,05%	2,44%	4,32%	3,38%	5,67%	3,15%	1,67%	3,00%	14,46%
Limite acceptable	6,7%	6,7%	6,7%	7,8%	6,7%	6,9%	10,6%	10,6%	8,0%
Conclusion	NV	V	V	V	V	V	V	V	NV
Echantillon	ABX Pentra P Multicontrol								
Nombre de valeur	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Moyenne	4,812	261,077	136,497	35,800	170,483	1,102	25,520	46,403	56,057
Valeur cible	4,53	262,2	143,8	36,91	174,6	1,15	26,7	47,2	58,2
Biais relatif	6,23%	0,43%	5,08%	3,00%	2,36%	4,17%	4,92%	1,69%	3,68%
Limite acceptable	6,2%	6,2%	6,2%	7,6%	6,2%	4,3%	11,2%	11,2%	7,5%
Conclusion	NV	V	V	V	V	V	V	V	V

V : Validé

NV : Non Validé.

CV : coefficient de variation.

Etude prospective :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude prospective de la justesse

Tableau 8 : Résultats de l'étude prospective de la justesse.

Paramètres	GGT (U/l)	ALAT (UI/l)	PAL (U/l)	CREA (mg/l)
Echantillon	ABX Pentra N Multicontrol			
Nombre de valeurs	30	30	30	30
Moyenne	52,17	52,39	103,65	10,07
Valeur cible	54,5	55	123,4	10,96
Biais relatif	4,3%	4,7%	16,0%	8,1%
Limite acceptable	6,7%	6,7%	6,7%	7,8%
Conclusion	V	V	NV	NV
Echantillon	ABX Pentra P Multicontrol			
Nombre de valeurs	30	30	30	30
Moyenne	265,62	135,57	227,54	35,26333
Valeur cible	262,2	143,8	271	36,91
Biais relatif	0,73%	5,70%	16,04%	4,46%
Limite acceptable	6,2%	6,2%	6,2%	7,6%
Conclusion	V	V	NV	V

V : Validé

NV : Non Validé.

CV : coefficient de variation.

4. Résultats de l'évaluation de la limite de détection sur HORIBA Pentra C400 :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude bibliographique de la limite de détection(7).

La limite de détection de la CRP, est donné par une limite inférieure d'interprétation (1 mg /l) car il s'agit d'une réaction d'immun-turbidimétrie au latex d'agglutination Ag-Ac.

Tableau 9 : Résultats de l'étude bibliographique de la limite de détection.

Paramètres	UREE	CREA	ASAT	ALAT	BIL T	BIL D	GGT	PAL
Limite de détection	1.86 mg/dl	0.09mg/dl	4 U/L	4U/L	0.09 mg/dl	0.04 mg/dl	4 U/L	6 U/L

5. Résultats de l'évaluation de la limite de linéarité sur HORIBA Pentra C400 :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude bibliographique de la limite de linéarité qui est défini par un intervalle de mesure (limite inférieur et supérieur de quantification)(7).

Tableau 10 : Résultats de l'étude bibliographique de la limite de linéarité.

Paramètres	UREE	CREA	ASAT	ALAT	BIL T	BIL D	GGT	PAL	CRP
Intervalle de mesure	[2.20-300] mg/dl	[0.10-18.08] mg/dl	[4-600] U/L	[4-600] U/L	[0.14-26.3] mg/dl	[0.04-6.79] mg/dl	[4-1000] U/L	[8-1596.2] U/L	[1-160] mg/l]

6. Résultats de l'évaluation de la contamination inter-échantillons sur HORIBA Pentra C400 :

Etude prospective :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude prospective de la contamination inter-échantillon.

Tableau 11 : Résultats de l'étude prospective de la contamination inter-échantillon.

Paramètres	Pourcentage de contamination
CREATININE	3.44%
ASAT	0.86%
ALAT	0.009%
CRP	0.03%
BIL D	0%
GGT	0.04%
UREE	1.25%
BIL T	0.87%

7. Résultats de l'étude bibliographique de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons sur HORIBA Pentra C 400 :

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude bibliographique de l'influence de l'hémolyse de la bilirubine et de la turbidité(7).

Les substances auxquelles l'échantillon peut être exposé (hémoglobine, bilirubine et turbidité) durant l'analyse d'un paramètre biologique, ne peuvent influencer sur les résultats que si les substances sont présentes à une concentration significative les résultats de l'analyse bibliographique sont détaillés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Résultats de l'étude bibliographique de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité.

Paramètres	Concentration minimale d'hémolyse influençant le paramètre en (mg/dl)	Concentration minimale de bilirubine conjuguée influençant le paramètre en (mg/dl)	Concentration minimale de bilirubine totale influençant le paramètre en (mg/dl)	Concentration minimale d'intra lipide influençant le paramètre en (mg/dl)
Urée	460	23.40	22.3	612.5
Créatinine	500	4.4	4.4	582.75
ASAT	95	21.2	24.3	50
ALAT	336	52.1	26.3	100
Bilirubine Direct	Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés	/	/	612.5
Bilirubine conjuguée	500	/	/	612.5
PAL	336	14.6	27.5	612.5
GGT	96	6.8	23.6	612.5
CRP	485	18.8	16.9	612.5

8. Résultats de l'étude bibliographique de la stabilité des réactifs et échantillons sur HORIBA Pentra C400 :

- **Résultats de l'étude bibliographique de la stabilité des réactifs :**

Le tableau 13 représente températures de conservation avant ouverture ; ainsi que la durée de conservation après ouverture ; recommandés par le fournisseur pour garder la stabilité des réactifs HORIBA.

Tableau 13 : Résultats de l'étude bibliographique de la stabilité des réactifs.

Paramètres	Stabilité	
	Température de conservation avant ouverture	Durée de stabilité après ouverture
Urée	2 à 8°C	70 jours
Créatinine	18 °à 26°C	19 jours
ASAT	2 à 8° C	55 jours
ALAT	2 à 8°C	42 jours
Bilirubine totale	2 à 8 °C	25 jours
Bilirubine directe	2 à 8°C	25 jours
PAL	2 à 8 °C	29 jours
GGT	2 à 8 °C	21 jours
CRP	2 à 10° C	64 jours

- **Résultats de l'étude bibliographique de la stabilité des échantillons :**

Ci-dessous les résultats obtenus lors de l'étude bibliographique de la stabilité des échantillons(7).

Tableau 14 : Résultats de l'étude bibliographique de la stabilité des échantillons.

Paramètres	Echantillon	Stabilité
Urée	Sérum /plasma recueilli sur héparine de lithium	2 jours à température ambiante. 2 semaines à : 4- 8°C
Créatinine	Sérum /plasma	7 jours à : 20 -25°C 7 jours à : 4 -8°C 3 mois à : - 20°C
ASAT	Sérum/ plasma recueilli sur héparine de lithium	4 jours à : 20 – 25°C 7 jours à : 4 – 8°C 3 mois à : - 20°C Légère diminution d'activité à température ambiante. Stable 1 semaine dans le sérum à 4 – 8°C
ALAT	Sérum/ plasma recueilli sur héparine de lithium	Perte d'activité dans les 03 mois : À 2 – 8°C ≤ 10% À 15 - 25 ≤ 17% Stabilité à – 20°C au moins 03 mois
Bilirubine totale	Sérum/ plasma recueilli sur héparine de lithium	Stabilité : 1 jours à 20– 25°C 7 jours à 4 – 8°C 6 mois à – 20°C (en cas de coagulation immédiate) Il est primordial l'échantillon de conserver à l'abri de la lumière. En cas d'exposition intensive au soleil une diminution de la bilirubine totale de 30% maximum après 1 heure.
Bilirubine directe	Sérum/ plasma recueilli sur héparine de lithium	Stabilité : 2 jours à 20– 25°C 7 jours à 2 – 8°C 3 mois à – 20°C Il est primordial l'échantillon de conserver à l'abri de la lumière. En cas d'exposition intensive au soleil une diminution de la bilirubine totale de 30% maximum après 1 heure. Ne pas congeler plus d'une fois.
PAL	Sérum/ plasma recueilli sur héparine de lithium	Perte d'activité l'échantillon après 3 jours à 3% à 20°C Stabilité : 1 semaine à 4 – 8°C
GGT	Sérum	7 jours à : 20 -25°C 7 jours à : 4 -8°C 1 ans à : - 20°C
CRP	Sérum /plasma	15 jours à : 20 – 25 °C 2 mois à : 2- 8° C 3 ans à : - 20°C

Discussion :

Une vérification des méthodes est appliquée selon les exigences de la portée A, les résultats obtenus sont résumés dans la partie résultats.

Toutes les études appliquées sont comparées aux performances du fournisseur, ainsi qu'à celle du protocole de la SFBC (en raison d'absence des valeurs de références établies à l'échelle nationale).

Répétabilité:

Les CV obtenus pour le N Multicontrol sont inférieurs aux CV préconisés par la SFBC et/ou celui du fournisseur de ce fait la méthode d'analyse de l'UREE, ASAT, ALAT, BILIRUBINE TOTALE, BILIRUBINE DIRECTE, GG, CRP et PAL sur HORIBAC400 est **répétable**.

Tandis que le CV de CREATININE est supérieur aux CV de la SFBC et à celui du fournisseur donc la méthode est **non répétable**.

Les CV obtenus pour le P Multicontrol sont inférieurs aux CV préconisés par la SFBC et/ou celui du fournisseur de ce fait la méthode d'analyse de l'UREE, CREATININE et CRP sur l'HORIBAC400 est **répétable**.

Tandis que les CV de l'ASAT, ALAT, BILIRUBINE TOTALE, BILIRUBINE DIRECTE, PAL et GGT sont supérieurs aux CV de la SFBC et à celui du fournisseur donc la méthode est **non répétable**.

- L'étude de la répétabilité montre que les résultats du N Multicontrol sont répétables à 90% tandis que le P Multicontrol est à 30% uniquement.

Fidélité intermédiaire:

1. Etude rétrospective:

Les CV obtenus pour le N Multicontrol sont inférieurs aux CV préconisés par la SFBC et/ou celui du fournisseur de ce fait la méthode d'analyse de l'UREE, CREATININE, ALAT, BILIRUBINE TOTALE, BILIRUBINE DIRECTE, GGT, CRP et PAL sur HORIBAC400 est **fidèle**.

Tandis que le CV de l'ASAT est supérieur aux CV de la SFBC et celui du fournisseur donc la méthode est **non fidèle**.

Les CV obtenus pour le P Multicontrol sont inférieurs aux CV préconisés par la SFBC et/ou celui du fournisseur de ce fait la méthode d'analyse de la PAL, GGT, ALAT, ASAT, BILIRUBINE DIRECTE et CRP sur l'HORIBAC400 est **fidèle**.

Tandis que les CV de l'UREE, BILIRUBINE TOTALE et CREATININE sont supérieurs aux CV de la SFBC et à celui du fournisseur donc la méthode est **non fidèle**.

2. Etude prospective:

Les CV obtenus pour le N Multicontrol et le P Multicontrol sont inférieurs aux CV préconisés par la SFBC et/ou celui du fournisseur de ce fait la méthode d'analyse de la CREATININE, ALAT, GGT sur HORIBAC400 est **fidèle**.

Tandis que le CV de la PAL est supérieur aux CV de la SFBC et à celui du fournisseur donc la méthode est **non fidèle**.

- L'étude de la fidélité intermédiaire montre que les résultats du N Multicontrol sont fidèles à 90% pour l'étude rétrospective et à 50% pour l'étude prospective, tandis que ceux du P Multicontrol sont fidèles à 70% pour la rétrospective et à 50% pour la prospective.

Justesse :

1. Etude rétrospective:

Les biais relatifs obtenus pour le N Multicontrol sont inférieurs aux biais relatifs préconisés par la SFBC de ce fait la méthode d'analyse de la GGT, ALAT, ASAT, CREATININE, UREE, BILIRUBINE DIRECT et CONJUGUEE est **juste**.

Tandis que les biais relatifs obtenus pour la PAL et la CRP sont supérieurs aux biais relatifs préconisés par la SFBC, la méthode d'analyse est donc **non juste**.

Les biais relatifs obtenus pour le P Multicontrol sont inférieurs aux biais relatifs préconisés par la SFBC de ce fait la méthode d'analyse de la GGT, ALAT, ASAT, CREATININE, UREE, BILIRUBINE DIRECT, BILIRUBINE CONJUGUEE et CRP est **juste**.

Tandis que le biais relatif obtenu pour la PAL est supérieur au biais relatif préconisé par la SFBC, la méthode d'analyse est donc **non juste**.

2. Etude prospective:

Les biais relatifs obtenus pour le N Multicontrol sont inférieurs aux biais relatifs préconisés par la SFBC de ce fait la méthode d'analyse de la GGT et l'ALAT est **juste**.

Tandis que les biais relatifs obtenus pour la PAL et la CREATININE sont supérieurs aux biais relatifs préconisés par la SFBC, la méthode d'analyse est donc **non juste**.

Les biais relatifs obtenus pour le P Multicontrol sont inférieurs aux biais relatifs préconisés par la SFBC de ce fait la méthode d'analyse de la GGT, ALAT et CREATININE est **juste**.

Tandis que le biais relatif obtenu pour la PAL est supérieur au biais relatif préconisé par la SFBC, la méthode d'analyse est donc **non juste**.

- Les résultats de la justesse pour le N Multicontrol sont justes à 80 % pour la rétrospective et à 50% pour la prospective, tandis que ceux du P Multicontrol sont justes à 90% pour la rétrospective et à 75% pour la prospective. Le paramètre « PAL » exceptionnellement aux autres paramètres, présente une anomalie remarquable car elle est non juste aux deux niveaux de contrôles pour les deux études rétrospective et prospective, cette dernière peut être due à l'instabilité du réactif de la PAL qui est un réactif rack qui doit être renouvelé quotidiennement avec nettoyage régulier de ses cupules, ou bien aux coupures du courant qui sont inévitables qui causent à leurs tours l'instabilité des réactifs, les contrôles et calibrants.
- En concluant, les études de la fidélité intermédiaire et la justesse sont satisfaisantes pour les deux niveaux de contrôles. Contrairement à la répétabilité le P Multicontrol présente un pourcentage de non-conformité à 70% qui peut être dû à des erreurs aléatoires.
Les erreurs aléatoires sont dues aux concepts de hasard et d'imprévisibilité et sont le résultat d'une série de variations imprévisibles qui conduisent à surestimer ou sous-estimer la valeur réelle de la grandeur mesurée. Elles peuvent être atténuées en répétant un grand nombre de fois la mesure en question.

Les erreurs systématiques qui se produisent lors de l'évaluation de la justesse conduisent toujours à une surestimation (ou toujours à une sous-estimation) de la valeur réelle, quel que soit le nombre de répétition, et peuvent être causées par une mauvaise préparation (pas de pipettes jaugées de classe A disponibles), un mauvais stockage, l'instabilité et contamination des calibrants, des échantillons de contrôle et des réactifs (en particulier pour la PAL qui est un réactif Rack).

Pour que le résultat d'une mesure se rapproche de la valeur vraie, il faut diminuer les erreurs systématiques et les erreurs aléatoires. Deux règles fondamentales de la métrologie doivent être appliquées :

- La diminution des erreurs aléatoires en répétant la mesure.
- La diminution des erreurs systématiques en cherchant leurs causes et en les éliminant.

Contamination inter-échantillons :

Le niveau de contamination doit être maintenu à zéro, sinon une étude doit être effectuée pour éliminer la contamination.

En ce qui concerne la BILIRUBINE CONJUGUÉE, le pourcentage de contamination est égal à zéro, donc le taux de contamination est nul pour ce paramètre.

Pour l'ASAT, ALAT, CRP, GGT et la BILIRUBINE TOTALE, présentent des pourcentages inférieurs à 1%, donc ces taux de contaminations sont quand même négligeables.

L'URÉE et CRÉATININE par contre présentent des pourcentages respectifs de 1.25% et 3.44%. Bien que ces pourcentages soient faibles et ne semblent a priori pas entraîner de répercussion sur les analyses,

Ils restent néanmoins largement supérieurs à 0%, le taux de contamination observé avec la créatinine peut être aussi lié à la non-répétabilité de ce paramètre qui a peut influencer sur les résultats de l'étude de la contamination inter-échantillon.

Dans ce propos les données du fournisseur et de la littérature sont insuffisantes pour donner une interprétation stricte. Cependant la SFBC préconise dans ce cas d'entraîner des règles de réanalyses argumentées par des essais, afin de démontrer que ces taux n'ont pas de retentissement sur l'analyse, dans le cas contraire ou l'essai effectué démontre l'existence d'une variabilité importante dans les résultats d'analyse issue de la contamination inter-échantillon, des mesures correctives doivent être impérativement conduites dans le but de les minimiser, il faut penser à effectuer un lavage après chaque mesure ou faire passer un blanc par exemple.

Influences de l'hémolyse, turbidité et la bilirubine totale et directe :

ASAT et GGT sont les paramètres les plus sensibles aux échantillons hémolysés à partir d'une concentration minimale d'hémoglobine successivement de 95 mg/dl pour l'ASAT et 96 mg/dl pour GGT. Pour un bilan de BILIRUBINE DIRECT, le fournisseur suggère de ne jamais utiliser d'échantillon hémolysé pour l'analyse.

Le bilan hépatique est très sensible à la turbidité, l'ASAT avec une concentration minimale de 50 mg/dl d'intra-lipide plus que l'ALAT (100 mg/dl) est influencée par des petites concentrations de lipémie constituant l'intra lipide.

Dans le cas d'une hyperbilirubinémie modérée, la bilirubine directe et la bilirubine conjuguée constituent une interférence critique avec la CRÉATININE à partir d'une concentration de 4.4mg /dl et à partir de 6.8 mg/dl pour la GGT, dans le cas d'une hyperbilirubinémie élevée, elle risque d'interférer avec l'ensemble des paramètres du bilan rénal, hépatique et inflammatoire.

Stabilité des réactifs :

Avant ouverture les réactifs restent stables, jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, s'ils sont conservés à l'abri de la lumière, non contaminés et s'ils sont conservés aux températures mentionnées pour chaque paramètre dans tableau 13.

Après ouverture, les réactifs doivent être conservés dans leurs cassettes et positionnés dans la partie réfrigérée de l'automate pour rester stables pour une durée mentionnée dans le tableau 10. Sachant que même avec le respect des conditions de conservation le réactif de CRÉATININE et de GGT deviennent rapidement instables, approximativement 20 jours après ouverture de leurs cassettes.

Selon les recommandations du fournisseur, pour la PAL il faut impérativement utiliser chaque jour un réactif frais et jeter ce qu'il reste du contenu de la cassette.

Conclusion :

La vérification des performances analytiques des méthodes de dosage est l'un des points essentiels pour les LBM en raison de l'importance des examens biologiques qu'ils réalisent, sachant que chaque non-conformité pourra nuire à la prise en charge, diagnostic et décision thérapeutique du patient. Cette vérification doit confirmer, par l'obtention de preuves tangibles que les performances annoncées pour la procédure analytique ont été satisfaites. Le laboratoire doit documenter la procédure utilisée pour la vérification et enregistrer les résultats obtenus.

L'objectif principal est d'atteindre et de maintenir la fiabilité des résultats du laboratoire et que les méthodes employées à son niveau sont adéquates de manière à assurer aux patients la sécurité et la qualité de ses prestations.

Dans ce contexte et afin de satisfaire certaines exigences de la norme ISO 15189 relative aux exigences de la qualité et compétences des LBM, une étude de vérification de performances analytiques sur l'automate HORIBA ABX Pentra C400 a été menée au niveau l'unité de biochimie du laboratoire centrale de l'hôpital Belloua du CHU de Tizi-Ouzou.

L'objectif désiré dans cette étude est atteint, d'une manière générale les résultats obtenus sont satisfaisants, les coefficients de variation non validés restent pas loin des CV souhaités par les fournisseurs et SFBC. La PAL par contre nécessite des mesures correctives à raison de ses résultats non conformes.

Perspectives :

Les résultats de l'étude rétrospective affirment l'insuffisance du contrôle qualité quotidien effectué pour garantir et éviter tout dysfonctionnement. En ce qui concerne les perspectives à réaliser à court et à moyen terme, il serait intéressant que :

Le laboratoire améliore en continu l'efficacité du système de management de la qualité, y compris les processus pré analytiques, analytiques et post-analytiques. Des plans d'action pour l'amélioration doivent être élaborés, documentés et mis en œuvre de façon appropriée tel que : la réalisation des audits interne de qualité d'une manière systématique, la vérification de l'ensemble des paramètres assurés par l'automate et l'élaboration des cartes de contrôles qui sont nécessaires pour la maîtrise statistique des procédés.

Références :

1. <-NF EN ISO 15189 - Decembre 2012 - Laboratoires de biologie medicale - Exigences concernant la qualite et la competence-AFNOR (2012).pdf>.
2. GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION DE VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B) DES METHODES EN BIOLOGIE MEDICALE Document SH GTA 04.[Internet]. [cited 22/02/2023]. Available from: <https://www.cofrac.fr/>.
3. Adje S, Coupe S, Sebayang A, Syll N, Veux V, Farges G, et al. Outil d'autodiagnostic pour aider à la mise en place de la norme ISO 15189 dans les laboratoires de biologie médicale (LBM). IRBM News. 2013;34(3):80-2.
4. Akouchi N, Hakem S, Yakoubi T. [CONTROLE DE QUALITE DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE MEDICALE (Application au laboratoire centrale unité Belloua CHU de Tizi-Ouzou)]. Université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou; ; 2019, 181 p.
5. Vassault A, Hulin A, Chapuzet E, Arnaud J, Giroud C. [Verification/validation of the performances of analytical method]. Annales de biologie clinique. 2010;68 Spec No 1:247-94.
6. Chabane A, Djefel T. [Norme ISO 15189 : Tat des lieux et actions correctives « Expérience du laboratoire central, CHU NEDIR Mohamed, Unité Belloua »]. [Thèse de Pharmacie]: Université Moumloud Mammeri Tizi-Ouzou; 2022, 288 p.
7. HORIBA Médical [Internet]. [cited 26/01/2023]. Available from: <https://horibaabxsas.site-solocal.com/>.
8. Vassault A, Grafmeyer D, Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. Annales de biologie clinique. 1999;57:685-95.
9. Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal--Part I. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2004;36(3):579-86.
10. Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Muzard G, Valat L, Boulanger B, Chapuzet E, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches Partie II - Statistiques. STP pharmas pratiques : techniques réglementations. 2006;16(1):30-60.