

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

Département de Pharmacie
N° D'ordre :

٢٠٢٠/٢٠٢١

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Présenté et soutenu publiquement

Le : 25 JUIN 2018

Sous le Thème

**CONTROLE INTERNE DE QUALITE DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE MEDICALE :
DE LA VERIFICATION DES EXIGENCES TECHNIQUES A LA PLANIFICATION DES
SYSTEMES DE GESTION DE LA QUALITE**

Réalisé par :

M^r BEN BOUDJEMA Aghiles

M^{lle} BOURAHMOUNE Anaïs

Encadrés par :

Promotrice: D^r BELKAID NAWAL

Co-promoteurs : D^r BOURSOUTI.M
D^r KACIL

Membres du jury :

P ^r CHERIF.M	Professeur	Faculté de Médecine	ALGER	Président
D ^r MEHNI.M	Ancien MAHU	Faculté de Médecine	UMMTO	Examineur
D ^r LAMRI.A	MAHU	Faculté de Médecine	ALGER	Examineur
D ^r MAMOU.M	MAHU	Faculté de Médecine	UMMTO	Examineur
D ^r DAHMANI.D	MAHU	Faculté de Médecine	UMMTO	Invitée

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017/2018

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier « Dieu » le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce travail ...

*Au Docteur BELKAID Nawal, notre promotrice,
Nous tenons à vous écrire un « Merci » sincère pour votre soutien, vos conseils tout au long de cette année qu'on a partagé avec vous, un encadrement exceptionnel, un sérieux exemplaire dans le travail, nous serons toujours reconnaissant envers vous chère Docteur.*

*A nous co promoteurs, Dr BOURSOUTI.M et Dr KACI.I
Nous vous remercions de nous avoir guidé à la réalisation de ce travail. Veuillez recevoir le témoignage de notre profond respect.*

*Au professeur CHERIFI.M, président de jury,
Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de juger notre travail. Recevez l'assurance de notre reconnaissance et de notre profond respect.*

*Aux examinateurs ; Dr MEHNI.E, Dr LAMRI.A et Dr MAMOUM.M,
Nous tenons à vous remercier pour le temps que vous avez consacré à la lecture de notre travail et pour le plus que vous apportez en l'examinant.*

*Au Docteur DAHMANI.D, notre chère invitée,
Heureux que vous ayez été notre invité d'honneur pour assister à l'exposition de notre travail. On vous remercie également de nous avoir permis de travailler au sein de votre laboratoire.*

*Nous tenons à remercier aussi toute l'équipe de biochimie ;
Techniciens, Surveillants médicaux, Résidents, Assistants et Maîtres assistants. Votre aide était précieuse.*

Nos remerciements s'adressent aussi à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail.

*A madame Ann Vassault,
Nous vous adressons nos sincères remerciements pour votre supervision et aide précieuse à la réalisation de ce travail*

Dédicaces

A ma grand-mère HAMMAMA,

Qui m'accompagne par ses prières, sa douceur, puisse le dieu vous accorder santé, longue vie et prospérité

A mes parents ALI et SAMIA,

Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.

Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études

A mes frères MAKHLOUF et MASSI,

A mes sœurs HAYET et BAYA,

A ma grande sœur MERIEM, son époux MOUMOUH et leurs petite ange AYA,

A mon cousin MOUMOUH et sa famille,

Vous m'avez toujours soutenu et vous continuez à le faire, je ne trouverai pas les mots pour vous exprimer mon affection

A mon ami intime Imbrator AISSA,

Je n'ai jamais pu te montrer à tel point que tu m'es cher, je te dédie aujourd'hui chaque effort que j'ai fourni à ce travail ; un effort que tu m'as redessiné dans une image simple et facile, franchissable et tolérable grâce à la sagesse de tes mots.

A ma promotrice BELKAID NAWAL,

Peu sont les mots pour exprimer mon respect et ma gratitude envers toi pour l'aide que tu m'as apporté durant cette année

A ma binôme ANAIS et à toute sa famille, après une longue année d'efforts nous voilà à la fin d'un cycle et un début d'un autre

A tous les membres de PHARMAVENIR, ma deuxième famille,

A mes amis, GHILES, RAMDANE, SLIMANE, BOUSSAD et AKLI, j'aurai aimé que tout le monde soit là,

A mon ami Moumouh, pour amitié éternelle, merci d'être auprès de moi

A mes amies de la promo Liticya et Selma, on a partagé beaucoup d'événements ensemble, j'espère que c'est une amitié qui va durer toute la vie.

A tous mes amis, que j'ai connu durant ma vie

A toute l'équipe du groupe THILIWA

Aghiles....

Dédicaces

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer la gratitude et la reconnaissance ni montrer le degré d'amour et d'affection que l'on porte aux parents ; En ce jour mémorable, je dédie ce travail :

A mon père ;

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A ma mère ;

Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection depuis le plus jeune âge, Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.

Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon très cher frère ;

Ton encouragement et ton soutien tout au long de mon parcours étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments les plus pénibles, Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué, pour donner du goût et du sens à ma vie

Je prie Dieu le tout puissant pour qu'il te donne santé bonheur et longue vie.

A mon fiancé Madjid, merci d'être la

A la mémoire de mes grands-parents qu'ils reposent en paix ;

A mon binôme Aghiles et sa famille

A ma promotrice DR BELKAID ;

Votre très grande disponibilité, votre rigueur scientifique et votre immense culture médicale m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions possibles. Vos qualités professionnelles et humaines imposent l'admiration.

Anaïs. 

Abréviations

ALGERAC : Organisme Algérien d'Accréditation.

ALAT : Alanine-Amino-Transférase.

ASAT : Aspartate-Amino-Transférase.

AoN : Moyenne des normales.

AQA : Assurance qualité analytique.

BILI T : Bilirubine totale.

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire.

CIL : Comparaison inter laboratoires.

CIQ : Contrôle Interne de Qualité.

CLIA: Clinical Laboratory Improvement Amendments.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

COFRAC : Comité Français d'Accréditation.

CQ : Contrôle qualité.

CREAT : Créatinine.

CV : Coefficient de variation.

DMDIV : Dispositif médical de diagnostic in vitro.

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité.

ETA : Erreur totale admissible.

ET : Ecart type.

J : Jour.

IC : Intervalle de confiance.

INC : Incertitude.

INF : Inferieure.

ISO : International Organization for Standardization=Organisation Internationale de Normalisation.

GGT : Gama-glutamyltransférase.

GLUC : Glucose.

LBM : laboratoire de biologie médicale.

LCR : Liquide céphalo-rachidien.

N1 : Niveau 1.

N2 : Niveau 2.

MOY : Moyenne

MD : Moyenne des différences.

MRC : Matériaux de référence certifiés.

NCCLS: National committee for clinical laboratory standards

NF EN ISO : Norme Française European Norme ISO (version française de la norme ISO).

NI : Normes d'interprétation.

OEC : Organismes d'évaluation de la conformité.

Pde : Probabilité de détection d'erreur.

Pfr : Probabilité de faux rejet.

QQ : Quantile Quantile.

R : Répétition.

S : Ecart type.

SFBC : Société Française de Biologie Clinique.

SI : Système international.

SMQ : Système de management qualité.

SUP : Supérieure

Liste des figures

Figure 01 : processus de fonctionnement d'un laboratoire d'analyses médicales	8
Figure 02 : Modèle CLSI de gestion de la qualité.....	10
Figure 03 : Logique de l'assurance qualité	10
Figure 04 : Critères de procédures de validation liés au cycle de vie d'une méthode d'analyse.	12
Figure 05 : Schéma représentant la courbe Gaussienne (loi normale).....	15
Figure 06 : Schéma représentant le diagramme de levey-jennings	18
Figure 07 : Anciennes règles de westgard.....	22
Figure 08 : Nouvelles règles de westgard	22
Figure 09 : Erreur systématique constante	23
Figure 10 : Erreur systématique progressive.....	24
Figure 11 : Erreur aléatoire	25
Figure 12 : La méthode six sigma	26
Figure 13 : Six sigma et règles de Westgard.....	27
Figure 14 : Graphe OPSECS normalisé 100%ETA avec 50% AQA.....	28
Figure 15 : Graphe OPSECS normalisé 100%ETA avec 90% AQA.....	28
Figure 16 : Critères de performance des méthodes d'analyse.....	33
Figure 17 : graphe du test QQ plot du glucose ARCHITECT ci4100 niveau 1.....	51
Figure 18 : graphe du test QQ plot du glucose ARCHITECT ci4100 niveau 2.....	52
Figure 19 : graphe du test normality plot du glucose ARCHITECT ci4100 niveau 1	52
Figure 20 : graphe du test normality plot du glucose ARCHITECT ci4100 niveau 2.....	53
Figure 21 : Histogramme de distribution glucose Architect niveau 1	53
Figure 22 : Histogramme de distribution glucose Architect niveau 2	53
Figure 23 : Test Dixon du glucose N1 Architect répétition 1	54
Figure 24 : Test Dixon du glucose N2 Architect répétition 1	54
Figure 25 : Test Dixon du glucose N1 Architect répétition 2	55
Figure 26 : Test Dixon du glucose N2 Architect répétition 2	55
Figure 27 : Test Dixon du glucose N1 Architect répétition 3	55
Figure 28 : Test Dixon du glucose N2 Architect répétition 3	55

Figure 29 : Test Dixon du glucose N1 Architect répétition 4	55
Figure 30 : Test Dixon du glucose N2 Architect répétition 4	55
Figure 31 : Test Dixon du glucose N1 Architect répétition 5	56
Figure 32 : Test Dixon du glucose N2 Architect répétition 5	56
Figure 33 : Test Dixon du glucose N1 Architect répétition 6	56
Figure 34 : Test Dixon du glucose N2 Architect répétition 6	56
Figure 35 : Histogramme récapitulatif des pourcentages de validité des CV de la répétabilité obtenue comparés aux CV de références	58
Figure 36 : Représentation des % de justesse par rapport aux références.....	62
Figure 37 : Représentation graphique du % de l'erreur de justesse en fonction de la moyenne.	62
Figure 38 : Représentation graphique du biais en fonction de la moyenne	62
Figure 39 : Représentation de la linéarité glucose Architect-concentration observée en fonction de la concentration théorique	64
Figure 40 : Représentation graphique du rapport X/Y pour l'étude de la linéarité du glucose Architect ci4100	64
Figure 41 : Représentation de la linéarité glucose Architect en fonction de la différence des concentrations.....	64
Figure 42 : Représentation de la fonction de régression glucose Architect ci4100.....	65
Figure 43 : Représentation graphique des différences entre les deux méthodes en fonction de la moyenne des concentrations.....	67
Figure 44 : Représentation graphique de la droite de régression des deux méthodes.....	68
Figure 45 : représentation graphique (X_i/Y_i) en pourcentage entre les deux méthodes en fonction de la concentration de la méthode de référence	68
Figure 46 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité au glucose niveau 1 – Architect pendant 30 jours	71
Figure 47 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité au glucose niveau 2 – Architect pendant 30 jours	71
Figure 48 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de l'ALAT niveau 1 – Cobas pendant 30 jours	71
Figure 49 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de l'ALAT niveau 2 – Cobas pendant 30 jours	71

Figure 50 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de la bilirubine niveau 1 – Xpand pendant 30 jours.....	72
Figure 51 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de la bilirubine niveau 2 – Xpand pendant 30 jours.....	72
Figure 52 : Les nouvelles règles de Westgard.....	73
Figure 53 : Représentation du % de respect des règles westgard des différents paramètres des trois automates.....	74
Figure 54 : Diagramme Z score représentant les valeurs du contrôle qualité au glucose Architect ci4100 N1 et N2 pendant 30 jours.....	74
Figure 55 : Diagramme Z score représentant les valeurs du contrôle qualité à l'ALAT cobas N1 et N2 pendant 30 jours.....	75
Figure 56 : Diagramme Z score représentant les valeurs du contrôle qualité à la bilirubine totale N1 et N2 pendant 30 jours.....	75
Figure 57 : Carte de contrôle Z Score du paramètre bilirubine totale niveau 1 entre les trois automates.....	76
Figure 58 : Carte de contrôle Z Score du paramètre bilirubine totale niveau 2 entre les trois automates.....	76
Figure 59 : Représentation graphique des pourcentages de rejet (en dehors des intervalles [-1,1] et [-2,2]) du niveau 1 des paramètres des trois automates	76
Figure 60 : Représentation graphique des pourcentages de rejet (en dehors des intervalles [-1,1] et [-2,2]) du niveau 2 des paramètres des trois automates	77
Figure 61 : Histogramme récapitulatif des % de six sigma comparé à 3 "limite"	79
Figure 62 : Graphe des performances OPsecs - ARCHITECT ci4100.....	80
Figure 63 : Graphe des performances OPsecs - COBAS Integra.....	81
Figure 64 : Graphe des performances OPsecs – XPAND.....	81
Figure 65 : Interprétation OPsecs : N=2 avec 90% AQA.....	82
Figure 66 : Interprétation OPsecs : N=2 avec 50% AQA	82
Figure 67 : Graphe OPsec normalisé Architect : 100% ETA avec 90% AQA	82
Figure 68 : Graphe OPsec normalisé Architect : 100% ETA avec 50% AQA.....	82
Figure 69 : Graphe OPsec normalisé Cobas : 100% ETA avec 90% AQA.....	83
Figure 70 : Graphe OPsec normalisé Cobas : 100% ETA avec 50% AQA	83
Figure 71 : Graphe OPsec normalisé Xpand : 100% ETA avec 90% AQA.....	83
Figure 72 : Graphe OPsec normalisé Xpand : 100% ETA avec 50% AQA.....	83

Figure 73 : Histogramme de comparaison des stratégies de contrôle entre les trois paramètres du COBAS Integra	86
Figure 74 : comparaison des stratégies par représentation des % de rejet des séries.....	86
Figure 75 : Diagramme de Youden du paramètre glucose entre Architect ci4100	87
Figure 76 : Diagramme de Youden du paramètre glucose Cobas Integra	88
Figure 77 : Histogramme de comparaison de l'erreur totale et sigma	90

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Critères à évaluer pour la portée A et la portée B	31
Tableau 02 : Réactifs et calibrants de chaque automate	43
Tableau 03 : Méthodes d'analyse de chaque automate.....	44
Tableau 04 : Les différentes spécifications des méthodes vérifiées selon la portée A	45
Tableau 05 : Valeurs cibles et intervalles d'acceptabilité des contrôles Lyphochek niveau 1 et 2 pour les trois automates.....	46
Tableau 06 : Valeurs cibles et intervalles d'acceptabilité des contrôles PNU et PPU pour le Cobas Integra.....	46
Tableau 07 : Critères à évaluer pour la vérification de la portée A et la portée B	47
Tableau 08 : Tableau récapitulatif du respect de la loi normale des différents paramètres de chaque automate	50
Tableau 09 : Tableur du test QQ plot du glucose ARCHITECT ci 4100 niveau 1	51
Tableau 10 : Tableur du test QQ plot du glucose ARCHITECT ci 4100 niveau 2	52
Tableau 11 : Tableur du test normality plot du glucose ARCHITECT ci 4100 niveau 1	52
Tableau 12 : Tableur du test normality plot du glucose ARCHITECT ci 4100 niveau 2.....	53
Tableau 13: Test de shapiro Wilk glucose Architect ci4100	54
Tableau 14 : Test de Jarque Bera Urée Architect ci4100	54
Tableau 15 : Répétabilité des deux niveaux de contrôle utilisés sur les trois automates pour les différents paramètres.....	57
Tableau 16 : Fidélité intermédiaire des deux niveaux de contrôle utilisés sur les trois automates pour les différents paramètres	59
Tableau 17 : Représentation des résultats de la justesse des différents automates	61
Tableau 18 : Evaluation des limites de linéarité de la technique de dosage du GLUCOSE Architect ci4100	63
Tableau 19 : Etude de l'effet de dilution du glucose Architect ci4100	66
Tableau 20 : Répartition des concentrations pour les spécimens de patients utilisés pour les comparaisons de techniques « glucose Architect ci4100/Cobas Intégra » selon les recommandations SFBC.....	66

Tableau 21 : Evaluation de l'exactitude d'une méthode de dosage de glucose par GOD/POD sur Architect ci4100.....	69
Tableau 22 : Représentation des pourcentages d'alerte à 2S des différents paramètres.....	72
Tableau 23 : Application des règles de Westgard sur l'exemple ASAT Architect ci4100.....	73
Tableau 24 : Six sigma des différents paramètres des trois automates.....	78
Tableau 25 : Calcul des points de fonctionnement des graphes OPSecs	80
Tableau 26 : Représentation des règles de contrôles OPSecs de l'Architect ci4100 avec 50% AQA et 90% AQA	84
Tableau 27 : Représentation des règles de contrôles OPSecs du Cobas Integra avec 50% AQA et 90% AQA	84
Tableau 28 : Représentation des règles de contrôles OPSecs de l'Xpand avec 50% AQA et 90% AQA.....	85
Tableau 29 : Comparaison des stratégies d'interprétation des cartes de contrôles.....	85
Tableau 30 : Tableau récapitulatif des stratégies adéquates pour chaque paramètre.....	86
Tableau 31 : Exemple de typage d'erreur du paramètre ASAT sur COBAS Integra	87
Tableau 32 : Comparaison de la qualité sur Cobas Integra entre le mois de Janvier et Avril	88
Tableau 33 : Calcul de l'erreur totale des différents paramètres des trois automates.....	90
Tableau 34 : Incertitude de mesure des différents paramètres de chaque automate	91
Tableau 35 : Calcul des moyennes normales pour le paramètre glucose.....	92
Tableau 36 : Intervalle de référence a 2s et a 3s	93

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES ABRÉVIATION i

LISTE DES FIGURESii

LISTE DES TABLEAUX iii

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 1

OBJECTIFS 3

Revue de la littérature

Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale.

1. Historique	4
2. Généralités	4
2.1. Qualité : définition	4
2.2. Les référentiels qualité applicable dans les laboratoires de biologie médicale	4
2.2.1. L'organisation internationale de normalisation ISO.....	5
2.2.1.1. Définition	5
2.2.1.2. Différentes normes ISO	5
2.2.1.2.1. ISO 9001	5
2.2.1.2.2. ISO 17025	6
2.2.1.2.3. ISO 15189	6
2.2.2. Autres référentiels	7
2.2.2.1. CLIA	7
2.2.2.2. CLSI	7
2.3. Processus de fonctionnement d'un laboratoire d'analyses médicales	7
2.3.1. Phase pré analytique	8
2.3.2. Phase analytique	8
2.3.3. Phase post analytique.....	9
2.4. Gestion et assurance de la qualité	9
3. Contrôle qualité	11

TABLE DES MATIÈRES

3.1. Définition du contrôle qualité	11
3.2. Place du contrôle qualité dans le cycle de vie d'une méthode et concept de stratégie de contrôle qualité aujourd'hui	11
3.3. Types de contrôle qualité.....	12
3.3.1. Contrôle interne de qualité.....	12
3.3.1.1. Définition	12
3.3.1.2. Objectifs	12
3.3.2. Comparaison inter laboratoires	13
3.3.2.1. Contrôle qualité externe	13
3.3.2.1.1. Définition	13
3.3.2.1.2. Objectifs	13
3.3.2.2. Contrôle qualité interne externalisé	13
3.3.2.2.1. Définition	13
3.3.2.2.2. Objectifs	13
3.4. Procédures du contrôle qualité	14
3.4.1. Procédure du contrôle qualité interne	14
3.4.1.1. Mise en œuvre d'un contrôle de qualité interne	14
3.4.1.2. Matériel de contrôle	14
3.4.1.3. Protocole analytique et fréquence de lancement.....	14
3.4.1.4. Outils statistiques	15
3.4.1.4.1. Loi normale	15
3.4.1.4.2. Paramètres de positionnement.....	16
3.4.1.4.3. Paramètres de dispersion	16
3.4.1.5. Cartes de contrôle	17
3.4.1.5.1. Constitution d'une carte de contrôle	17
3.4.1.5.2. Interprétation des cartes de contrôle	19
3.4.1.5.2.1. Types d'interprétation	20
3.4.1.5.2.2. Règles d'interprétation	20
3.4.1.5.2.3. Violation des règles : Types d'erreurs.....	23
3.4.1.6. Processus de planification de gestion de la qualité : Conditions d'utilisation des règles de Westgard.....	25
3.4.2. Procédures de contrôle qualité externe	28
4. Contrôle qualité et mesure d'incertitude et d'erreur totale	29

TABLE DES MATIÈRES

4.1. Contrôle qualité et mesure d'incertitude	29
4.1.1. Incertitude de mesure	29
4.1.2. Types d'incertitude	29
4.2. Erreur totale	29

Chapitre II : Pré requis à l'instauration d'un système de contrôle de qualité

1. Protocole de vérification et validation des performances de méthodes	30
2. Vérification/validation des performances	31
2.1. Critères de performances des méthodes d'analyse	31
2.1.1. Fidélité	31
2.1.2. Justesse	32
2.1.3. Exactitude	33
2.1.4. Robustesse.....	34
2.1.5. Détermination des intervalles de mesure	34
2.1.6. Comparaison méthodes.....	34
3. Maîtrise des spécifications et normes d'acceptabilité des techniques d'analyses...35	

Chapitre III : Contrôle qualité et accréditation des laboratoires de biologie médicale

1. Certification	37
2. Accréditation	37
3. Accréditation en biologie médicale	37
4. Place du contrôle qualité dans l'accréditation.....	38
5. Organismes accréditeurs	38
6. Les laboratoires accrédités en Algérie.....	39
7. Démarche d'accréditation	39
8. Avantages de l'accréditation.....	40

Partie Pratique

1. Matériels et méthode	41
1.1. Matériels	41
1.1.1. Sérums de contrôle.....	41
1.1.2. Automates.....	42
1.1.2.1. Architect ci4100.....	42
1.1.2.2. Cobas Integra.....	42
1.1.2.3. Dimension Xpand.....	43
1.1.3. Réactifs et calibrants.....	43
1.1.4. Autres matériels et accessoires.....	44
1.2. Méthodes.....	44
1.2.1. Méthodes de dosage.....	44
1.2.1.1. Méthodes d'analyse.....	44
1.2.1.2. Spécifications à documenter pour la portée A.....	44
1.2.2. Intervalles de confiance des sérums de contrôle.....	46
1.2.3. Protocole de contrôle interne de qualité au laboratoire et vérification/validation des performances des méthodes.....	47
1.2.3.1. Protocole de vérification/validation des performances des méthodes selon les normes ISO15189.....	47
1.2.3.2. Protocole de réalisation du contrôle qualité.....	47
1.2.3.3. Méthodes d'exploration	48
1.2.4. Critères de jugement	48
2. Résultats	50
2.1. Vérification de la loi normale	50
2.1.1. Tests graphiques	51
2.1.1.1. Test de normalité Q-Q plot	51
2.1.1.2. Test normality plot: normal Q-Q plot.....	52
2.1.2. Représentation graphique de la distribution : Histogramme	52
2.1.3. Tests statistiques : Test de Shapiro-Wilk et test de Jarque Bera.....	53
2.2. Elimination des valeurs aberrantes : Test de Dixon	54
2.3. Vérification/validation des performances des méthodes.....	56
2.3.1. Critères à évaluer pour la portée A et la portée B.....	57
2.3.1.1. Evaluation de la fidélité.....	57

TABLE DES MATIÈRES

2.3.1.1.1.	Répétabilité.....	57
2.3.1.1.2.	Fidélité intermédiaire : Reproductibilité intralaboratoire....	58
2.3.1.2.	Evaluation de la justesse	60
2.3.2.	Critères à évaluer uniquement pour la portée B.....	62
2.3.2.1.	Etude de la linéarité.....	63
2.3.2.2.	Effet de dilution	65
2.3.2.3.	Comparaison méthodes	66
2.4.	Systèmes de contrôle interne de qualité.....	69
2.4.1.	Exploitation des données de CIQ : cartes de contrôle.....	70
2.4.1.1.	Carte de Levey Jenning	70
2.4.1.1.1.	Illustration de quelques exemples de carte de contrôle.....	70
2.4.1.1.2.	Les règles d'interprétation	72
2.4.1.1.2.1.	Interprétation usuelle.....	72
2.4.1.1.2.2.	Règles de westgard	73
2.4.1.2.	Carte Z Score	74
2.4.1.2.1.	Carte Z Score entre les niveaux	74
2.4.1.2.2.	Carte Z Score entre automates.....	76
2.4.1.2.3.	Exploitation des résultats des cartes Z Score.....	76
2.5.	Stratégie sigma métrique : exigences de la qualité.....	77
2.5.1.	Calcul du sigma métrique	77
2.5.2.	Graphe OPsecs normalisé	79
2.5.2.1.	Evaluation des performances	80
2.5.2.2.	Etablissement des stratégies d'interprétation des cartes de contrôle	81
2.6.	Comparaison des stratégies de contrôle.....	85
2.7.	Gestion de la non-conformité	87
2.7.1.	Analyse des causes de la non-conformité	87
2.7.2.	Diagramme de YOUNDEN et identification des types d'erreurs.....	88
2.8.	Interprétation à moyen terme	89
2.9.	Calcul de l'erreur totale	89
2.10.	Calcul de l'incertitude de mesure	91
2.11.	Approche des moyennes normales	93
2.12.	Résumé des intervalles de référence de notre laboratoire	94

TABLE DES MATIÈRES

3. Discussion.....	95
Conclusion.....	112
Bibliographie	
Annexes	

Introduction

La biologie médicale est devenue, à la suite d'une évolution profonde de l'approche médicale et de la connaissance scientifique, un élément crucial du parcours de soins, déterminant pour le diagnostic, l'évaluation pronostique, le suivi ainsi que la prise en charge thérapeutique de la majorité des pathologies.

Pour cela, le choix des méthodes d'analyses ne se fait plus au hasard, mais selon des critères définis, relatifs au principe de la technique et sa fiabilité, aux avancées technologiques intégrant l'automatisation et l'informatisation de l'équipement, à la bibliographie, aux exigences de la clientèle, au coût (1).

L'assurance qualité est depuis longtemps ancrée dans le monde industriel. Son développement dans le domaine de la santé était inévitable tant la moindre erreur peut engendrer de graves conséquences.

Le contrôle de qualité est ainsi un outil universellement reconnu depuis de nombreuses années pour garantir la fiabilité des examens de biologie médicale. Il permet d'évaluer, de corriger et de valider le processus d'analyse partant de l'étape pré analytique ; préparation et prélèvement du patient, l'étape analytique ; analyse de l'échantillon, à l'étape post analytique avec validation des résultats et édition de comptes rendus (1,2).

En effet, il existe deux types de contrôles qualité appliqués dans les LBM : on distingue le Contrôle de Qualité Interne, élément clef de la validation analytique des résultats et l'Evaluation Externe de la Qualité qui représente un contrôle rétrospectif inter laboratoires des résultats fournis (3,4).

Le CIQ est exploité afin d'assurer la validation analytique, la maîtrise métrologique, des instruments d'analyses et la détermination de l'incertitude de mesure (5).

En raison de récents textes portant réforme de la biologie médicale, le CIQ devient un point important de la démarche d'accréditation des laboratoires (2).

La maîtrise du processus analytique est une des exigences clé de cette norme. Ainsi, après vérification ou validation initiale d'une méthode, le contrôle de qualité constitue un moyen de vérification en continu de la maîtrise de ce processus. Cette vérification continue apporte une confirmation et une preuve permanente de la fiabilité des résultats rendus.

L'accréditation selon la norme ISO 15189 relative aux laboratoires d'analyses médicales est indispensable pour avoir la reconnaissance formelle de compétences du laboratoire à effectuer les analyses médicales.

En Algérie, l'accréditation des LBM n'est qu'au début du chemin où un seul laboratoire est accrédité : le laboratoire FECHKEUR situé à Hassi Messaoud qui est accrédité en novembre 2016 pour le dosage sanguin de certains paramètres biochimiques.

L'objet de ce travail est de présenter les moyens que nous avons mis en œuvre pour répondre d'une manière explicite à certaines exigences de la norme « chapitres 5.5 et 5.6 de la norme ISO 15189 d'accréditation », au laboratoire de Biochimie du CHU Tizi Ouzou, en vue d'un futur projet d'accréditation.

Ces exigences de la qualité sont réglementaires et traitées par différents organismes de qualité, mais le référentiel permettant de définir les qualités souhaitables d'une technique d'analyse n'existe pas. Ainsi ; des sondages en laboratoires montrent que la pratique réelle diffère considérablement des modèles proposés et des calculs obligatoires en raison de la diversité des approches de contrôle de qualité.

Néanmoins, toute autre démarche argumentée et documentée est cependant acceptable. Dans tous les cas, le laboratoire devra démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire les exigences requises.

Dans l'optique de comparer les différentes approches de mesure de la qualité ; On a abordé aussi celles des autres référentiels (les normes CLIA et CLSI) afin de pouvoir répondre à la problématique de notre travail s'articulant sur l'impact du choix libre de la démarche qualité incombé au biologiste sur le niveau de qualité des analyses médicales.

Objectifs

Dans notre travail on s'est intéressé à la vérification des exigences techniques recommandées par la norme ISO 15189 d'accréditation des laboratoires d'analyses médicales et à la planification du système de gestion de la qualité, on a traité différents points :

- Une vérification / validation des méthodes, qui est un prérequis au lancement du contrôle qualité.
- Un audit interne du contrôle qualité dans le laboratoire de biochimie du CHU Tizi Ouzou, qui représente une composante du contrôle des processus, s'intéressant au contrôle des étapes analytiques dans le but de détecter les différentes erreurs du système analytique.
- Un essai de planification du système de gestion de la qualité selon l'approche métrique sigma.

Revue de la littérature

Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale.

1. HISTORIQUE

Les organisations professionnelles de la biologie médicale ont découvert l'intérêt du contrôle qualité dans les laboratoires qui a été bien avant amorcé dans d'autres domaines.

Dès l'année 1924, les bases du contrôle de qualité sont posées aux Etats-Unis dans une note interne rédigée par W. A. Shewhart alors employé au sein du premier département d'assurance de la qualité.

En 1947, Belk et Sunderman signalent la grande dispersion des résultats obtenus par différents laboratoires sur des échantillons provenant d'un même spécimen biologique.

En 1950, pour une meilleure maîtrise de la qualité des analyses quantitatives, Levey et Jennings préconisent d'associer à l'emploi de matériaux de contrôle des cartes de contrôle dans les LBM.

Au début des années 1980, Westgard propose des règles de contrôle, pour qu'il y ait une faible probabilité de rejets intempestifs des séries analytiques et une probabilité élevée de détection des erreurs systématiques ou aléatoires (6).

Ces règles permettent ainsi de prendre des décisions immédiates, plutôt que de pratiquer des études rétrospectives sur des observations antérieures (7).

2. GÉNÉRALITÉS

2.1. Qualité

Comme dans n'importe quel autre domaine, la qualité dans le secteur de la santé demeure une préoccupation universelle et son amélioration en continue entre en défis pour des prises en charges et des soins efficaces (8-11) .

La définition classique de la qualité est représentée par l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou un service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins implicites et explicites d'un client (1, 9, 10, 12, 13) .

La qualité au niveau des laboratoires peut se ramener aux exigences métrologiques et techniques ou aux exigences économiques et sociales (1,14,15) .

2.2. Les référentiels qualité applicables dans les laboratoires de biologie médicale

Il existe divers référentiels applicables dans le domaine de la santé.

2.2.1. Organisation internationale de normalisation ISO

2.2.1.1. Définition

L'Organisation Internationale de Normalisation ou International Organization for Standardization (en Anglais) désignée par le sigle **ISO**, est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation d'environ 160 pays. Créée le 23 Février 1947 à Londres selon le principe d'un seul membre par pays.

L'ISO est un organisme non gouvernemental, qui vise à promouvoir le développement de normes et permet de s'assurer qu'un produit ou un service respecte certaines exigences.

L'élaboration des normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Elles sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO, ces normes sont classées en 20 séries (plus de 19.500) (13, 16, 17) (Annexe I) .

2.2.1.2. Différentes normes ISO

Une norme est un texte de consensus établi par les membres d'une profession au sein d'un organisme de normalisation dont l'adoption est volontaire et non obligatoire (12, 13, 16).

2.2.1.2.1. Norme ISO 9001 : « Système de management de la qualité »

Cette norme internationale décrit des exigences relatives au système de management de la qualité. Elles sont génériques et prévues pour s'appliquer à tout organisme, à tout domaine d'activité quelque sera son type, sa taille et le produit fourni (18-21) .

Dans la version 2000, les exigences sont regroupées en cinq chapitres (contre 20 dans la version précédente) :

- **Chapitre 1** : Système de management de la qualité.
- **Chapitre 2** : Responsabilité de la direction,
- **Chapitre 3** : Management des ressources,
- **Chapitre 4** : Réalisation du produit,
- **Chapitre 5** : Mesures, analyse et amélioration.

Dans le cas des laboratoires de biologie, les clients sont les médecins prescripteurs mais aussi les patients. Cette norme permet d'accroître la satisfaction des clients et de démontrer que les produits sont conformes à leurs attentes et aux exigences réglementaires applicables. Elle peut conduire de surcroît à l'obtention d'une certification résultant d'une démarche volontaire (4, 18).

« Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale »

2.2.1.2.2. Norme ISO/CEI 17025 : « Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais »

Née en mai 2000 de la fusion de la norme 45001 et du guide ISO/CEI 25. Ses dispositions générales sont très voisines de la norme ISO 9001. Les prescriptions techniques font sa spécificité, tout ce qui concourt au résultat de l'analyse doit être pris en compte. Elle est conçue pour l'accréditation des laboratoires d'étalonnages et d'essais par des professionnels du secteur (12, 18, 20, 21).

La dernière version de cette norme éditée en 2005 inclue les chapitres suivants :

- **Chapitre 01** : Domaine d'application.
- **Chapitre 02** : Références normatives.
- **Chapitre 03** : Termes et définitions.
- **Chapitre 04** : Les exigences pour une gestion valable
- **Chapitre 05** : Les exigences pour la compétence technique d'essai et/ou d'étalonnage qu'effectue le laboratoire (18, 19, 21).

2.2.1.2.3. Norme ISO 15189 : « Laboratoires d'analyses de biologie médicale-Exigences particulières concernant la qualité et la compétence »

Elle est beaucoup plus spécifique, fondée à partir des normes ISO 9001 et ISO 17025 dans le but d'harmoniser les pratiques en matière d'accréditation des laboratoires de biologie médicale (4, 18, 20).

Elle fournit les exigences de compétence et de qualité propres aux laboratoires d'analyses de biologie médicale. La première version de cette norme date de 2003 (16, 22) .

La version actuellement en vigueur date de 2012 ; elle comporte cinq chapitres (1, 4, 18, 20, 22) :

- **Chapitre 01** : Domaine d'application.
- **Chapitre 02** : Références normatives.
- **Chapitre 03** : Termes et définitions.
- **Chapitre 04** : Exigences relatives au management (annexe I).
- **Chapitre 05** : Exigences techniques (annexe I).

Les chapitres 4 et 5 constituent les deux parties majeures et principales.

2.2.2. Autres référentiels

2.2.2.1. CLIA (Amendements de 1988 pour l'amélioration des laboratoires cliniques / Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988), États Unis d'Amérique

Le CLIA a été mandaté par la loi en 1988, faisant passer tous les laboratoires d'analyse médicale aux Etats-Unis sous la loi fédérale.

L'objectif du programme du CLIA est d'assurer la qualité des analyses de laboratoire, quel que soit l'endroit où elles sont réalisées (3, 23).

2.2.2.2. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

Anciennement connue sous le nom de National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Le CLSI a développé un modèle de système de gestion de la qualité basé sur les douze points essentiels du système qualité « voir figure 2 page 10 » qui est totalement compatible avec les normes ISO de laboratoire (3, 23).

2.3. Processus de fonctionnement d'un laboratoire d'analyses médicales

De nombreuses procédures et méthodes sont mises en œuvre dans un laboratoire. Les standards ISO regroupent ces processus dans les catégories pré analytiques, analytiques, et post analytiques (3, 13).

La figure 01 montre le processus de fonctionnement d'un laboratoire de biologie médicale

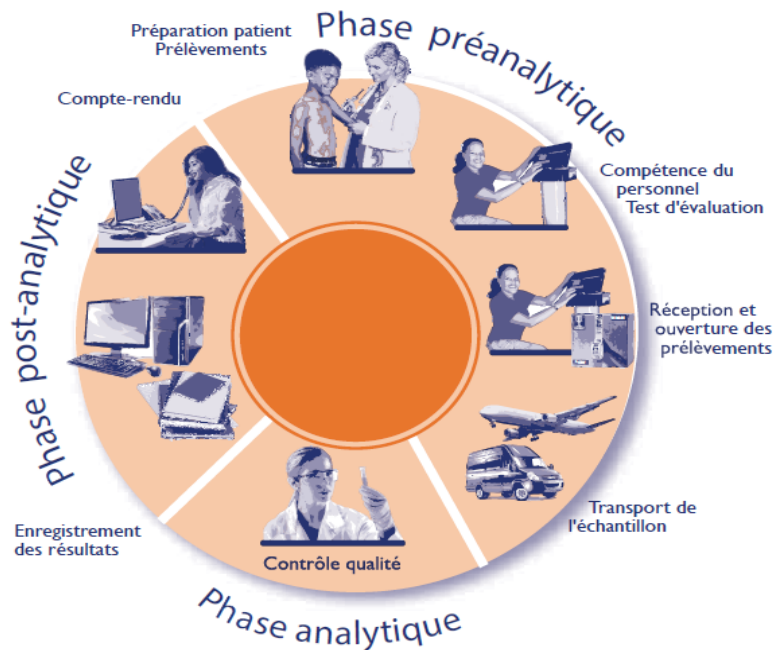


Figure 01 : processus de fonctionnement d'un laboratoire d'analyses médicales (3).

2.3.1. Phase pré-analytique

Série d'étapes avant l'analyse, comprenant la demande d'analyse, la préparation du patient, le prélèvement du spécimen/échantillon biologique humain, son acheminement et sa conservation jusqu'au site de la phase analytique (13, 24, 25).

2.3.2. Phase analytique

Étapes d'analyse à proprement parlé, débutant sur tout ou une partie de l'échantillon biologique (aliquote), comprenant une préparation éventuelle du spécimen (prétraitement : réaction chimique, incubation, ...), jusqu'à obtention d'un résultat d'analyse (mesure, identification, lecture, ...), généralement à l'aide d'un instrument de mesure analytique (13, 24, 25).

Trois types de méthodes d'analyse sont ainsi utilisés pour le traitement des échantillons :

➤ Méthode qualitative

Méthode générant un résultat n'apportant pas d'information sur la quantité de l'analyte mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif); on classe dans cette catégorie tous les examens où aucune mesure d'une donnée quantifiable ne peut être déterminée (26-31).

➤ Méthode quantitative

« Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale »

Méthode fournissant un résultat chiffré, dont les limites basses et hautes sont connues, à partir de la mesure d'un signal en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte à mesurer (26-31).

➤ Méthode semi-quantitative

Méthode fournissant un résultat de type qualitatif (positif/négatif) extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (signal continu) (26-31).

Ce type de méthode est assimilable à une méthode quantitative.

2.3.3. Phase post analytique

Toutes les étapes qui suivent l'obtention du résultat de l'analyse (examen), comprenant le transfert des données, la revue systématique, la mise en forme et l'interprétation, la validation, le compte rendu et la transmission des résultats et le stockage des échantillons biologiques examinés (13, 24, 25).

La maîtrise de toutes ces étapes ainsi que leur réalisation permettraient au laboratoire d'éviter un grand nombre d'erreurs.

2.4. Gestion et Assurance de qualité

Assurance qualité étant toutes les actions planifiées et systématiques nécessaires pour fournir la confiance adéquate qu'un produit ou service satisfera aux exigences données de qualité (1, 12, 31, 32).

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance de la qualité basé sur des procédures opératoires écrites concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution (3, 12, 17).

Le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) a développé un modèle de système de gestion de la qualité qui organise toute les activités du laboratoire autour de douze points essentiels du système qualité et est totalement compatible avec les normes ISO (3, 13, 21).

Ce modèle est représenté dans la figure 02.

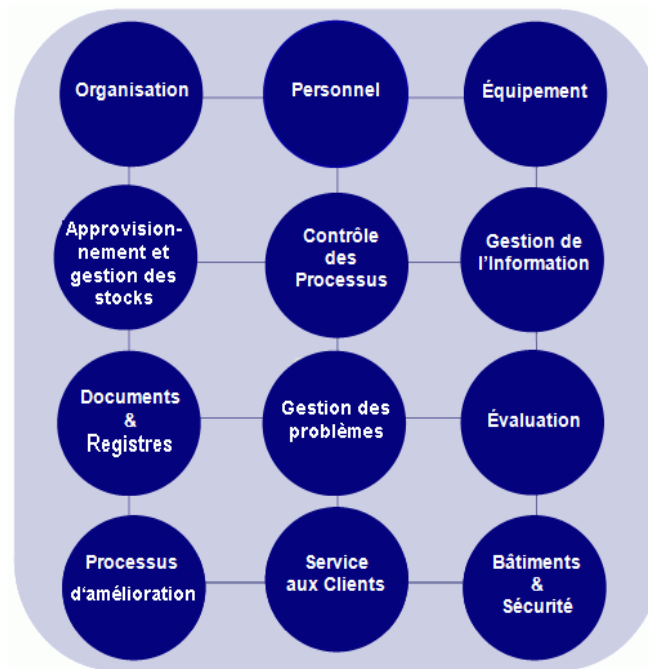


Figure 02 : Modèle CLSI de gestion de la qualité (3).

- **Logique de l'assurance qualité**

L'assurance qualité suit une certaine logique ; le point de départ est le besoin du client pour arriver jusqu'à sa traduction sous la forme de spécifications techniques propres. (voir figure 03).

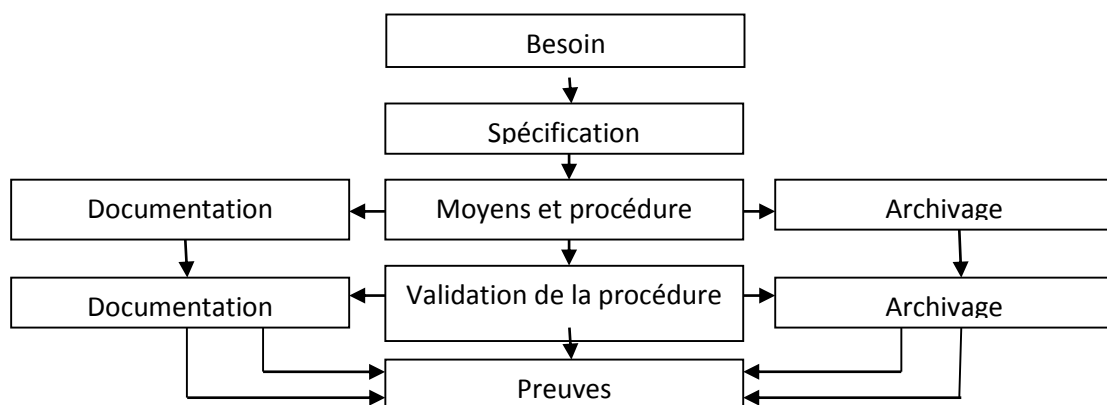


Figure 03 : logique de l'assurance qualité (1).

3. Contrôle qualité

3.1. Définition du contrôle qualité

Dans un sens large, le contrôle de qualité peut se définir comme un ensemble de moyens pour assurer la fiabilité des résultats jour après jour et sur une longue période de temps. Il s'applique à tous les types de méthodes, soit quantitatifs, semi-quantitatifs ou qualitatifs (28, 29, 33-35).

Le contrôle de qualité est exigeant et nécessite la réalisation de plusieurs étapes primordiales. Selon le type de la méthode et la catégorie de matériaux de contrôle utilisés, il renseigne sur les indicateurs de performance (28, 29, 35).

3.2. Place du contrôle qualité dans le cycle de vie d'une méthode et concept de stratégie de contrôle qualité aujourd'hui

Une méthode d'analyse comme tout procédé a un cycle de vie : choix de la méthode par le laboratoire, la mise au point du mode opératoire et son adaptation aux conditions opératoires du laboratoire. La figure 04 montre la place du contrôle qualité dans le cycle de vie d'une méthode.

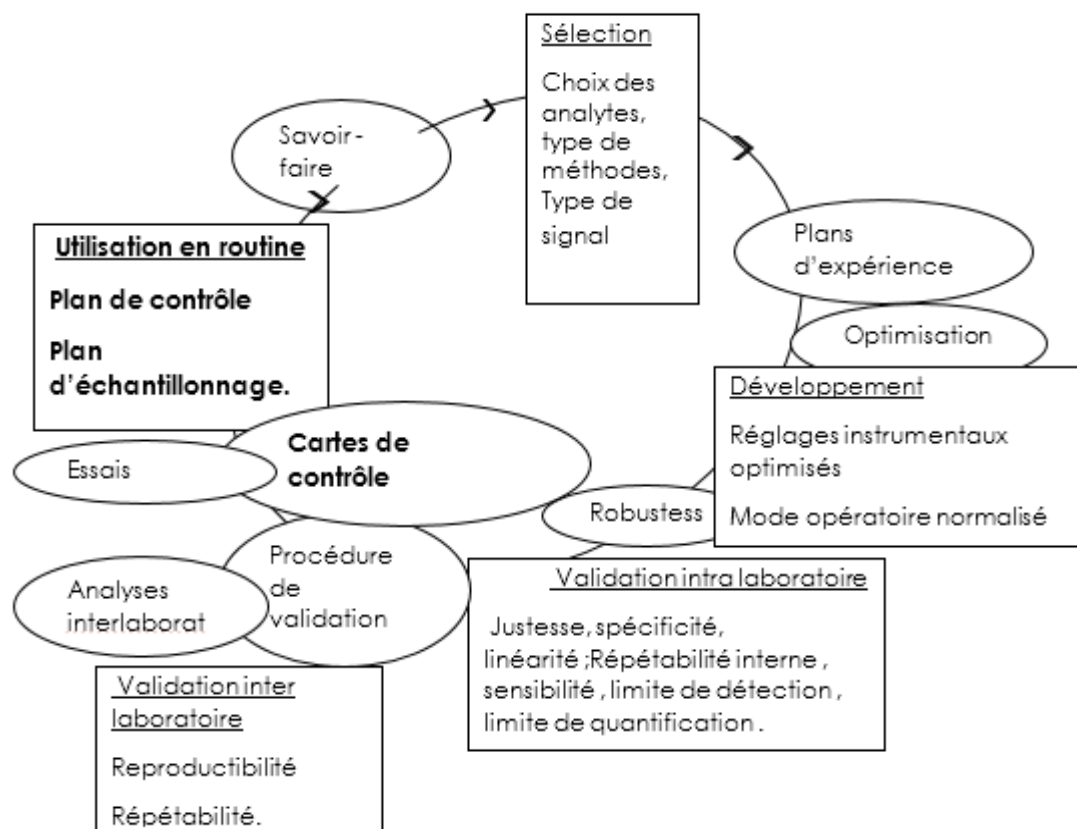


Figure 04 : critères de procédures de validation liés au cycle de vie d'une méthode d'analyse (1).

3.3. Types de contrôle qualité

3.3.1. Contrôle interne de qualité

3.3.1.1. Définition

Le contrôle interne de qualité(CIQ) se définit comme un ensemble de procédures destinées à être conduites dans un laboratoire pour surveiller les performances de ces méthodes pour les valider techniquement .Ces systèmes de contrôle interne doivent permettre d’obtenir des informations claires sur lesquelles baser les décisions techniques et médicales » (2, 27-30, 35)

3.3.1.2. Objectifs

- ✓ Le contrôle interne de qualité a pour but d'identifier tout dysfonctionnement du processus analytique, en temps réel, afin de prévenir la fourniture d'un résultat inexact et ainsi participe à la validation des séries d'analyses.
- ✓ Il permet également d'apporter la preuve de la maîtrise du système analytique.
- ✓ Il permet la prévention des anomalies.
- ✓ Il fournit les données nécessaires à l'évaluation de l'incertitude des résultats (2, 13, 21, 27, 35-37) .

3.3.2. Comparaison inter laboratoire

C’est une organisation, exécution et évaluation de mesurages ou d'essais sur la même entité ou sur des entités similaires par deux laboratoires ou plus selon des conditions prédéterminées (16, 29, 30, 36). Ainsi on distingue deux types :

3.3.2.1. Contrôle qualité externe

3.3.2.1.1. Définition

Appelé aussi évaluation externe de la qualité (EEQ) : Procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais d'une comparaison inter laboratoire réalisée par une tierce organisation.il sert à contrôler à posteriori la justesse d'une méthode par rapport à un système de comparaison (15, 30, 35, 36) .

3.3.2.1.2. Objectifs

Il a un objectif de formation continue et d’éducation. Il améliore la performance des participants et renforce la confiance dans les résultats transmis.

« Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale »

Il peut aussi servir à démontrer la qualité des résultats à des tiers tels que médecins, patients, organisme d'agrément (28, 37, 38).

3.3.2.2. Contrôle de qualité interne externalisé

3.3.2.2.1. Définition

Réalisé par plusieurs laboratoires sur un même lot d'échantillons de contrôles confrontés entre eux par établissement périodique des moyennes (généralement mensuel). Le CIQ externalisé ne fait pas partie de l'évaluation externe de la qualité (28, 30, 37)

3.3.2.2.2. Objectifs

Parmi ces objectifs c'est de vérifier du pré au post analytique ainsi que d'évaluer et de comparer différentes méthodes d'analyses (28, 37).

3.4. Procédures de contrôle qualité

3.4.1. Procédures de contrôle qualité interne

Le CIQ implique les étapes pratiques entreprises pour s'assurer que les erreurs dans les données analytiques sont d'un ordre de grandeur approprié à leur utilisation pour cela plusieurs outils sont mis en place (16, 28, 29, 35, 37).

3.4.1.1. Mise en œuvre d'un contrôle qualité interne

Indépendamment du type d'analyse réalisé, les étapes pour mettre en œuvre un programme de CQ sont :

- Etablissement d'une procédure écrite (nature des échantillons, périodicité...);
- Définir les responsabilités pour contrôle et la supervision ;
- Former tout le personnel sur la façon appropriée de suivre les procédures ;
- Choisir un bon matériel de contrôle qualité ;
- Etablir des intervalles et limites de contrôle pour le matériel choisi ;
- Développer des graphiques pour relever les valeurs du contrôle, ceux-ci sont nommés diagrammes de Levey-Jennings ;
- Créer un système pour contrôler la valeur du contrôle (application des règles de Westgard) ;
- Prendre des mesures de correction si nécessaire ;
- Conserver un enregistrement des résultats du contrôle qualité et des actions correctives entreprises (29, 35).

3.4.1.2. Matériel de contrôle (flacons de contrôle)

Un contrôle est un matériau semblable à celui d'un patient, idéalement fabriqué à partir de sérum humain, d'urine ou de liquide céphalo-rachidien (LCR)(2, 29).

Un contrôle peut être liquide ou lyophilisé. Il se compose d'un ou de plusieurs constituants (Analytes) de concentration connue. Les contrôles doivent être dosés de la même manière que les échantillons de patients (2, 3, 29) .

- Pour un analyte donné, les bonnes pratiques de laboratoire exigent des CIQ effectués en parallèle sur deux niveaux différents voir plus, un niveau normal (physiologique) et un autre pathologique, afin de couvrir tous les domaines des valeurs rencontrées en routine et avoir des valeurs cliniquement significatives (2, 11, 29).

3.4.1.3. Protocole analytique et fréquences de lancement

L'utilisation d'au moins deux échantillons de contrôle choisis à deux niveaux différents de concentration est recommandée. Ce nombre est choisi en fonction des performances analytiques de la méthode analytique et de l'étendu de l'intervalle de mesure.

La fréquence est déterminée en fonction du risque accepté, de la stabilité des performances du système analytique dépendant de la taille de la série et des règles d'interprétation utilisées (taux de détection des non-conformités) (35).

3.4.1.4. Outils statistiques

3.4.1.4.1. Loi normale

Loi statistique connue aussi sous le nom de loi Gaussienne, loi de Laplace-Gauss ; une des lois de probabilités les plus adaptées pour modéliser des phénomènes naturels issus de plusieurs événements aléatoires qui dépend de deux paramètres : son espérance μ et son écart type σ (39).

La figure 05 montre une distribution gaussienne

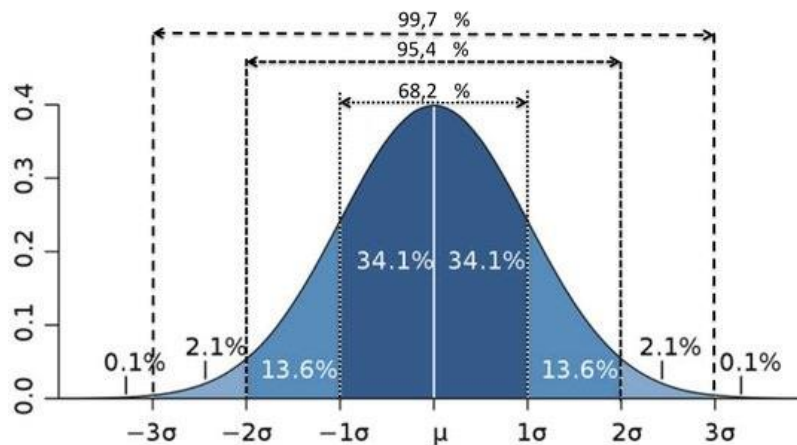


Figure 05 : schéma représentant la courbe Gaussienne (loi normale) (3)

Quand un processus analytique est sous contrôle, environ

- 68.2% des valeurs de CQ sont comprises entre $\pm 1\text{ET}$;
- 95,4% des valeurs de CQ sont comprises entre $\pm 2\text{ET}$;
- 99,7% des valeurs de CQ sont comprises entre $\pm 3\text{ET}$ (2, 39).

Parmi les tests destinés à vérifier la compatibilité d'une distribution avec celle de la loi normale on distingue :

- **Techniques empiriques et méthodes graphiques**

- Histogramme des fréquences**

Outil le plus fréquemment utilisé, tracé à partir des données classées en abscisses et les fréquences en ordonnées (39).

- QQ plot**

Quantile-quantile plot, est une technique graphique qui permet de comparer les distributions de deux ensembles de données (39).

- **Tests statistiques**

- Test de Shapiro-Wilk**

Très populaire, en comparaison des autres tests, il est particulièrement puissant pour les petits effectifs (39).

- **Autres tests**

Plusieurs autres tests statistiques peuvent être utilisés selon le type de données à analyser à l'exemple de : Test de Jarque-Bera, Kolmogorov Smirnov, Anderson-Darling et test de Lilliefors(39).

3.4.1.4.2. Paramètres de positionnement

➤ **Moyenne**

La moyenne correspond à la meilleure estimation par le laboratoire de la valeur vraie d'un analyte pour un niveau de contrôle spécifique(2)

$$m = \frac{\sum (Xi)}{n}$$

Xi : résultat de l'échantillon de contrôle

n : nombre de résultats

➤ **Médiane**

Valeur qui partage le groupe de valeurs étudiées en deux sous-groupes de même effectif.

La médiane correspond au centile 50 (percentile en anglais).

➤ **Mode**

Valeur la plus fréquente d'une distribution, dans le cadre d'une distribution Gaussienne (Loi Normale), la moyenne, la médiane et le mode sont confondus.

3.4.1.4.3. Paramètres de dispersion

➤ **Variance**

Paramètre statistique indiquant la dispersion des valeurs au niveau de la moyenne (m) d'une série de mesures (30)

$$\text{Variance} = \frac{\sum (xi - m)^2}{n - 1}$$

➤ **Ecart-type (ET)**

Paramètre qui qualifie la dispersion des valeurs entre elles (2)

$$ET = \sqrt{\text{variance}}$$

➤ **Coefficient de variation (CV %)**

C'est une mesure de la dispersion de résultats, calculée en divisant l'écart-type par la moyenne et en reportant le résultat sous forme de pourcentage (30).

$$CV = 100 \times ET/m$$

Intérêt : permet de comparer les performances des techniques et la précision globale.

Il peut être considéré aussi comme un pondérateur de statistiques.

➤ **Etendue**

Différence entre la plus petite et la plus grande des valeurs observées.

3.4.1.5. Cartes de contrôle

3.4.1.5.1. Constitution d'une carte de contrôle

➤ **Cartes de levey jennings**

Le diagramme de Levey-Jennings représente l'outil de base de suivi des données individuelles de contrôle interne de qualité. Il est construit autour de caractéristiques statistiques (moyenne, écart type, etc.) (35).

Celui si n'est pas le seul scientifiquement valable mais c'est le plus communément utilisé).

Le tableau de Levey-Jennings présente les valeurs de contrôle de qualité (série par série ou jour après jour) chronologiquement sous forme de graphique. Chaque test et chaque niveau de contrôle possèdent son tableau (4, 19, 26, 41, 42).

Sur ce graphique est tracée une ligne centrale représentant la valeur moyenne cible ainsi que les limites de décision. Ces limites sont de plus ou moins 1, 2 ou 3s par rapport à la moyenne (2, 4, 19, 26, 41, 42) .

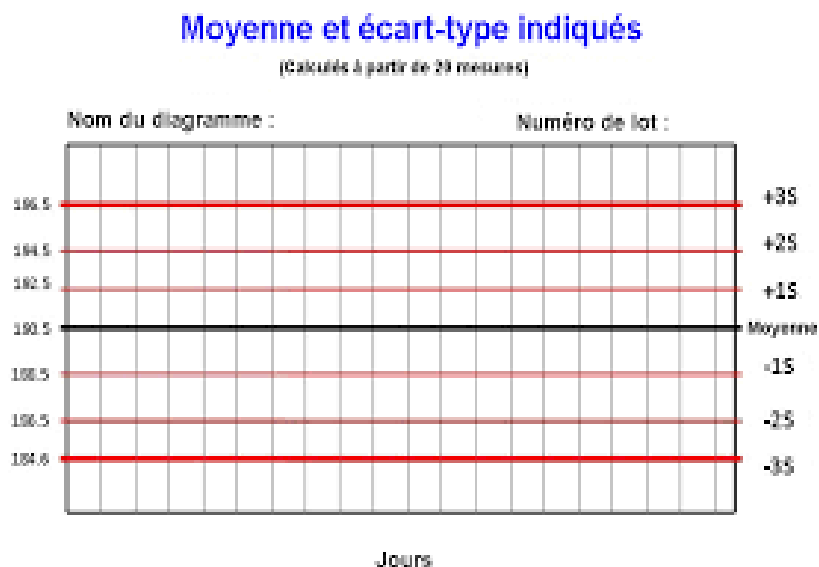


Figure 06 : schéma représentant le diagramme de levey-jennings (2).

On

légende l'axe des abscisses avec les jours, la série ou tout autre intervalle utilisé pour réaliser le CQ avec mention sur le diagramme le nom de l'analyse et le numéro de lot du contrôle (3, 4, 19, 26, 41, 42).

➤ **Cartes Z score**

Le Z score est une mesure normalisée du biais elle se calcule par la formule suivante :

$$Z = (m - \text{valeur cible}) / s$$

m : moyenne

s : écart type

Un Z score signifie que la valeur de contrôle observée est de Z écarts types par rapport à la moyenne prévue (43) .

La carte Z score présente les valeurs de contrôle de qualité chronologiquement sous forme de graphique et permet de :

- Comparer les résultats de CQ de plusieurs matériaux de contrôle au même temps ;
- Comparer les résultats de CQ de plusieurs paramètres en même temps ;
- Comparer les résultats de CQ de plusieurs automates en même temps ;
- Identifier facilement les erreurs systématiques (43) .

➤ **Autres**

- **Cartes CUSUM (Cumulative Sum)**

Des diagrammes CUSUM sont tracés à partir des moyennes, variances, valeur de la somme cumulée.

La méthode CUSUM est une technique de sommes cumulées, cette méthode serait deux fois plus puissante pour détecter des changements systématiques de la moyenne et de la variance que les méthodes habituelles .C'est une technique qui permet d'interpréter les données soit visuellement, soit par utilisation d'une méthode statistique (41).

- **Moyenne des normaux**

La moyenne des normaux correspond à la moyenne des résultats du jour des analyses des patients, paramètre par paramètre, pour un laboratoire donné.

Cette moyenne, pour un laboratoire donné, est d'une grande stabilité : sur un mois, sur un an, sur une journée. Cela permet, après avoir défini sa propre moyenne qui correspond à sa propre clientèle (recrutement), de s'assurer qu'il n'y a pas de dérive. En cas d'anomalie du CIQ, cela peut permettre de valider ou non la série (dérogation) (2).

- **Diagramme de Youden (graphique TWIN-PLOT des valeurs couplées)**

Il intéresse deux échantillons de contrôle A et B à deux concentrations différentes. Il consiste en la superposition orthogonale de deux graphiques de Levey-Jennings.

Il permet de visualiser et d'apprécier les composantes systématique et aléatoire de l'erreur totale. En pratique, l'intérêt de ce diagramme est mineur (44).

3.4.1.5.2. Interprétation des cartes de contrôle

Après la représentation des résultats de contrôle pour tous les niveaux analysés sur le graphique de Levey-Jennings, on interprète les résultats selon des règles documentées.

Ces règles permettent de décider si un résultat de contrôle interne peut être déclaré acceptable ou non et de valider par la suite les résultats d'analyses des patients.

D'une façon générale, les résultats compris dans l'intervalle $\pm 2 s$, représentant 95% des valeurs normales, sont validés. Les résultats différant de plus de 2 s doivent faire l'objet d'une analyse utilisant les résultats observés, notamment avec les deux échantillons de contrôle choisis à deux niveaux de concentration différents (35).

3.4.1.5.2.1. Types d'interprétation

L'interprétation s'effectue dans le temps en plusieurs étapes et permet la mise en place de corrections et/ou d'actions correctives.

- **Interprétation immédiate des résultats**

Il s'agit de détecter, en temps réel, par rapport au fonctionnement habituel du système analytique, des résultats déviants, révélateurs d'une anomalie dans le processus d'analyse. La détection d'une tendance peut également permettre la prévention de la dégradation du processus (35).

L'interprétation est basée en règle générale sur l'utilisation de l'écart type qui estime la dispersion habituelle des résultats et permet de définir des limites d'acceptabilité à l'intérieur desquelles peuvent varier les résultats.

Les séries pour lesquelles toutes les valeurs sont situées dans ces limites sont validées, les séries pour lesquelles les valeurs ne sont pas toutes dans les limites doivent être examinées et les échantillons de patients éventuellement ré analysés (4, 35).

- **Interprétation différée à moyen terme**

L'interprétation différée à moyen terme (par ex., mensuelle) permet de surveiller la fidélité intermédiaire et de déceler une tendance pour prévenir une dégradation du processus.

Elle peut aussi évaluer la justesse des méthodes analytiques lors de l'intégration des données de contrôle interne de qualité dans des programmes de comparaison inter-laboratoires.

Elle permet la conduite d'éventuelles actions correctives (35).

- **Interprétation à long terme**

Elle permet de surveiller la pérennité des résultats au cours du temps. Les données accumulées témoignent de l'efficacité du système et permettent le calcul de l'incertitude de mesure des résultats (35).

L'interprétation à long terme permet de s'assurer que les variations des moyennes et écarts type pour chaque niveau et chaque analyse restent dans les limites préétablies.

3.4.1.5.2.2. Règles d'interprétation

- **Le système de Westgard**

James westgard a mis en place un système de détection d'erreurs et d'exploitation des résultats, il a inventé une notation abrégée pour exprimer ses règles de contrôle de qualité qui, pour la plupart, peuvent être notées NL (N représente le nombre de données de contrôles évalué et L la limite statistique d'évaluation des données de contrôle « s » représente l'écart type). Ainsi, 13s représente une règle qui est violée lorsqu'une valeur de contrôle excède les limites de plus ou moins 3 écarts types (2, 35).

Règle 12s : Une seule valeur de contrôle est en dehors des limites de $\pm 2ET$

Ce type d'alarme signe la présence d'une erreur aléatoire, toujours interprétée comme une règle d'alarme ne mettant pas en cause la validation des résultats (35).

Règle 13s : Elle est généralement utilisée en intra-série. Détecte les erreurs aléatoires inacceptables et peut aussi indiquer le début d'une erreur systématique importante. Tout résultat de CQ en dehors des $\pm 3ET$ violent cette règle (35).

Règle 22s : Deux résultats de CQ consécutifs supérieurs à 2ET du même côté de la moyenne Cette règle indiquant une erreur systématique peut être utilisée en intra- et en inter-série(35).

« Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale »

Règle R4s : Elle indique la présence d'une erreur aléatoire (35) .

S'il y a au moins une différence de 4ET entre les valeurs de contrôle dans une seule série, la règle est violée.

Règle 41s : Cette règle peut être utilisée en intra- et en inter-série (35)

Quatre résultats consécutifs supérieurs à 1ET du même côté de la moyenne

Règle 10x : Traduisant une erreur systématique.

10 points de contrôles consécutifs du même côté de la moyenne indépendamment de l'écart type (35) .

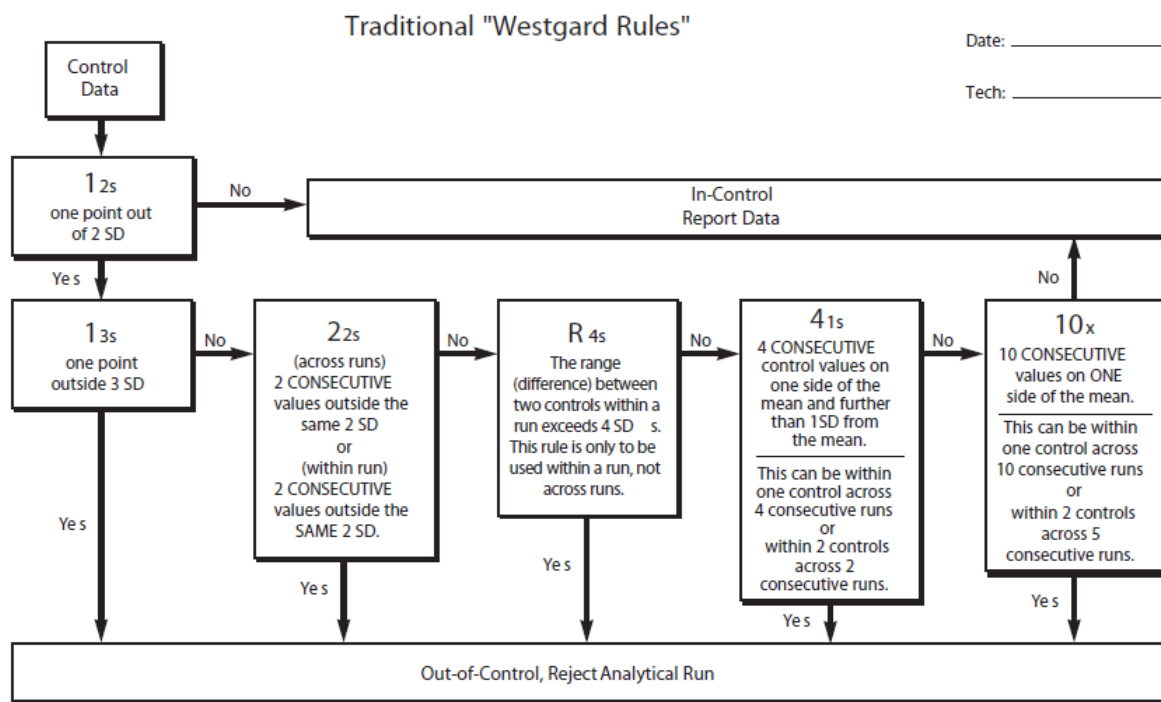


Figure 07 : anciennes règles de Westgard (47).

Les règles de westgard ont été actualisées ; modernisées comme le montre la figure 08 :

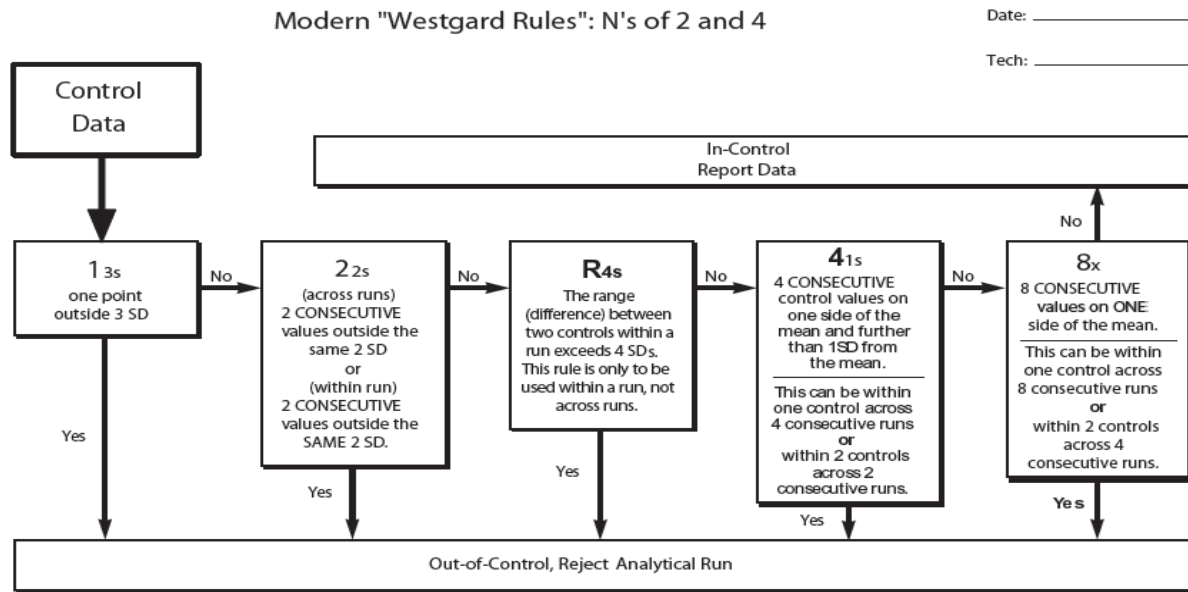


Figure 08 : nouvelles règles de Westgard (47).

Dans les nouvelles règles : La règle 12S a été omise et la règle 10x a été remplacée par la règle 8x.

3.4.1.5.2.3. Violation des règles : Types d'erreurs

✓ Erreurs systématiques

Estimée par le biais ; une erreur systématique est détectée dès qu'il y a changement de la moyenne des valeurs de contrôle (2).

Elles sont caractérisées par une déviation de tous les résultats dans la même direction ; les résultats anormalement abaissés ou augmentés.

Tous les échantillons sont affectés d'une valeur du même ordre de grandeur : soit proportionnelle à la concentration de l'analyte à doser : erreur systématique proportionnelle ; soit indépendante de la concentration de l'analyte à doser : erreur systématique constante (4, 7, 30, 35)

- **Erreur systématique constante**

Un changement brutal des conditions opératoires est en cause. Il faut vérifier le réactif : son aspect, sa date de péremption, sa stabilité, les conditions de préparation et de stockage

etc. Si ce n'est pas le réactif, il faut vérifier les conditions opératoires de la réaction (température ...), la nature du blanc de la réaction (4, 7, 30, 35)

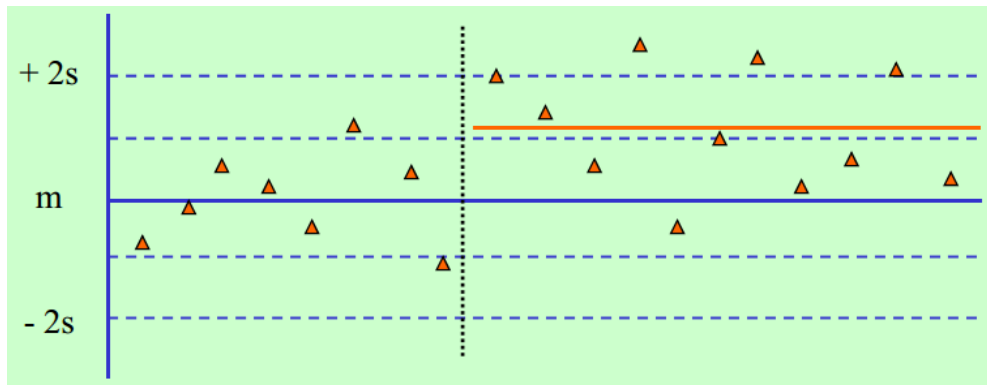


Figure 09 : Erreur systématique constante (4).

- **Erreurs systématiques progressives « proportionnelle »**

Une telle anomalie oriente vers une altération progressive de tout élément du système. Le plus souvent l'étalonnage est concerné. En première intention il faut ré-étalonner le paramètre et contrôler l'étalonnage. Si l'étalonnage ne règle pas le problème il est nécessaire de s'assurer que l'étalon de travail a été correctement conservé et reconstitué (solvant, pipette, délai)

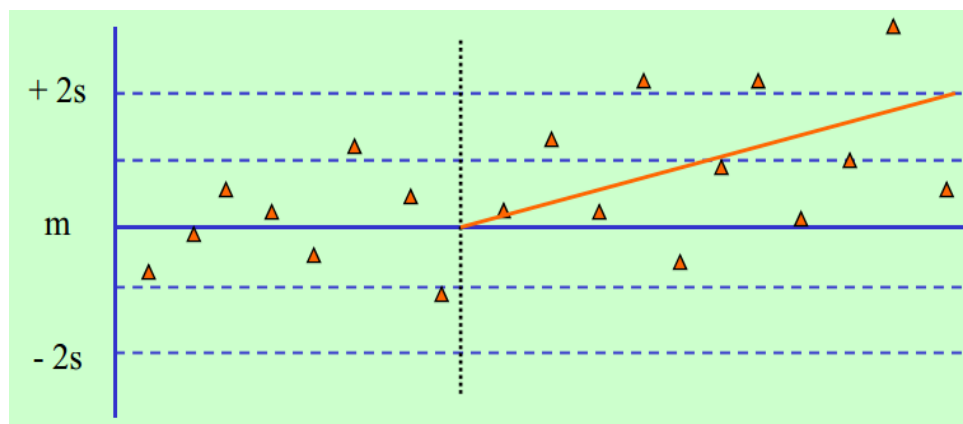


Figure 10 : Erreur systématique progressive (6).

Si ce n'est pas l'étalonnage, il faut vérifier la stabilité des contrôles, de la mesure (4, 30). On distingue parmi les erreurs systématiques les tendances qui peuvent être de deux types :

- **Dérive**

« Chapitre I : Contrôle qualité des laboratoires de biologie médicale »

Une dérive indique une perte progressive de fiabilité dans le système analytique. Les dérives sont habituellement subtiles. Les causes peuvent être multiples (2, 4) :

- Détérioration de la lampe de l'automate ;
- Accumulation progressive de débris dans les tubulures échantillons/réactifs ;
- Accumulation progressive de débris sur les électrodes ;
- Vieillesse des réactifs ;
- Détérioration progressive des matériaux de contrôle ;
- Variation progressive de la température de la chambre d'incubation ;
- Détérioration progressive de l'intégrité du filtre optique.

• Décalage

Un décalage survient lorsqu'il y a un changement brusque de la moyenne de contrôle. Les décalages dans les données de CQ représentent un changement soudain et important, positif ou négatif dans les performances du système analytique (2, 4).

Les causes peuvent être multiples :

- Défaillance ou variation soudaine de la lampe ;
- Changement de formulation du réactif ;
- Changement de lot de réactifs ;
- Maintenance importante de l'automate ;
- Changement soudain de température d'incubation ;
- Changement de température ou d'hygrométrie dans la pièce ;
- Défaillance dans le système de prélèvement d'échantillons ;
- Défaillance dans le système de distribution des réactifs ;
- Mauvaise calibration/recalibration imprécise (2).

✓ Erreur aléatoire

Estimée par le calcul de l'écart type.

Les résultats anormalement abaissés ou augmentés fortuitement.

Tous les échantillons analysés ne sont pas affectés d'une valeur de même signe et du même ordre de grandeur.

Elles résultent, le plus souvent, d'un défaut de maintenance des analyseurs (4).

Ce sont des erreurs de précision.

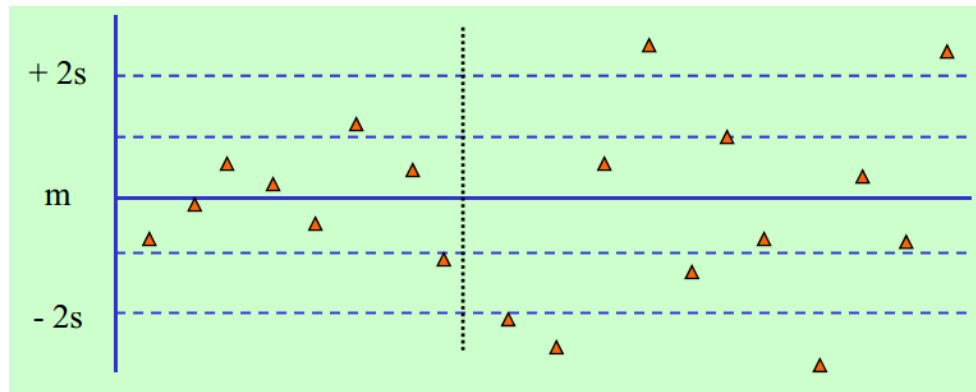


Figure 11 : Erreur aléatoire (4)

✓ **Erreurs grossières**

Elles peuvent être dues à :

- Une erreur sur le matériau de contrôle (changement de lot, erreur de positionnement) : d'autres analytes sont alors perturbés dans le même sens ou en sens contraire ;
- Une mauvaise reconstitution du spécimen de contrôle, suite à un problème de pipetage (erreur de volume, pipette dérégulée, non contrôlée, erreur de liquide de reconstitution etc.) ;
- Une mauvaise conservation du spécimen de contrôle ;
- La congélation ou la décongélation du spécimen de contrôle ;
- La préparation ou le positionnement d'un réactif ;
- La reconstitution, le positionnement ou le changement de lot d'un étalon de travail ;
- Le paramétrage de l'analyse (4, 35).

3.4.1.6. Processus de planification de gestion de la qualité : conditions d'utilisation des règles de Westgard

➤ **Approche Six sigma**

Un sigma est l'écart type, l'origine du 6 Sigma est en statistique la lettre grecque sigma σ désignant l'écart type ; «six sigma » signifie donc « six fois l'écart type » (5).

Développée par Mikel Harry chez Motorola au milieu des années 80 ; Six Sigma a permis d'économiser des millions de dollars dans les sociétés qui ont appliqué la démarche (5).

En biologie médicale, l'approche "Six Sigma" ou sigma métrique peut être envisagée comme un moyen d'optimiser l'efficacité des processus : il s'agit d'une approche globale d'amélioration de la qualité (30).

La figure 12 schématise la méthode sigma métrique.

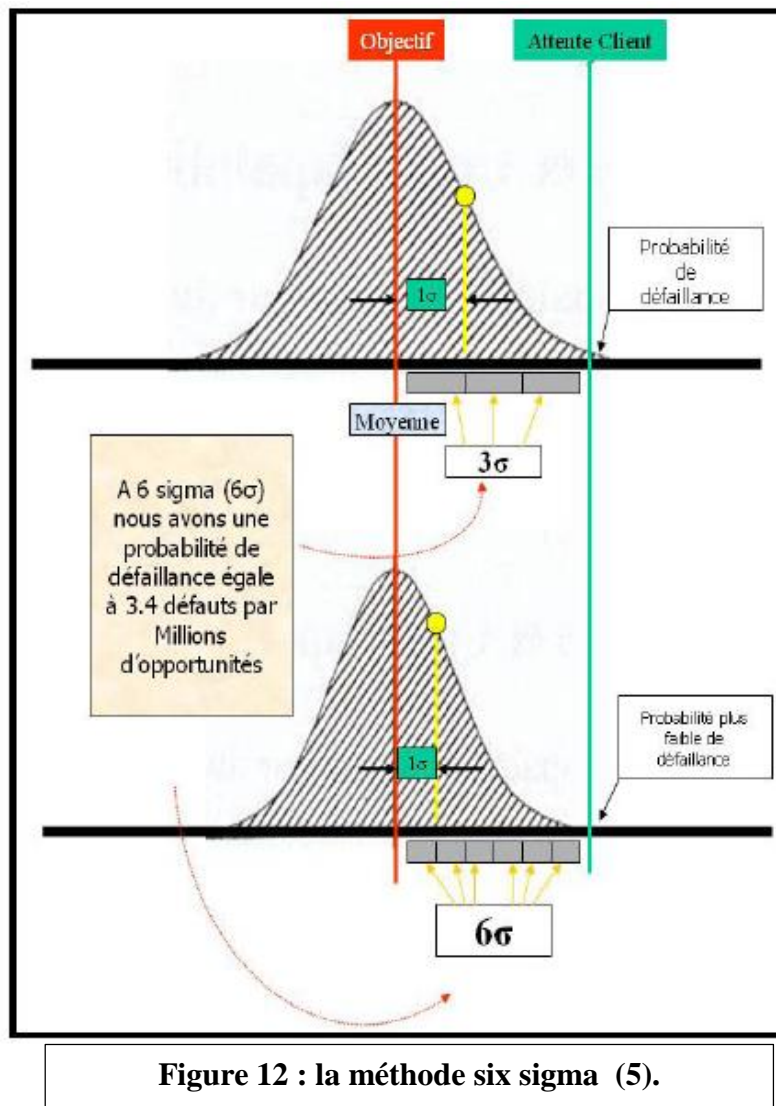


Figure 12 : la méthode six sigma (5).

L'approche "Six Sigma" reflète l'indicateur de capabilité d'une méthode. Elle représente la différence entre la performance demandée (l'erreur totale admissible TEA) et la moyenne exprimée en nombre d'écart-type. D'où la formule :

$$\text{Six métrique} = \frac{\text{TEA} - \text{biais}}{\text{CV}}$$

TEA : erreur totale admissible.

La valeur du sigma permet l'optimisation du choix des règles de Westgard à appliquer et du nombre de contrôles à passer. Cet indice représente également un référentiel efficace pour comparer le niveau de performances de différentes méthodes entre elles (45).

La figure 13 montre la relation entre les règles de westgard et le six sigma.

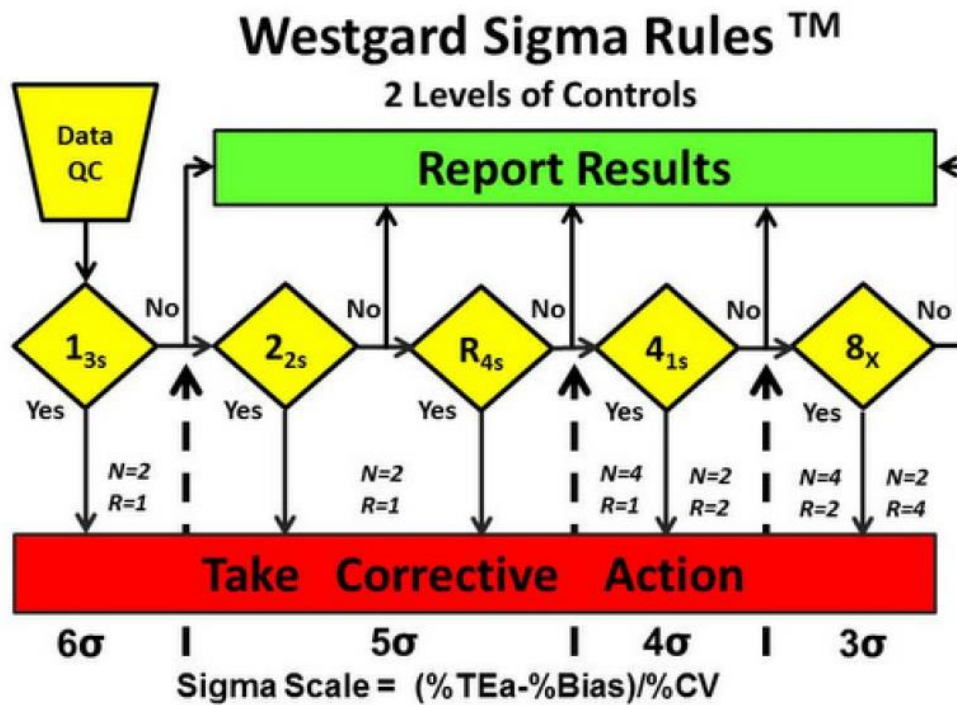


Figure 13 : six sigma et règles de westgard (47).

➤ Diagramme OPSEC normalisé

De nouveaux outils et technologies sont indispensables pour effectuer une planification de CQ d'une manière rapide et efficace. Les diagrammes OPSEC normalisés en font partie.

Pour utiliser les graphes OPSpecs, on doit d'abord définir la qualité requise pour le test d'intérêt, puis rechercher les diagrammes correspondants.

On trace les points de fonctionnement « CV/ETA en abscisse ; Biais/ETA en ordonnée ».

Puis on inspecte les diagrammes pour sélectionner les procédures de CQ dont les limites de fonctionnement sont supérieures au notre. Plusieurs diagrammes sont confectionnés.

Les diagrammes 90% AQA et 50% AQA (Voir figure 14 et 15) sont fournis pour planifier des procédures de CQ qui atteignent 90% de détection d'erreur « généralement préférée » ou 50% de détection d'erreur « pour les méthodes très stables qui ont peu de problèmes »(46).

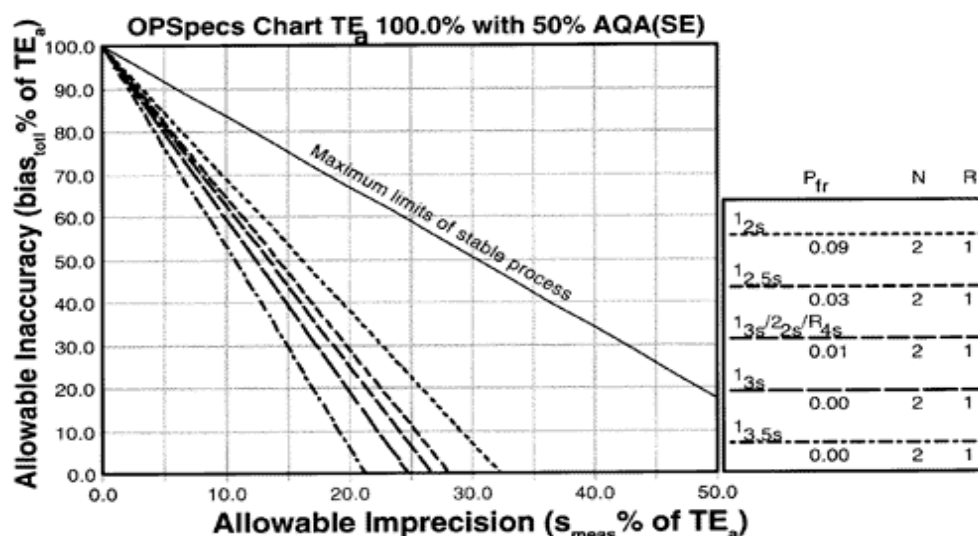


Figure 14 : graphe OPSECS normalisé 100%ETA avec 50% AQA (48).

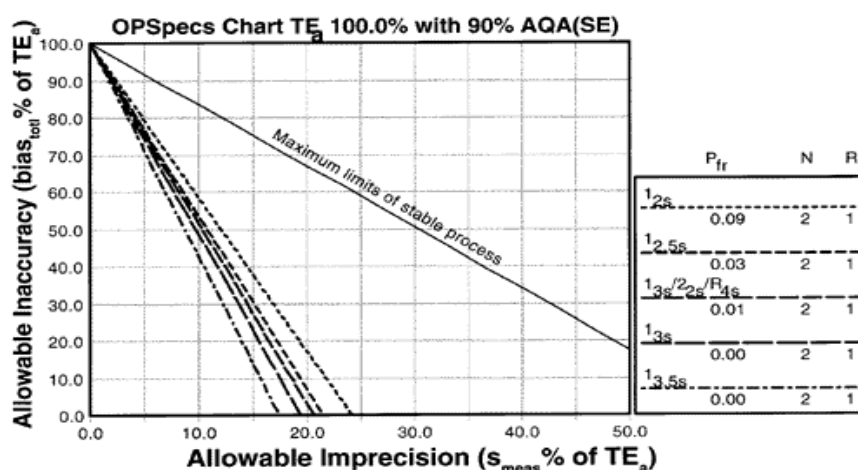


Figure 15 : graphe OPSECS normalisé 100%ETA avec 90% AQA (48).

3.4.2. Procédure de contrôle qualité externe

Dans le cadre d'un programme de comparaison inter laboratoires (CIL) des estimations de la fidélité et de la justesse par rapport à un groupe.

Les valeurs cibles peuvent correspondre soit à la moyenne des valeurs obtenues par l'ensemble des participants au programme, soit à la moyenne de ceux utilisant la même technique, soit la moyenne des valeurs obtenues par des laboratoires de référence ou la méthode de référence.

La justesse peut également être estimée en calculant un « z-score » qui exprime l'importance de l'écart qui sépare le résultat du laboratoire de celui de la valeur cible du groupe de comparaison par rapport à une limite de tolérance préétablie(47).

4. Contrôle qualité et mesure d'incertitude et d'erreur totale

4.1. Contrôle qualité et mesure d'incertitude

4.1.1. Incertitude de mesure

L'incertitude est un indicateur de la qualité d'un résultat et de la fiabilité qu'on peut lui accorder, elle est associée à tout résultat de mesure (36).

C'est un outil d'aide à la décision et à l'interprétation. Son évaluation va permettre de prendre en compte une information importante du processus d'analyse que le résultat seul n'intègre pas (36).

L'incertitude de mesure peut être calculée à partir des données de contrôle qualité selon la formule suivante (22) :

$$\text{Incertitude} = \sqrt{((\text{biais} / \sqrt{3})^2 + CV^2)}.$$

4.1.2. Types d'incertitude

- **Incertitude type** : Correspond à l'incertitude du résultat d'un mesurage exprimée sous la forme d'un écart-type.
- **Incertitude élargie** : Parfois appelée incertitude globale, c'est la 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 raisonnablement au mesurande. La fraction peut être considérée comme la probabilité ou le niveau de confiance de l'intervalle (généralement 95 %).
- **Incertitude-type composée** : C'est l'incertitude type du résultat d'un mesurage, lorsque ce résultat est obtenu à partir des valeurs d'autres grandeurs, égale à la racine carrée d'une somme de termes, ces termes étant les variances ou covariances de ces autres grandeurs, pondérées selon la variation du résultat de mesure en fonction de celle de ces grandeurs.

4.2. Erreur totale

Elle correspond à l'erreur totale analytique complétée par tous les éléments de l'analyse de risque portant sur l'ensemble du processus depuis la prescription jusqu'à l'utilisation du résultat. Tous ces éléments qui peuvent ne pas être quantifiables, s'ajoutent à l'erreur totale analytique (27).

***Chapitre II : Prérequis à l'instauration d'un
système de contrôle qualité.***

« Chapitre II : Prérequis à l'instauration d'un système de contrôle qualité »

Le respect des règles d'assurance qualité des laboratoires oblige à procéder à la validation des techniques en préalable à leur utilisation et à le justifier. Il s'agit d'un prérequis indispensable dans le cadre de l'accréditation des laboratoires.

1. Protocole de vérification et validation des performances des méthodes

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 (26).

En fonction du contexte six stratégies de vérification/validation méthodes pourront être suivies :

- **Cas de l'utilisation d'une méthode DMDIV marqué CE, qu'elle soit quantitative, semi-quantitative ou normalisée**

Stratégie 1 ou portée A : Vérification des performances annoncées par le fournisseur ou souhaitées par le laboratoire lors de la mise en application d'une nouvelle méthode d'analyse utilisant notamment des analyseurs automatiques et des trousse de réactifs prêts à l'emploi. L'objectif de cette démarche est d'apporter au biologiste une confirmation in situ et la preuve de la validité des résultats rendus par rapport aux besoins définis (26, 27).

Stratégie 2 : Vérification rétrospective des performances (Portée A) dans le cas d'une méthode déjà utilisée par le laboratoire (26, 27).

Stratégie 3 portée B : Validation partielle dans le cas des modifications effectuées: changement des conditions d'utilisation, pré-analytiques ou analytiques (par ex., changement de matrice biologique, d'anticoagulant, d'équipement, de volume d'échantillon pour une adaptation à la pédiatrie, etc.) (27).

- **Cas d'utilisation d'une méthode mise au point (développée) au laboratoire**

Stratégie 4 : vérification ou validation d'une méthode qualitative réalisée pour les méthodes développés au laboratoire (26).

Stratégie 5 : validation d'une méthode semi-quantitative pour les méthodes développées au laboratoire (portée B)(26).

« Chapitre II : Prérequis à l'instauration d'un système de contrôle qualité »

Stratégie 6 ou portée B : validation d'une méthode quantitative réalisée pour les méthodes développées au laboratoire (immunologique, séparative, spectrométriques etc.) (26).

Exemple des différents modules à évaluer lors d'une vérification/validation de méthodes quantitatives ou qualitative sont résumés dans le tableau ci dessous, trouvez le détail dans l'annexe II.

Tableau 01 : Critères à évaluer pour la portée A et la portée B (25).

Critère à évaluer	Vérification portée A		Vérification portée B	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai	Essai	Essai
Justesse/exactitude (approche)	Essai	Essai	Essai	Essai
Comparaison avec une méthode déjà Utilisée en laboratoire ou autre méthode Du laboratoire	Essai	Essai	Essai	Essai
Intervalles de mesures Limites de quantification et limite de linéarité	Bibliographie	-	Essai	-

2. Vérification/validation des performances

2.1. Critères de performances des méthodes d'analyse

2.1.1. Fidélité

Exprime l'étroitesse de l'accord entre les indications d'une valeur mesurée obtenues par des mesures répétées du même échantillon dans des conditions spécifiées (26, 27, 48).

La fidélité fournit une indication sur les erreurs dues au hasard. L'étude de la fidélité peut inclure celle de :

- La répétabilité ;
- La fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) ;
- Et la reproductibilité inter-laboratoire : non applicable dans le contrôle qualité interne.

La fidélité traduit uniquement la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée (26, 27).

- **Répétabilité**

La répétabilité correspond à l'étroitesse de l'accord, à un niveau donné, dans la zone quantifiable de la méthode, entre les résultats individuels obtenus sur un même objet ou des objets similaires soumis à l'analyse dans les conditions suivantes : même analyste, même système de mesure, même méthode, même lieu, courte période de temps. La répétabilité s'exprime habituellement sous forme de coefficient de variation (CV) et correspond, en biologie médicale, au CV intra-série (26-28).

Cette évaluation a pour objet de vérifier, dans les conditions réelles d'utilisation, le bon fonctionnement du système analytique. Les données acquises peuvent être ultérieurement utilisées pour mettre en évidence un dysfonctionnement au cours du temps (26).

- **Fidélité intermédiaire (Précision)**

La fidélité intermédiaire correspond à l'étroitesse de l'accord, à un niveau donné, dans la zone quantifiable de la méthode, entre les résultats individuels obtenus sur un même objet ou des objets similaires soumis à l'analyse dans les conditions suivantes : même méthode, même lieu, période de temps étendue. Par conséquent, les conditions relatives à l'analyste et au système de mesure varient. La fidélité intermédiaire s'exprime habituellement sous forme de coefficient de variation (CV) et correspond, en biologie médicale, au CV inter-série (26-28).

Cette évaluation permet de connaître la variabilité analytique d'une méthode. Ces données sont exploitées pour le calcul de l'incertitude de mesure utile à l'interprétation des résultats de patients.

2.1.2. 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. La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques (26, 27).

Une approche de la justesse peut être envisagée en comparant la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible, assimilée à la « valeur vraie ». L'écart observé correspond au biais. Le biais peut être évalué à partir des résultats obtenus avec des échantillons de contrôle titrés ou des valeurs observées dans des programmes de contrôle interne couplés à une comparaison inter-laboratoire (26).

2.1.3. Exactitude

Etroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'une mesurande (30) .

Comme la justesse, l'exactitude devrait être vérifiée à partir d'étalons primaires, de matériaux de référence certifiés (MRC) ou de méthodes de référence traçables au SI ou à des étalons internationaux (26, 27).

N'étant pas une grandeur, elle ne s'exprime pas numériquement. L'exactitude s'obtient par comparaison de la valeur mesurée avec la valeur de référence certifiée, la valeur du fabricant ou avec celle du groupe de pairs. L'écart observé correspond à l'inexactitude (erreur d'exactitude) (27,28).

La figure 16 montre les différents critères de performances des méthodes d'analyse.

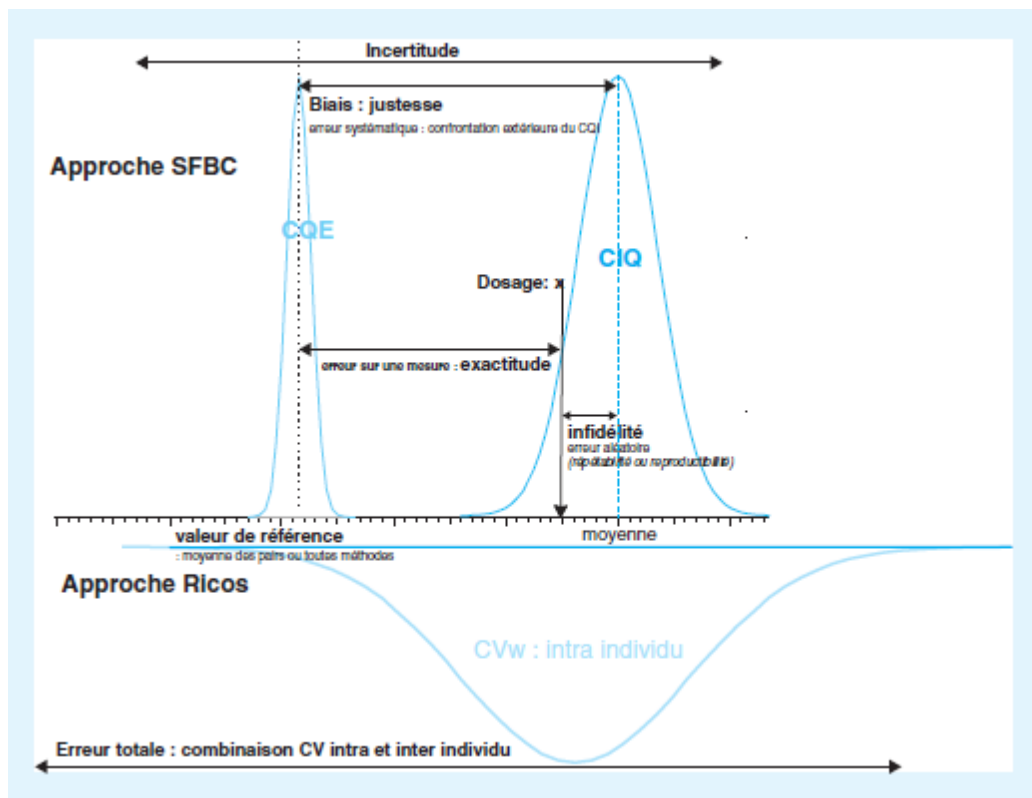


Figure 16 : Critères de performance des méthodes d'analyse (25).

2.1.4. Robustesse

La robustesse d'une procédure d'analyse est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles, mais délibérées, des paramètres de la méthode. La robustesse fournit une indication sur la fiabilité de la méthode dans les conditions normales d'utilisation. Ces variations, faibles, correspondent à l'écart d'un paramètre opératoire par rapport à sa valeur nominale définie dans la méthode (26-28).

2.1.5. Détermination des intervalles de mesure

- **Limite de linéarité**

L'évaluation des limites de linéarité permet de déterminer l'intervalle de concentrations à l'intérieur duquel les mesures peuvent être effectuées avec fidélité et justesse. Au-delà de la limite supérieure, une dilution de l'échantillon dans un solvant approprié doit être pratiquée. La limite de quantification est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fidélité et une justesse définies. Elle correspond généralement à la limite inférieure de linéarité de la méthode (26, 30).

- **Effet de dilution**

L'effet dilution résulte de la modification de la matrice par dilution du milieu biologique dans un diluant de composition différente du milieu biologique et peut être à l'origine de résultats erronés (26, 30).

2.1.6. Comparaison méthodes

Elle consiste à évaluer les résultats obtenus avec une méthode par rapport à ceux d'une autre méthode. Si cette dernière est une méthode de référence, des conclusions sur la justesse de la méthode testée peuvent être formulées. Sinon cette évaluation est destinée à mettre en évidence des différences qui peuvent nuire à l'interprétation des résultats (27).

Elle se fait par l'établissement du graphique de régression des moindres rectangles de Passing and Bablok et des différences (différences observées en fonction du niveau de concentration) grâce à la méthode de BLAND ALTMAN, les valeurs discordantes éventuelles devront être exploitées par le laboratoire afin de mener une analyse des causes et une analyse d'impact sur les divergences constatées entre les 2 méthodes testées (27).

3. Maîtrise des spécifications et normes d'acceptabilité des techniques d'analyse

« Chapitre II : Prérequis à l'instauration d'un système de contrôle qualité »

La biologie n'est pas une science exacte ; tout résultat étant le fruit d'une mesure expérimentale et entachée d'erreurs « variations » dont l'importance doit être évaluée en terme de danger pour la sécurité des patients.

Il y a une grande divergence dans la détermination des critères de qualification d'erreurs en erreur acceptable et des facteurs à prendre en compte dans cette estimation.

Il y a en effet un grand débat concernant les modalités de définition des limites acceptables, la conférence internationale de Stockholm de 1999 a établi une hiérarchie de modèles applicables. En descendant depuis le sommet de cette hiérarchie, les modèles proposés reposent sur :

- **Les exigences cliniques** : Des objectifs précis sont définis par des cliniciens sur certains analytes. Compte tenu de l'hétérogénéité des besoins cliniques, cette approche est limitée à de trop rares cas (49).

- **Les variations biologiques** : Est une approche qui part de l'observation physiologique et fixe des objectifs analytiques en fonction des variations observées chez un même individu et entre les individus. Elle est préconisée par Ricos qui part du principe que l'imprécision liée à la méthode d'analyse doit être inférieure à la variation observée chez un même individu. Elle a le mérite de confronter nos performances analytiques à la réalité clinique (50). Ricos propose une base de données qui spécifie des objectifs analytiques de fidélité I, d'erreur de justesse B et d'erreur totale ETA. Ces données sont calculées à partir des variations intra-individuelles et inter-individuelles de l'analyte considéré selon un modèle établi par Fraser (49).

I= fidélité : $CV_b \text{ Reproductibilité} = 0.5 CV_w$.

B (%) = biais justesse = $1.96 (CV_w^2 + CV_b^2)^{0.5}$.

ETA= Erreur totale = $1.65 (CV)$.

CV_b ; between subject biological variation variation biologique inter individuelles

CV_w ; within subject biological variation variation biologique intra individuelles

- **L'état de l'art** : Est une approche purement analytique basée sur l'état de l'art, c'est-à-dire sur ce qu'il est « possible d'atteindre comme performance analytique en fonction des technologies actuelles » ; C'est celle de la SFBC qui fournit les limites acceptables pour la majorité des principaux examens.

L'avantage de considérer les performances analytiques d'un dosage par rapport à la variation biologique de l'analyte est de mieux apprécier la valeur du résultat obtenu notamment pour déterminer si une variation de concentration est significative lors du suivi d'un patient.

« Chapitre II : Prérequis à l'instauration d'un système de contrôle qualité »

Les normes d'acceptabilité SFBC sont mesurées pour plusieurs niveaux de concentration pertinents ; il s'agit des limites de décision clinique (50, 51).

Il nous semble que les approches sont complémentaires. Toutefois l'approche Valtec se veut pragmatique puisqu'elle propose des objectifs réalisables et atteignables, alors que les objectifs RICOS peuvent paraître assez inaccessibles et décourageants dans certains cas mais aussi de ne pas tenir compte des performances atteignables par les technologies actuelles pour certaines analyses (sodium, magnésium...) (50).

***Chapitre III : Contrôle qualité et accréditation
des laboratoires de biologie médicale***

« Chapitre III : Accréditation des laboratoires de biologie médicale »

La conformité aux normes peut être une exigence légale ou être simplement volontaire. Deux processus peuvent être utilisés pour indiquer que le laboratoire est en conformité avec les normes définies : l'accréditation et la certification.

1. Certification

Procédure par laquelle un organisme indépendant donne une assurance écrite que le produit, le processus ou le service est conforme à des exigences spécifiées.

Dans le processus de certification, le laboratoire est visité par des représentants d'une agence de certification. Ces représentants recherchent la preuve de conformité aux normes, lignes de conduite, procédures, exigences et règlements. L'équipe d'évaluation vérifie en tout premier lieu la présence de textes, procédures et de documents (3, 40, 52).

2. Accréditation

L'accréditation s'appuie sur des normes internationales (ISO/CEI). Elle est indépendante, impartiale, transparente et non discriminatoire.

Par définition ; il s'agit d'une procédure d'évaluation externe par laquelle une autorité donne la reconnaissance formelle qu'un organisme est compétent pour réaliser des tâches spécifiques (13, 20).

L'accréditation présente des similitudes ainsi que des différences avec la certification (voir annexe XII)

3. L'accréditation en biologie médicale

La norme ISO 15189, est une norme qui spécifie les exigences de qualité et de compétence propres aux LBM.

L'accréditation concerne tous les établissements de santé publics et privés. Elle porte sur les phases analytique, pré-analytique et post-analytique.

Les laboratoires accrédités sont soumis à des évaluations régulières de leur compétence technique pour effectuer les analyses qui figurent dans leur portée d'accréditation (21).

La satisfaction des exigences normatives et des dispositions réglementaires citées dans les référentiels est la condition de l'accréditation. Conformément aux règles internationales, cette

« Chapitre III : Accréditation des laboratoires de biologie médicale »

accréditation permet une reconnaissance internationale de la compétence du LBM et fournit aussi un niveau d'assurance plus élevé à ceux qui utilisent les services du laboratoire (3,39).

Elle a pour objectif de s'assurer que les établissements de santé développent une démarche d'amélioration continue de la qualité et de la sécurité des soins délivrés aux patients.

3. Place du contrôle qualité dans l'accréditation

Une démarche qualité est le processus mis en œuvre pour implanter un système qualité et engager le LBM dans une dynamique d'amélioration continue.

Le contrôle de la qualité est une composante essentielle de l'assurance qualité sa maîtrise par le biologiste demeure importante pour la garantie de la fiabilité des résultats tant bien pour gagner la confiance des patients mais aussi viser à avoir la reconnaissance de l'incontournable fiabilité des analyses sur le plan international. Cette reconnaissance est basée sur la mise en place d'un système de management de la qualité : c'est l'accréditation des laboratoires d'analyses médicales (4).

4. Organismes accréditeurs

L'accréditation peut être effectuée par des organismes publics reconnus, qui sont issus des autorités de chaque pays, l'ensemble de ces organismes s'unis pour former des organisations régionales et internationales tel que « ARAC, AFRAC, ILAC » Le rôle principal de ces organismes est d'harmoniser les pratiques d'accréditation mises en œuvre par les organismes nationaux d'accréditation (voir annexe XII).

En Algérie ; il existe un seul organisme d'accréditation dénommé : l'ALGERAC.

❖ ALGERAC

L'organisme Algérien d'Accréditation est un établissement public à caractère industriel et commercial, doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière, complète le système national de la qualité. Sa création par le Décret exécutif n° 05-466 du 6 décembre 2005 s'inscrit ainsi dans le cadre du renforcement de la démarche qualité initiée par les pouvoirs publics visant à l'amélioration de la compétitivité des entreprises algériennes et à faciliter leur insertion dans l'économie mondiale. Il est placé sous la tutelle du Ministère de l'Industrie et des Mines (54).

L'ALGERAC est adhérent à plusieurs organismes accréditeurs régionaux (ARAC et AFRAC) et internationaux (IAF et ILAC) (54).

« Chapitre III : Accréditation des laboratoires de biologie médicale »

• Missions et objectifs

L'ALGERAC est chargé de :

- Mise en place d'un dispositif national d'accréditation répondant aux normes nationales et internationales pertinentes ;
- Parachever l'infrastructure nationale de la qualité ;
- Evaluer les qualifications et compétences des organismes d'évaluation de la conformité ;
- Délivrer les décisions d'accréditation ;
- Procéder au renouvellement, suspension et retrait des décisions d'accréditation des organismes d'évaluation de la conformité ;
- Représenter l'Algérie auprès des organismes internationaux et régionaux similaires ;
- Editer et diffuser des revues, brochures ou bulletins spécialisés relatifs à son objet (54).

5. Les laboratoires accrédités en Algérie

En Algérie, quatre laboratoires sont accrédités par ALGERAC, dont un seul LBM « laboratoire FECHKEUR » accrédité selon la norme ISO 15189 pour le dosage de quelques paramètres biochimique (voir annexe XII).

6. Démarche d'accréditation et exigences

La recherche de l'accréditation requiert un engagement, une planification, des connaissances et des ressources (3, 53).

L'accréditation implique l'existence d'un référentiel de conditions à remplir et d'une instance qui procède à l'audit pour vérifier que les procédures sont respectées et qu'elles débouchent sur un produit final de qualité.

Pour être candidat à l'accréditation, le laboratoire doit :

- s'inscrire à un organisme juridiquement identifiable : ALGERAC, COFRAC...etc ;
- Disposer d'une assurance en responsabilité civile professionnelle ;
- Disposer d'un système de management qualité (SMQ) commun pour tous ses sites reposant sur un référentiel d'accréditation (13, 21, 55).

Les principales étapes du processus d'accréditation sont :

- Dépôt du dossier de demande d'accréditation ;
- Examen de recevabilité administrative ; son objectif est de s'assurer de la présence des éléments nécessaires à l'instruction de la demande ;
- Examen de recevabilité opérationnelle ; son objectif est de déterminer si les exigences du référentiel d'accréditation ont été prises en compte dans le système de management de l'organisme candidat à l'accréditation ;
- Programmation et réalisation de l'évaluation sur site sous forme d'audits ; pour vérifier si l'organisme dispose des compétences nécessaires et que les exigences du référentiel sont satisfaites ;
- Présentation du rapport d'évaluation en instance décisionnelle ;

« Chapitre III : Accréditation des laboratoires de biologie médicale »

- Décision ; conformément au règlement de l'accréditation la décision peut être : favorable, défavorable conditionnelle ou défavorable (3, 16, 53, 56).

7. Avantages de l'accréditation

L'accréditation constitue un excellent moyen d'instaurer la confiance, permettant aux autorités, à l'économie d'un pays et à la société en général de s'appuyer sur les compétences des LBM (4).

Parmi les avantages de l'accréditation, on peut notamment citer :

- Pouvoir répondre aux exigences du public en matière de santé et de sécurité en améliorant la qualité des services en assurant un contrôle continu de ce dernier ;
- Elle permet aux pays en développement de participer à des accords multilatéraux et à des projets internationaux d'innovation ou de recherche ;
- Le maintien des compétences techniques de l'organisation ;
- Renforce la confiance des malades, des consommateurs, des importateurs et des exportateurs en améliorant la qualité des produits et services ;
- L'accréditation constitue une immunisation en termes de sécurité pour le LBM ;
- C'est une condition nécessaire pour accéder au commerce international (3, 53, 55).

Partie Pratique

Tout LBM doit disposer d'un système de gestion de la qualité, le CLSI a mis en place un système de gestion de la qualité totalement compatible avec la norme ISO 15189 qui organise les activités du laboratoire au tour de douze points essentiels (voir figure 02 dans la partie théorique page 10).

Dans le cadre de la gestion et de l'évaluation de la qualité des LBM on a réalisé un travail au niveau du laboratoire central du CHU TIZI OUZOU durant le mois de Janvier où on a effectué :

- Une vérification /validation des méthodes, qui est un prérequis au lancement du contrôle qualité.
- Un audit interne du contrôle qualité dans le laboratoire, qui représente une composante du contrôle des processus, s'intéressant au contrôle des étapes analytiques.
- Un essai de planification du système de gestion de la qualité selon l'approche sigma métrique.

1. Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude analytique étalée sur 20 jours, 20 séries de dosages de 07 paramètres (Glucose, Urée, Créatinine, ASAT, ALAT, GGT et Bilirubine totale) avec 6 répétitions de chaque série par jour en utilisant deux niveaux de contrôle et ceci sur trois automates différents.

02 répétitions ont été utilisées pour l'application du protocole de CQI (vérification / validation des méthodes) selon la norme ISO 15189 et 04 autres répétitions utilisées pour l'application et la planification des cartes de contrôle.

Remarque : le choix des paramètres a été effectué par rapport à la possibilité de répondre aux exigences recommandées dans les protocoles opératoires : assurer durant la période de lancement du CQI les mêmes conditions analytiques « méthodes de dosage, n° de lot des réactifs » mais aussi de la variabilité des résultats entre les automates pour certains paramètres.

1.1. Matériels

1.1.1. Sérums de contrôle

Ce sont des sérums de contrôle qualité commercialisés sous forme de lyophilisat à reconstituer avec 5ml d'eau distillée.

Les sérums de contrôle utilisés :

- Lyphocheck : contrôle adapté pour une large gamme d'automates, deux niveaux sont utilisés :

- Niveau 1 (N1) : contrôle normal ; lot n°26411, date de péremption Janvier 2019.
- Niveau 2 (N2) : contrôle pathologique ; lot n° 26412, date de péremption Janvier 2019.
- Precinorm U(PNU) et Precipath (PPU) : contrôles adaptés pour l'automate COBAS Integra 400, utilisés uniquement pour comparer les résultats obtenus par le Lyphochek sur cet automate. Deux niveaux sont utilisés :
 - PNU : contrôle normal ; lot n°168004, date de péremption Décembre 2017.
 - PPU : contrôle pathologie ; lot n°168319, date de péremption Décembre 2017.

1.1.2. Automates

Notre travail a été réalisé sur trois automates :

1.1.2.1.Architect ci 4100

L'Architect ci4100 comporte deux modules :

- Analyseur c : module d'analyse qui met en œuvre des méthodes potentiométriques et photométriques pour l'analyse des échantillons. C'est un analyseur de chimie clinique capable d'effectuer jusqu'à 400 analyses photométriques et 600 analyses potentiométriques par heure.
- Analyseur i : module d'analyse, qui utilise la technologie CMIA (dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence) pour l'analyse des échantillons.

1.1.2.2.COBAS Integra 400

Un produit de ROCHE, le COBAS Integra est un Analyseur sélectif patient par patient, à accès aléatoire et en continu avec une capacité de 400 analyses par heure avec intégration de 04 principes de mesures :

- Absorbance : substrats et enzymes ;
- Turbidimétrie : protéines spécifiques ;
- Polarisation de fluorescence : dosage de médicaments et toxiques sériques ;
- Electrodes sélectives : Na^+ K^+ Cl^- Li^+ .

1.1.2.3. Dimension Xpand

Un produit de Siemens, le système de chimie intégrée Dimension Xpand combine la chimie et les tests spécialisés sur un système unique, compact et facile à utiliser. Il assure :

- Une intégration de la chimie et du dosage immunologique ;
- Un rendement de 437 essais par heure et une consommation de 2 L d'eau par heure.

1.1.3. Réactifs et calibrants

Les différents réactifs et calibrant sont représentés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Réactifs et calibrants de chaque automate

Paramètre	Automate	Réactif		Calibrants	
		Identification	N°LOT	Identification	N° LOT
Glucose	Architect CI4100	Chromatest	15233	Biolabo multical	121613A
	Cobas integra	GLU Cobas	17931601	CFAS	183987-01
Bilirubine totale	XPAND	BT XPAND	GA7271	CALIBRAT BILI	6HD067
	Cobas integra	BILT3	60678901	CFAS	183987-01
	Architect ci4100	BILT	50339uq11	BILI CAL	46585M500
Urée	Architect ci4100	Biolabo	021715D	Biolabo multical	121613A
	Cobas integra	UREA	21006501	CFAS	183987-01
Créatinine	Architect ci4100	CREA	362584N17	Biolabo multical	121613A
	Cobas integra	CREJ2	621347	CFAS	183987-01
ASAT	Architect ci4100	BIOLAB	091614A	Biolabo multical	121613A
	Cobas integra	ASTL	18662701	CFAS	183987-01
ALAT	Architect ci4100	BIOLABO	081406B	Biolabo multical	121613A
	Cobas integra	ALTL	18663101	CFAS	183987-01
GGT	Architect ci4100	BIOLABO	101612A	Biolabo multical	121613A
	Cobas integra	GGT	18342101	CFAS	183987-01

1.1.4. Autres matériels et accessoires

- Pipette de 5 ml
- Tubes coniques
- Pipette réglable
- Embouts jaunes
- Eau distillée
- Cupules
- Un registre pour la traçabilité

1.2. Méthodes

1.2.1. Méthodes de dosage

1.2.1.1. Méthodes d'analyse

Le tableau 03 représente les différentes méthodes d'analyse utilisés.

Tableau 03 : Méthodes d'analyse de chaque automate

Paramètre	Automate	Méthode	Les différentes spécifications à documenter pour la portée A sont représentées dans le tableau 04	Spécifications techniques
Glucose	Architect ci4100	GOD/POD		Voir annexe XI
	Cobas integra	Hexokinase		Voir annexe XI
Bilirubine totale	XPAND	AZOBILI		Voir annexe XI
	Cobas integra	AZOBILI		Voir annexe XI
	Architect ci4100	AZOBILI		Voir annexe XI
Urée	Architect ci4100	UV/Cinét		Voir annexe XI
	Cobas integra	UV/Cinét		Voir annexe XI
Créatinine	Architect ci4100	JAFFE CIN		Voir annexe XI
	Cobas integra	JAFFE CIN		Voir annexe XI
ASAT	Architect ci4100	IFCC		Voir annexe XI
	Cobas integra	IFCC		Voir annexe XI
ALAT	Architect ci4100	IFCC		Voir annexe XI
	Cobas integra	IFCC		Voir annexe XI
GGT	Architect ci4100	IFCC		Voir annexe XI
	Cobas integra	IFCC		Voir annexe XI

1.2.1.2. Spécifications à documenter pour la portée A

Les différentes spécifications sont représentées dans le tableau 04.

Tableau 04 : Les différentes spécifications des méthodes vérifiées selon la portée A

Paramètre	Automate	valeurs de références	Intervalles de mesures	Limite de quantification	Comparaison méthodes
Glucose	Architect ci4100	[70 ; 105]II mg/dl	[5-800] mg/dl	5 mg/dl	Essai
	Cobas integra	[74;106] mg/dl	[2,16-720] mg/dl	/	Documentée voir annexe XI
Bilirubine totale	Xpand	[0,2-1] mg/dl	[0,1-25] mg/dl	/	Documentée voir annexe XI
	Cobas integra	Jusqu'à 1 mg/dl	[0 ; 25] mg/dl	/	Documentée voir annexe XI
	Architect ci4100	[0,2 ; 1,2] mg/dl	[0,09-35,7] mg/dl	0,09 mg/dl	Documentée voir annexe XI
Urée	Architect ci4100	-male : >50 ans [3 ; 9,2] mmol/l <50 ans [3,2 ; 7,4] mmol/l -femelle : >50 ans [3,5 ; 7,2] mmol/l <50 ans [2,5 ; 6,7]	[0,5-44,6] mg/d	0,5 mmol/l	/
	Cobas integra	<65 ans : <50 mg/dl >65 ans : <71 mg/dl	[3, 240]) mg/dl	/	Documentée voir annexe XI
Créatinine	Architect ci4100	-male: [0,72; 1,25] mg/dl -femelle : [0,57;1,11]mg/dl	[0,1-37] mg/dl	0,1 mg/dl	Documentée voir annexe XI
	Cobas integra	-male: [0,67; 1,17] mg/dl -femelle : [0,51;0,95]mg/dl	[0,4 ; 15] mg/dl	/	Documentée voir annexe XI
ASAT	Architect ci4100	[5 ; 34] U/L	[2,2-913] U/L	2,2 U/L	/
	Cobas integra	-male : 38 U/L -Femelle :32 U/L	[0 ; 700] U/L	/	Documentée voir annexe XI
ALAT	Architect ci4100	[0;55] U/L	[5,1-942] U/L	5,1 U/L	/
	Cobas integra	-male : 41 U/L -Femelle :31 U/L	[0 ; 700] U/L	/	Documentée voir annexe XI
GGT	Architect ci4100	-male: [12;64] U/L -femelle: [9; 36]U/L	[3,3 ; 1,543] U/L	3,3 U/L	/
	Cobas integra	-male : [8 ;61] U/L -Femelle :[5;36] U/L	[0 ; 1200] U/L		Documentée voir annexe XI

1.2.2. Intervalles d'acceptabilité des sérums de contrôle

Nous avons relevé sur les fiches techniques des différents sérums de contrôle les valeurs cibles, les écarts types (3s) et les intervalles d'acceptabilité pour chaque paramètre dosé selon la méthode d'analyse utilisée.

L'ensemble de ces informations sont résumées dans le tableau 05 et tableau 06 :

Tableau 05 : Valeurs cibles et intervalles d'acceptabilité des contrôles Lyphochek niveau 1 et 2 pour les trois automates.

Lyphochek						
Paramètre	Automate	unités	Niveau 1		Niveau 2	
			valeur cible	intervalle	valeur cible	Intervalle
Glucose	Architect ci4100	g/l	0.78	0.72-0.86	2.69	2.54-2.84
	Cobas integra		0.826	0.74-0.91	2.79	2.54-3.04
Urée	Architect ci4100	g/l	0.34	0.30-0.34	1.10	0.78-1.43
	Cobas integra		0.314	0.27-0.35	0.956	0.85-1.06
Créatinine	Architect ci4100	mg/l	27	21-33	61	54-68
	Cobas integra		19.8	16.6-23.0	48.0	41.9-54.1
ASAT	Architect ci4100	UI/L	40	34-46	189	165-213
	Cobas integra		36.8	29.4 -44.2	180	151-210
ALAT	Architect ci4100	UI/L	31	25-36	98	84-112
	Cobas integra		28.7	23.2-34.1	91.3	79.4-103
GGT	Architect ci4100	UI/L	59	49-70	150	126-174
	Cobas integra		58.6	45.6-71.6	150	116-183
BILI T	Architect ci4100	mg/l	11	août-14	40	33-48
	Cobas integra		9.38	7.4-11.4	37.7	32.1-43.2
	Xpand		10.1	8.15-12.1	40.2	36.1-44.4

Tableau 06 : Valeurs cibles et intervalles d'acceptabilité des contrôles PNU et PPU pour le Cobas Integra.

PNU/PPU					
Paramètre	Unité	PNU		PPU	
		valeur cible	intervalle	valeur cible	intervalle
Glucose	g/l	0.93	0.79-1.07	2.52	2.13-2.91
Urée	g/l	0.4	0.34-0.47	1.25	1.07-1.43
Creatinine	mg/l	11	août-13	39	32-45
ASAT	UI/l	51	42-60	150	123-177
ALAT	UI/l	48	39-56	134	110-158
GGT	UI/l	52	42-61	253	208-298
BILI T	mg/l	10	08-déc	39	31-46

1.2.3. Protocole de contrôle interne de qualité au laboratoire et vérification/validation des performances de méthodes

1.2.3.1. Protocole de vérification/validation des performances des méthodes selon les normes ISO15189

Les différents critères à évaluer pour la portée A et la portée B sont représentés dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Critères à évaluer pour la vérification de la portée A et la portée B

Critères à évaluer	Vérification portée A : Méthode quantitative	Validation portée B : Méthode quantitative
	Architect ci4100 : Bilirubine totale, créatinine Cobas Integra : Glucose, Urée, ASAT, ALAT, GGT, Bilirubine totale, créatinine Xpand : Bilirubine totale	Architect ci4100 : Glucose, urée, ASAT, ALAT, GGT
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai
Justesse/exactitude (approche)	Essai	Essai
Comparaison avec une méthode déjà utilisée en laboratoire ou autre méthode du laboratoire	Bibliographie	Essai
Intervalles de mesures Limites de quantification et limite de linéarité	Bibliographie	Essai

1.2.3.2. Protocole de réalisation du contrôle qualité

Notre travail s'est agencé comme suit :

1. Reconstitution des deux niveaux des sérums de contrôle : N1 et N 2 ;
2. Etiquetage et aliquotage des sérums de contrôle ;
 - Etiqueter les tubes coniques 5 fois pour chaque identification correspondant à 5 jours :(ex : étiqueter 05 cupules L1.1) ;
 - L1.1, L1.2, L1.3, L1.4, L1.5, L1.6
 - L2.1, L2.2, L2.3, L2.4, L2.5, L2.6
 - Verser 200 µl de sérum de contrôle dans chaque cupule ;
 - Les ranger dans des boîtes étiquetées.
3. Conservation par congélation des sérums de contrôle aliquotés à 0°C ;

4. Décongélation des sérums de contrôle à une température ambiante ; noter le temps nécessaire à la décongélation ;
5. Programmation des paramètres à analyser sur le logiciel IKOLAB ;
6. Vérification des données du tableau 02 avant le lancement. S'il y a changement le porter sur l'annexe VI ;
7. Lancement chaque matin à la même heure ;
8. Remplissage des fiches de relevé d'erreurs : voir l'annexe V ;
9. Impression et archivage des résultats.

1.2.3.3. Méthodes d'exploration

Le traitement des données a été effectué par différents logiciels : Excel, XLSTAT et Statistica, selon la démarche suivante :

- Etudes de la normalité des données ;
- Elimination des valeurs aberrantes : application du test de Dixon ;
- Vérification/validation des performances de méthodes :
 - Fidélité et justesse (paramètres de la portée A et de la portée B) ;
 - Comparaison méthodes (paramètres de la portée B) ;
 - Linéarité (paramètres de la portée B) ;
 - Effet de dilution (paramètres de la portée B) ;
- Cartes de contrôle : établissement et application à l'audit interne du contrôle qualité :
 - Levey jennig ;
 - Z Score ;
- Approche sigma métrique et planification du système de gestion de la qualité ;
- Interprétation des cartes de contrôle selon différentes approches par calcul des pourcentages (%) de respect ou de rejet des règles :
 - Interprétation utilisant l'intervalle du fournisseur « 3s » et les règles SFBC à « 2s » ;
 - Règles de westgard ;
 - Stratégie six sigma par application des graphes OPsecs normalisés ;
- Gestion de la non-conformité ;
- Calcul de l'erreur totale et de l'incertitude de mesure.

1.2.4. Critères de jugement

- P-value : dans l'ensemble des tests appliqués le risque alpha « α », qui correspond à la probabilité de rejeter l'hypothèse alors qu'elle est vraie, est choisi à 5% ;
- CV fournisseur : CV relevé dans les fiches techniques des sérums de contrôle par déduction à partir des intervalles d'acceptabilité selon la formule suivante :
$$CV = (\text{limite supérieure de l'intervalle} - \text{valeur cible}) / 3$$

Le chiffre 3 représente 3 écarts types (ET).
- CV optimal : CV relevés dans les protocoles de contrôle qualité fourni par la société française de biologie clinique(SFBC) ;
- CV désirable : représente deux fois le CV optimal ;
- Limites de l'exactitude : relevés dans les protocoles de contrôle qualité fourni par la SFBC ;

- Limites de comparaison méthodes : relevés dans les protocoles de contrôle qualité fourni par la SFBC ;
- Erreur totale admissible (ETA) : relevé dans les tables des référentiels CLIA ;
- Les nouvelles règles de westgard.

2. Résultats

2.1.Vérification de la loi normale

La vérification de la distribution des valeurs obéissant à une loi normale justifie l'utilisation des tests paramétriques, dans le cas contraire on prend en considération uniquement les valeurs qui ont une allure de distribution normale dans l'histogramme de distribution.

Les différents paramètres sont représentés dans le tableau 08.

Tableau 08 : Tableau récapitulatif du respect de la loi normale des différents paramètres de chaque automate.

Paramètre	Automate	Niveau	Respect de la loi normale
GLUCOSE	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	OUI
		2	OUI
UREE	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	OUI
		2	OUI
CREATININE	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	NON
		2	NON
ASAT	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	OUI
		2	OUI
ALAT	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	OUI
		2	NON
GGT	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	OUI
		2	OUI
BILI T	ARCHITECT	1	OUI
		2	OUI
	COBAS	1	OUI
		2	OUI
	XPAND	1	OUI
		2	OUI

La normalité a été vérifié par des :

- Tests graphiques : Q-Q plot, normality plot et histogramme de la distribution.
- Tests statistiques : Shapiro wilk et Jarque bera.

Les différents tests de normalité effectués sont mis en annexes (annexe IV). Nous prenons comme exemple le paramètre GLUCOSE ARCHITECT ci4100.

2.1.1. Tests graphiques

Ces deux tests de normalité ont été fait pour chaque niveau de chaque paramètre choisi.

2.1.1.1. Test de normalité Q-Q Plot

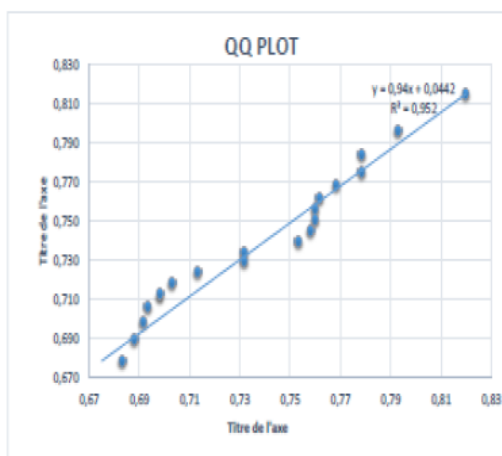
Intérêt : Le quantile-quantile plot est une technique graphique qui permet de comparer les distributions de deux ensemble de données, dont un des ensembles soit généré à partir d'une loi de probabilité qui sert de référentiel.

GLUCOSE ARCHITECT NIVEAU 1

Tableau 09 : Tableur du test QQ plot du glucose ARCHITECT niveau 1

Test de Normalité				
Q-Q Plot				
N°	vi	F	zi	Vi
1	0,68	0,031	-1,868	0,659
2	0,68	0,080	-1,403	0,678
3	0,69	0,130	-1,128	0,690
4	0,69	0,179	-0,919	0,699
5	0,69	0,228	-0,744	0,706
6	0,70	0,278	-0,589	0,712
7	0,70	0,327	-0,448	0,718
8	0,71	0,377	-0,315	0,724
9	0,73	0,426	-0,187	0,729
10	0,73	0,475	-0,062	0,734
11	0,75	0,525	0,062	0,740
12	0,76	0,574	0,187	0,745
13	0,76	0,623	0,315	0,750
14	0,76	0,673	0,448	0,756
15	0,76	0,722	0,589	0,762
16	0,77	0,772	0,744	0,768
17	0,78	0,821	0,919	0,775
18	0,78	0,870	1,128	0,784
19	0,79	0,920	1,403	0,796
20	0,82	0,969	1,868	0,815
moyenne		0,737		
ecart-type		0,042		
NB		20		

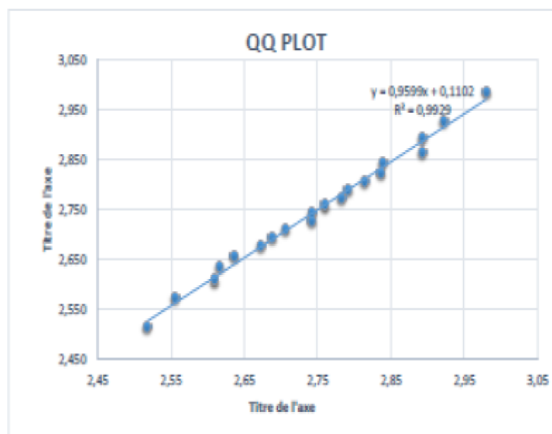
Figure 17 : graphe du test QQ plot du glucose ARCHITECT NIVEAU 1



GLUCOSE ARCHITECT NIVEAU 2

Tableau 10 : Tableau du test QQ plot du Glucose ARCHITECT ci 4100 niveau 2.

N°	Test de Normalité			
	Q-Q Plot			
	vi	F	zi	Vi
1	2,52	0,031	-1,868	2,516
2	2,56	0,080	-1,403	2,574
3	2,61	0,130	-1,128	2,609
4	2,62	0,179	-0,919	2,635
5	2,64	0,228	-0,744	2,657
6	2,67	0,278	-0,589	2,676
7	2,69	0,327	-0,448	2,694
8	2,71	0,377	-0,315	2,711
9	2,74	0,426	-0,187	2,727
10	2,74	0,475	-0,062	2,743
11	2,76	0,525	0,062	2,758
12	2,78	0,574	0,187	2,774
13	2,79	0,623	0,315	2,790
14	2,82	0,673	0,448	2,807
15	2,84	0,722	0,589	2,824
16	2,84	0,772	0,744	2,844
17	2,89	0,821	0,919	2,866
18	2,89	0,870	1,128	2,892
19	2,92	0,920	1,403	2,927
20	2,98	0,969	1,868	2,985
moyenne		2,750		
ecart-type		0,126		
NB		20		

Figure 18 : graphe du test QQ plot glucose ARCHITECT NIVEAU 2

Interprétation : La droite de référence est matérialisée par la diagonale principale dans les graphes. Pour cet exemple, glucose Architect ci4100 niveau 1 et 2, nous constatons que les points sont relativement alignés sur la droite de référence ce qui montre une distribution normale.

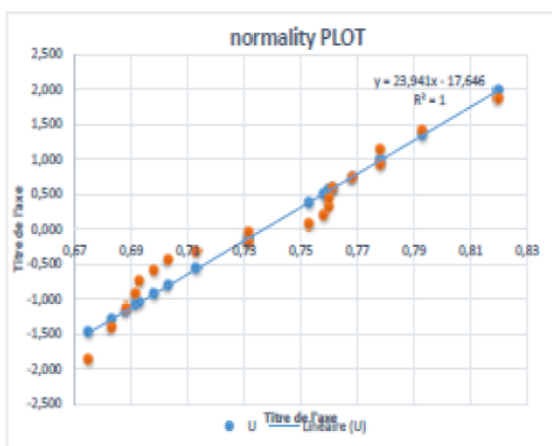
2.1.1.2. Test normality Plot: normal Q-Q plot

Intérêt : Variante du Q-Q plot, avec représentation en ordonnées du graphe les points Zi (quantiles). Il permet de déterminer graphiquement les paramètres de localisation « par exemple : la droite coupe l'axe des abscisses a une coordonnée qui permet d'estimer la moyenne ».

GLUCOSE ARCHITECT NIVEAU 1

Tableau 11 : Tableau du test normality plot du glucose ARCHITECT ci 4100 niveau 1.

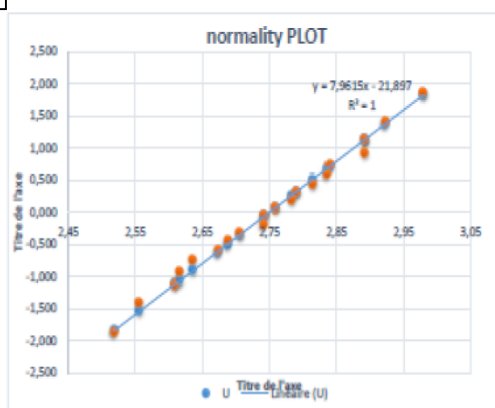
Test de Dépendance			
Normality plot			
Vi	U	Pobs	Uobs
0,68	-1,486	0,031	-1,868
0,68	-1,287	0,080	-1,403
0,69	-1,167	0,130	-1,128
0,69	-1,087	0,179	-0,919
0,69	-1,047	0,228	-0,744
0,70	-0,928	0,278	-0,589
0,70	-0,808	0,327	-0,448
0,71	-0,569	0,377	-0,315
0,73	-0,130	0,426	-0,187
0,73	-0,130	0,475	-0,062
0,75	0,389	0,525	0,062
0,76	0,509	0,574	0,187
0,76	0,549	0,623	0,315
0,76	0,549	0,673	0,448
0,76	0,589	0,722	0,589
0,77	0,748	0,772	0,744
0,78	0,988	0,821	0,919
0,78	0,988	0,870	1,128
0,79	1,347	0,920	1,403
0,82	1,985	0,969	1,868
moyenne		0,737	
ecart-type		0,042	
NB		20	

Figure 19 : graphe du test normality plot du glucose ARCHITECT NIVEAU 1

GLUCOSE ARCHITECT NIVEAU 2

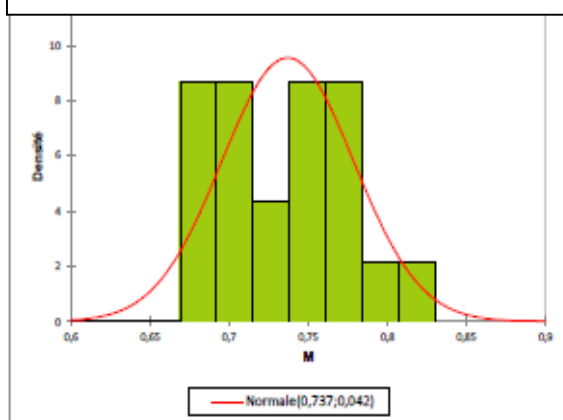
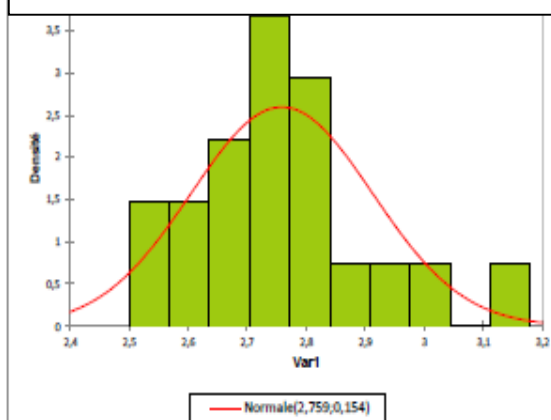
Tableau 12 : Tableur du test normality plot du glucose ARCHITECT niveau 2.

Test de Dépendance			
Normality plot			
Vi	U	Pobs	Uobs
2,52	-1,848	0,031	-1,868
2,56	-1,543	0,080	-1,403
2,61	-1,118	0,130	-1,128
2,62	-1,065	0,179	-0,919
2,64	-0,906	0,228	-0,744
2,67	-0,614	0,278	-0,589
2,69	-0,494	0,327	-0,448
2,71	-0,348	0,377	-0,315
2,74	-0,070	0,426	-0,187
2,74	-0,056	0,475	-0,062
2,76	0,076	0,525	0,062
2,78	0,262	0,574	0,187
2,79	0,328	0,623	0,315
2,82	0,514	0,673	0,448
2,84	0,687	0,722	0,589
2,84	0,713	0,772	0,744
2,89	1,138	0,821	0,919
2,89	1,138	0,870	1,128
2,92	1,377	0,920	1,403
2,98	1,828	0,969	1,868
moyenne	2,750		
ecart-type	0,126		
NB	20		

Figure 20 : graphe du test normality plot glucose ARCHITECT NIVEAU 2

Interprétation : Le test normality plot confirme la distribution normale du paramètre glucose Architect ci4100.

2.1.1.3. Représentation graphique de la distribution : Histogramme

Figure 21 : Histogramme de distribution glucose Architect niveau 1**Figure 22 :** Histogramme de distribution glucose Architect niveau 2

Interprétation : l'histogramme montre une distribution normale des valeurs et une symétrie de répartition pour l'exemple du paramètre glucose Architect ci4100 niveau 1 et 2.

2.1.2. Tests statistiques : Test de Shapiro-Wilk et test de Jarque Bera

Nous avons utilisé deux tests statistiques pour la vérification de la distribution normale ; pour certains paramètres on a appliqué le test de Shapiro Wilk et pour ceux qui ceux incorrect selon ce test ; on a appliqué le test de Jarque Bera.

Nous avons donné un exemple pour chaque test dans les tableaux 13 et 14 les autres paramètres sont mis en annexe.

Tableau 13 : Test de Shapiro Wilk du glucose

Paramètre	Niveau	p-value	alpha "α"	conclusion
GLUCOSE	1	0,261	0,05	Valide
ARCHITECT	2	0,986	0,05	Valide

Valide : p-value > α : Le résultat suit la loi normale.

Tableau 14 : Test de Jarque Bera urée

Paramètre	Niveau	p-value	alpha "α"	conclusion
Urée Architect	1	0,261	0,05	Valide

➤ Interprétation générale

- Les tests graphiques : Q-Q plot et P-P plot montrent une parfaite corrélation autour de la droite de référence, l'histogramme montre une symétrie de distribution des valeurs.
- Les tests statistiques « Shapiro-Wilk » et « Jarque Bera » confirment la normalité de la distribution des valeurs.
- Les paramètres créatinine niveau 1 et 2 du Cobas et ALAT niveau 2 Cobas ne suivent pas une loi normale par conséquent à partir de l'histogramme de distribution on a pris en considération, pour le calcul des paramètres statistiques, les valeurs ayant une distribution normale.

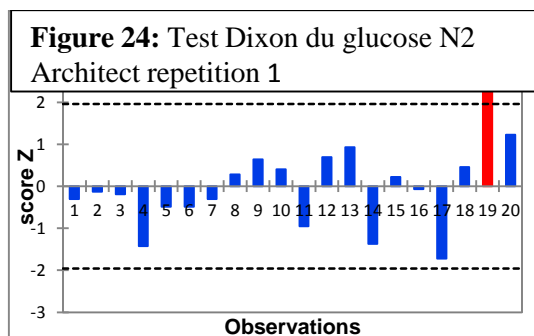
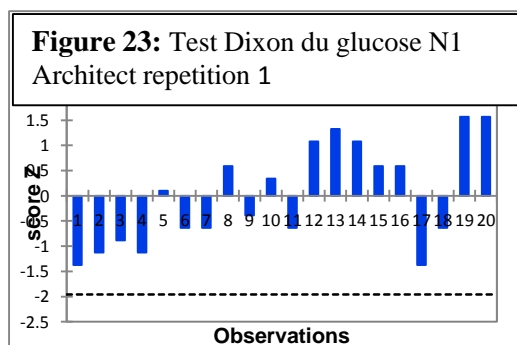
2.2. Elimination des valeurs aberrantes : Test de Dixon

Les valeurs aberrantes ont été éliminées par le test de Dixon, ce test a été fait par le logiciel XLSTAT après vérification de la loi normale pour tous les paramètres.

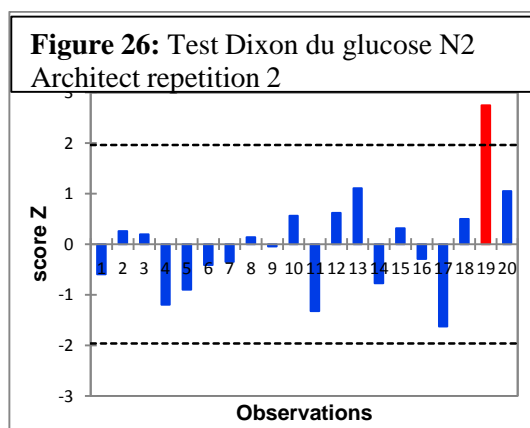
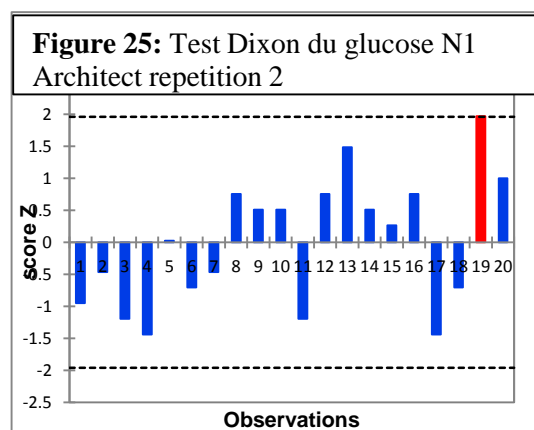
Le test a été fait pour chaque répétition (chaque jour) et pour chaque niveau individuellement.

On a pris l'exemple du GLUCOSE ARCHITECT ci4100, le reste des paramètres sont mis en annexes

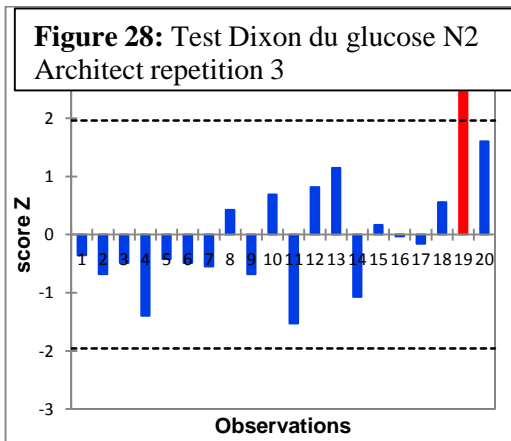
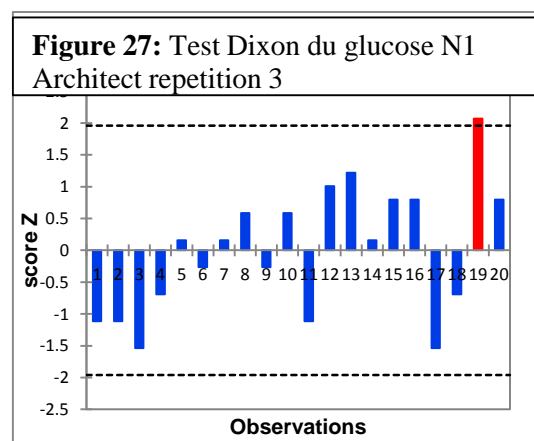
➤ Répétition 1 :



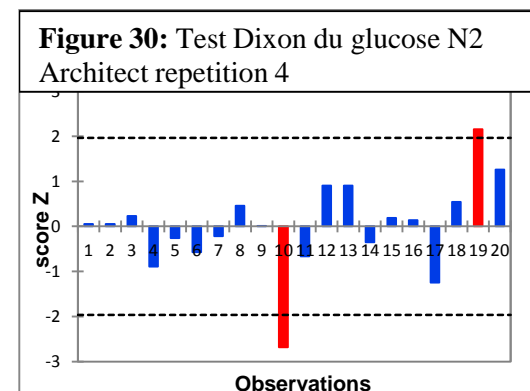
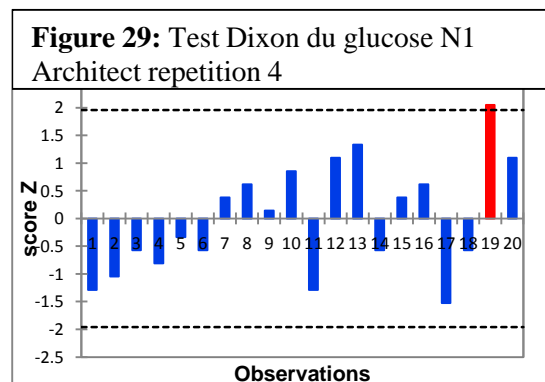
➤ Répétition 2 :



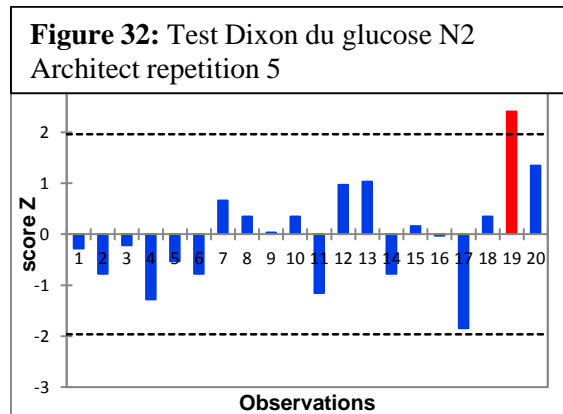
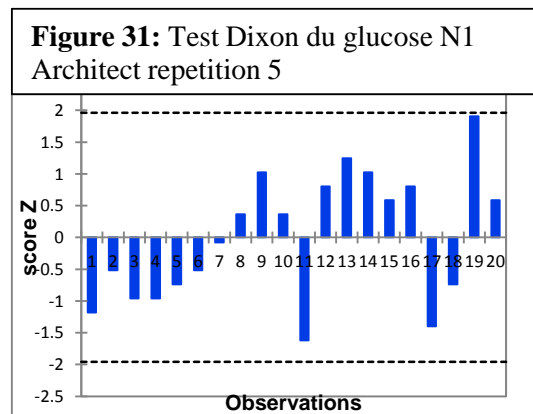
➤ Répétition 3 :



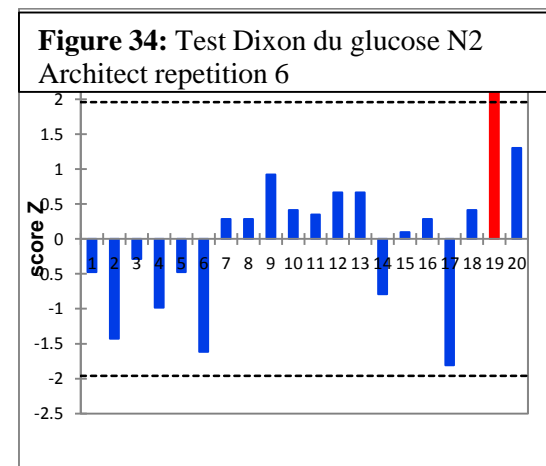
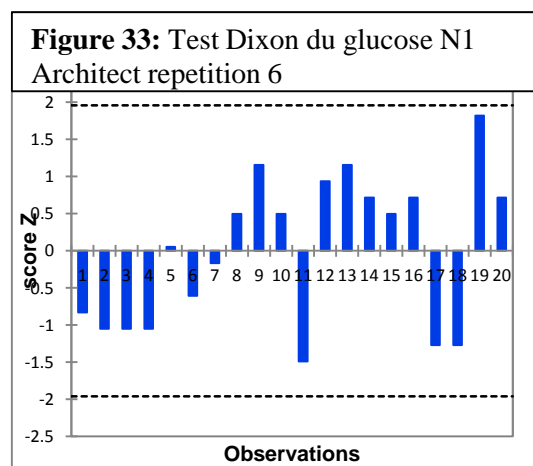
➤ Répétition 4 :



➤ Répétition 5 :



➤ Répétition 6 :

**Interprétation**

Les valeurs aberrantes sont en bâtons rouges dans les différents graphes.

On remarque que les valeurs aberrantes sont survenues le même jour.

Les valeurs aberrantes retrouvées ont été remplacées par d'autres valeurs des séries de répétitions obtenues dans les mêmes conditions.

Après avoir réappliqué le test de Dixon, les valeurs sont ainsi utilisées pour la suite des explorations.

2.3. Vérification/validation des performances des méthodes

La qualité des analyses de biologie médicale dépend de différents facteurs parmi lesquels le choix de la technique et sa validation jouent un rôle très important.

L'objet de cette évaluation est de vérifier, dans les conditions réelles d'utilisation, le bon fonctionnement du système analytique. Les données acquises peuvent être ultérieurement utilisées pour mettre en évidence un dysfonctionnement au cours du temps.

2.3.1. Critères à évaluer pour la portée A et la portée B

2.3.1.1. Evaluation de la fidélité

2.3.1.1.1. Répétabilité

- La répétabilité est évaluée par deux NV de concentrations de contrôles.
- Une série de 20 répétitions est lancée le même jour sans variation des conditions opératoires : temps, manipulateur, lot de réactif et calibration.
- La répétabilité est exprimée en CV % ($CV = (\text{écart type} / \text{moyenne}) * 100$) puis comparée aux CV limites de références préalablement choisis dans le protocole.

Tableau 15 : Répétabilité des deux niveaux de contrôle utilisés sur les trois automates pour les différents paramètres.

REPETABILITE							
Paramètre	Automate	Niveau	CV %	CV fournisseur	CV optimal	CV désirable	Conclusion
GLUCOSE	ARCHITECT	1	2,1	2,15	1,8	3,6	VALIDE
		2	2,1	1,51	1,2	2,4	VALIDE
	COBAS	1	1,5	0,41	1,8	3,6	VALIDE
		2	0,6	0,47	1,2	2,4	VALIDE
UREE	ARCHITECT	1	1,9	1,8	3	6	VALIDE
		2	1,8	2	1,9	3,8	VALIDE
	COBAS	1	1,9	2,3	3	6	VALIDE
		2	0,8	0,89	1,9	3,8	VALIDE
CREATININE	ARCHITECT	1	3,4	4,95	3,4	6,8	VALIDE
		2	1,9	3,18	1,8	3,6	VALIDE
	COBAS	1	2,2	3,1	3,4	6,8	VALIDE
		2	1,1	1,4	1,8	3,6	VALIDE
ASAT	ARCHITECT	1	2,3	2,1	4,5	9	VALIDE
		2	2,2	0,7	3,8	7,6	VALIDE
	COBAS	1	2,2	2,6	4,5	9	VALIDE
		2	0,6	1,8	3,8	7,6	VALIDE
ALAT	ARCHITECT	1	2,1	2,5	4,5	9	VALIDE
		2	2,1	1,8	3,8	7,6	VALIDE
	COBAS	1	2,4	1,5	4,5	9	VALIDE
		2	0,7	0,73	3,8	7,6	VALIDE
GGT	ARCHITECT	1	3,3	2,9	4,5	9	VALIDE
		2	2,3	1,2	3,8	7,6	VALIDE
	COBAS	1	2,2	1,8	4,5	9	VALIDE
		2	0,9	1	3,8	7,6	VALIDE
BILI T	ARCHITECT	1	2,7	4,6	4,2	8,4	VALIDE
		2	2	1,9	3,2	6,4	VALIDE
	COBAS	1	4,6	2,44	4,2	8,4	VALIDE
		2	1,8	1,39	3,2	6,4	VALIDE
	XPAND	1	5	1,2	4,2	8,4	VALIDE
		2	2,2	0,5	3,2	6,4	VALIDE

Valide : CV calculé < soit au CV fournisseur ou CV optimal ou CV désirable.

Les différents résultats du tableau sont représentés dans l'histogramme suivant :

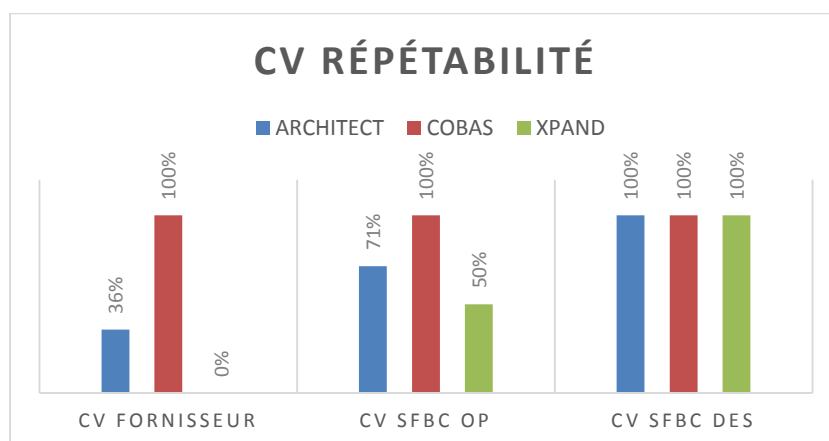


Figure 35 : Histogramme récapitulatif des pourcentages de validité des CV de la répétabilité obtenue comparés aux CV de références.

Interprétation : La répétabilité de tous les tests sur les trois automates est satisfaisante. Les limites du fournisseur sont très basses.

2.3.1.1.2. Fidélité intermédiaire : Reproductibilité intra laboratoire

Cette évaluation permet de connaître la variabilité analytique d'une méthode dans des conditions opératoires différentes. Ces données sont exploitées pour le calcul de l'incertitude de mesure utile à l'interprétation des résultats de patients.

Pour l'évaluer on a suivi le protocole suivant :

- Deux niveaux de concentrations de contrôles sont utilisés.
- Une série de deux répétitions est lancée chaque jour pendant 20 jours, en faisant varier au minimum une condition opératoire, qui est dans notre travail : le temps(jour) et la calibration.
- La reproductibilité est exprimée en CV % puis comparée aux CV limites de références préalablement choisi dans le protocole.

Tableau 16 : Fidélité intermédiaire des deux niveaux de contrôle utilisés sur les trois automates pour les différents paramètres.

FIDELITE INTERMEDIAIRE								
Paramètre	Automate	Niveau	CV% répétabilité moyenne	CV % fidélité intermédiaire	CV fournisseur	CV optimal	CV désirable	Conclusion
GLUCOSE	ARCHITECT	1	1.8	2.7	3.8	2.40	4.8	VALIDE
		2	1.86	2.6	2.75	1.60	3.2	VALIDE
	COBAS	1	1.54	3.1	3.43	2.4	4.8	VALIDE
		2	1.25	2.4	2.98	1.6	3.2	VALIDE
UREE	ARCHITECT	1	1.79	3.9	3.35	4	8	VALIDE
		2	2.06	4.4	9.58	2.5	5	VALIDE
	COBAS	1	1.96	3.5	4.08	4	8	VALIDE
		2	1.14	2.3	3.5	2.5	5	VALIDE
CREATININE	ARCHITECT	1	3.12	5.6	9.6	4.5	9	VALIDE
		2	1.39	4.9	6.24	2.4	4.8	VALIDE
	COBAS	1	3.12	6.0	5.38	4.5	9	VALIDE
		2	1.09	5.1	4.23	2.4	4.8	NON VALIDE
ASAT	ARCHITECT	1	2.02	4.1	4.8	6	12	VALIDE
		2	1.32	3.9	4.2	5	10	VALIDE
	COBAS	1	1.83	3.3	6.7	6	12	VALIDE
		2	1.79	2.9	5.55	5	10	VALIDE
ALAT	ARCHITECT	1	2.67	3.7	5.91	6	12	VALIDE
		2	1.21	4.3	4.91	5	10	VALIDE
	COBAS	1	2.4	3.3	6.2	6	12	VALIDE
		2	1.4	3.1	4.27	5	10	VALIDE
GGT	ARCHITECT	1	2.27	5.5	5.59	6	12	VALIDE
		2	1.88	4.6	5.33	5	10	VALIDE
	COBAS	1	1.87	4.8	7.39	6	12	VALIDE
		2	1.96	3.1	7.33	5	10	VALIDE
BILI T	ARCHITECT	1	4.2	5.1	4.88	5.6	11.2	VALIDE
		2	2.22	4.9	4.23	4.2	8.4	VALIDE
	COBAS	1	4.68	6.3	7.17	5.6	11.2	VALIDE
		2	2.32	2.9	4.86	4.2	8.4	VALIDE
	XPAND	1	6.09	10.78	4.4	5.6	11.2	VALIDE
		2	4.5	11.11	3	4.2	8.4	NON VALIDE

Valide : CV calculé < soit au CV fournisseur ou CV optimal ou CV désirable.

Interprétation : La reproductibilité de tous les tests sur les trois automates est satisfaisante, sauf pour la créatinine niveau 2 Cobas Integra et la bilirubine totale niveau 2 de l'Xpand.

2.3.1.2. Evaluation de la justesse

L'approche de la justesse peut être envisagée en comparant la moyenne de plusieurs dosages de contrôles ; à condition qu'ils se comportent comme les échantillons biologiques ; à une valeur cible (valeur vraie). L'écart observé correspond au biais.

Le biais peut être évalué à partir des résultats obtenus avec des échantillons de contrôle titrés ou des valeurs observées dans des programmes de contrôle interne couplés à une comparaison inter-laboratoire.

Le biais est calculé par la formule : $\text{biais} = (\text{moyenne} - \text{valeur cible}) / \text{valeur cible}$: exprimé en pourcentage et en valeur absolue.

Le biais est comparé aux limites de justesse de références acceptables (dans notre cas on a utilisé les normes SFBC).

Tableau 17 : Représentation des résultats de la justesse des différents automates.

JUSTESSE								
Paramètre	Automate	Niveau	Valeur cible	Moyenne valeurs	Biais	Limite de justesse acceptable	Limite de justesse désirable	Conclusion
GLUCOSE	ARCHITECT	1	0.8	0.727	13.76	4.40	8.8	NON VALIDE
		2	2.8	2.793	0.467	3.70	7.4	VALIDE
	COBAS	1	0.8	0.802	2.845	4.4	8.8	VALIDE
		2	2.8	2.813	0.833	3.7	7.4	VALIDE
UREE	ARCHITECT	1	0.3	0.286	15.735	6.9	13.8	NON VALIDE
		2	1.1	0.888	19.227	4.3	8.6	NON VALIDE
	COBAS	1	0.3	0.325	5.080	6.9	13.8	VALIDE
		2	1.0	0.981	3.315	4.3	8.6	VALIDE
CREATININE	ARCHITECT	1	27.2	25.65	5.698	7.8	15.6	VALIDE
		2	61.4	56.45	8.061	7.6	15.2	VALIDE
	COBAS	1	19.8	18.775	5.176	7.8	15.6	VALIDE
		2	48.0	45.800	4.583	7.6	15.2	VALIDE
ASAT	ARCHITECT	1	40.3	45.05	11.786	6.7	13.4	VALIDE
		2	189.0	202.675	7.235	6.2	12.4	VALIDE
	COBAS	1	36.8	36.525	0.747	6.7	13.4	VALIDE
		2	180	187.325	4.069	6.2	12.4	VALIDE
ALAT	ARCHITECT	1	31	32.725	5.564	6.7	13.4	VALIDE
		2	97.6	99.65	2.100	6.2	12.4	VALIDE
	COBAS	1	28.7	28.200	1.742	6.7	13.4	VALIDE
		2	91.3	90.750	0.602	6.2	12.4	VALIDE
GGT	ARCHITECT	1	59.6	54.55	8.473	6.7	13.4	VALIDE
		2	150.0	146.475	2.35	6.2	12.4	VALIDE
	COBAS	1	58.6	60.725	3.626	6.7	13.4	VALIDE
		2	150.0	149.775	0.15	6.2	12.4	VALIDE
BILI T	ARCHITECT	1	11.1	12.45	12.162	10.6	21.2	VALIDE
		2	40.1	43.95	9.710	11.2	22.4	VALIDE
	COBAS	1	9.4	9.475	1.012	10.6	21.2	VALIDE
		2	37.7	38.400	1.856	11.2	22.4	VALIDE
	XPAND	1	14.86	9.025	10.6	21.2	42.4	VALIDE
		2	0.86	41.25	11.2	22.4	44.8	VALIDE

Valide : Biais calculé < soit à la limite de justesse acceptable ou à la limite de justesse désirable.

Interprétation : Les résultats sont satisfaisants sauf pour le glucose Architect ci4100 niveau 1 et l'urée Architect ci4100.

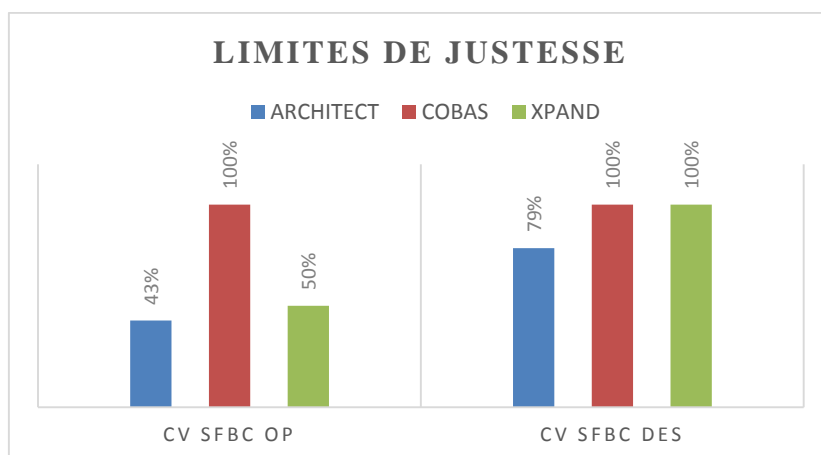


Figure 36 : Représentation des % de justesse par rapport aux références

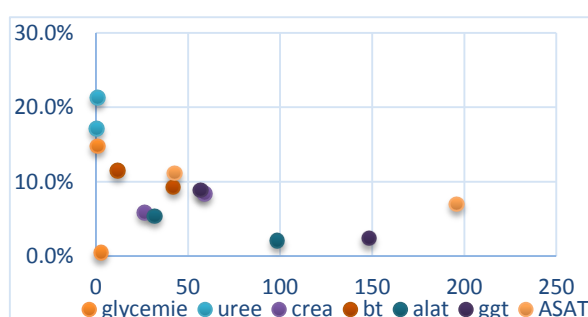


Figure 37 : Représentation graphique du % de l'erreur de justesse en fonction de la moyenne.

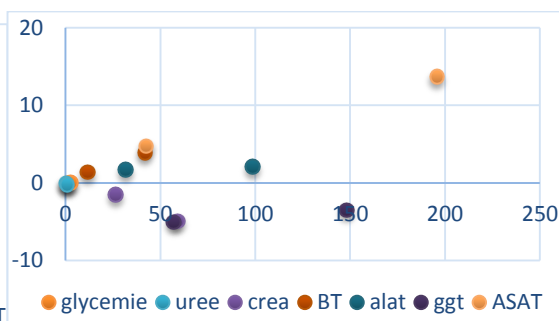


Figure 38 : Représentation graphique du biais en fonction de la moyenne.

Interprétation

La justesse de tous les paramètres de Cobas Intégra sont inférieures aux limites de justesse optimales de SFBC ; Cependant l'Architect ci 4100 présentent des biais très élevés pour le glucose et l'urée.

Ainsi la majorité des paramètres présentent un pourcentage de l'erreur systématique entre 0 et 5 % qui est très satisfaisant. La justesse est meilleure pour le Cobas Intégra.

La glycémie et l'urée présentent un pourcentage très élevé d'erreur systématique qui atteint 20% « > ETA ».

2.3.2. Critères à évaluer uniquement pour la portée B

Pour des raisons pratiques, nous avons évalué uniquement le paramètre GLUCOSE ARCHITECT ci4100.

2.3.2.1. Etude de la linéarité

L'évaluation des limites de linéarité permet de déterminer l'intervalle des concentrations à l'intérieur duquel les mesures peuvent être effectuées avec fidélité et justesse (fiabilité).

- Limite inférieure : limite de quantification
- Limite supérieure : limite de linéarité supérieure

Au-delà de la limite supérieure, une dilution de l'échantillon doit être effectuée.

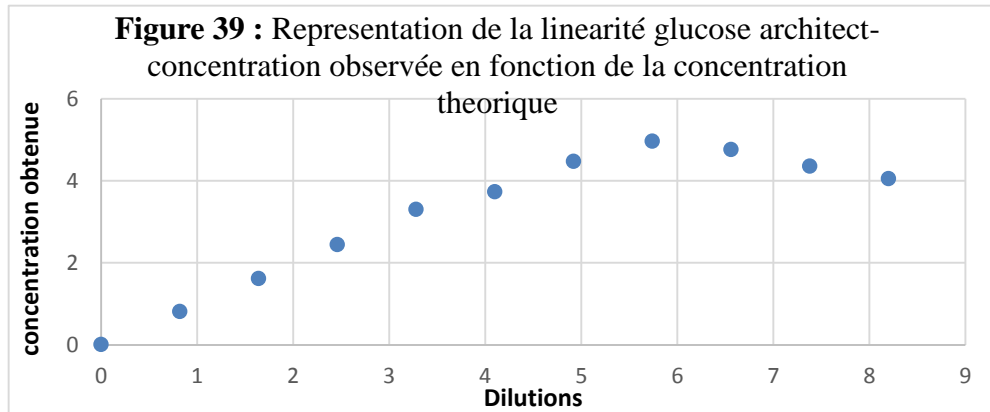
- 11 dilutions ont été effectuées à partir d'une solution contenant l'analyte (calibrant niveau 3 Glucose).
- Analyse de chaque dilution en triple.
- Exploitation des résultats : tableau et graphes.

Tableau 18 : Evaluation des limites de linéarité de la technique de dosage du GLUCOSE Architect ci4100.

LINEARITE GLUCOSE ARCHITECT						
N° solution	V SOL	C théorique	moy des rep	X/ Y(C/MOY)	X / Y en %	Diff
1	0	0	0.010	0.0000	0.0	-0.010
2	0.1	0.82	0.817	1.0041	100.4	0.003
3	0.2	1.64	1.617	1.0144	101.4	0.023
4	0.3	2.46	2.450	1.0041	100.4	0.010
5	0.4	3.28	3.310	0.9909	99.1	-0.030
6	0.5	4.1	3.737	1.0972	109.7	0.363
7	0.6	4.92	4.477	1.0990	109.9	0.443
8	0.7	5.74	4.970	1.1549	115.5	0.770
9	0.8	6.56	4.767	1.3762	137.6	1.793
10	0.9	7.38	4.363	1.6914	169.1	3.017
11	1	8.2	4.053	2.0230	202.3	4.147

- On évalue la relation entre les concentrations calculées et les concentrations théoriques et non pas le signal de la réaction « DO » en fonction de la concentration théoriques.
- L'existence d'une relation linéaire entre la concentration estimée et la concentration introduite n'implique pas que la méthode soit juste.
- On n'a pas évalué la limite de quantification car les limites de décisions cliniques sont loin de la limite de quantification théorique documentée « 0,04g/L ».
- Mais pour les tests où la limite de quantification est proche des limites de décision cliniques, elle est obligatoirement évaluée par le même principe que la limite supérieure en utilisant une concentration inférieure à la limite quantitative documentée.
- L'exploitation des résultats s'est faite selon la démarche suivante :

- Graphe $y_i = f(X_i)$: Y_i = valeurs observées , X_i = valeurs théoriques.



Interprétation : La partie rectiligne représente la gamme fiable de la linéarité « atteint 3,28g/l », on peut accepter jusqu'à la dilution 0,45 « correspondant à 3,7 g/l ».

- Graphe $x/y = f(x_i)$

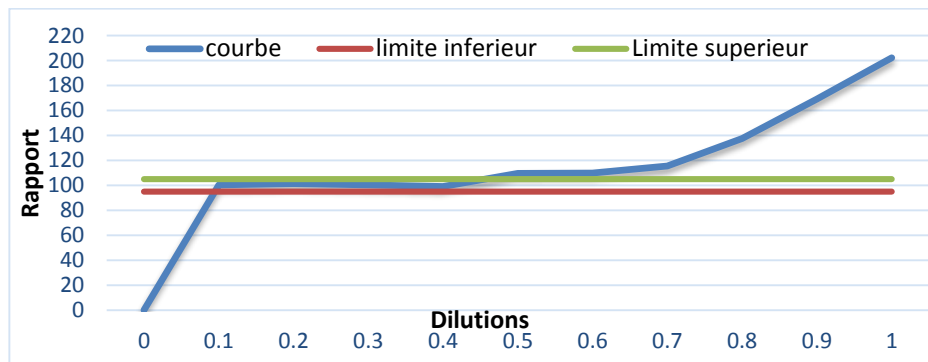
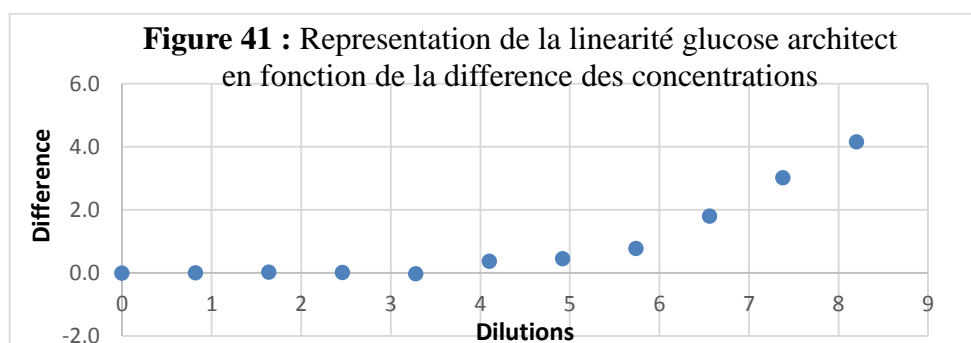


Figure 40 : Représentation graphique du rapport X/Y pour l'étude de la linéarité du glucose Architect ci4100

Interprétation : Seules les valeurs comprises entre la limite inférieure acceptable et la limite supérieure acceptable définissent l'intervalle de linéarité (la limite supérieure acceptable égale à 3.7g/l).

- Graphe des différences



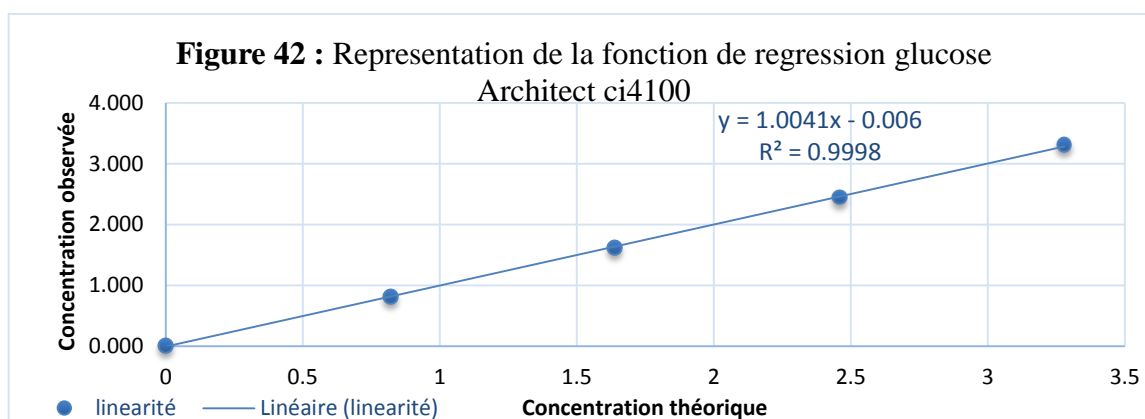
Interprétation : Le diagramme des différences montre effectivement que la différence entre les concentrations théoriques et attendues commence à devenir importante à partir du 5^{ème} point de la dilution qui correspond à 3,28g/l.

Conclusion : La limite de la linéarité haute de glucose Architect est 3,28g/l. elle est différente de celle annoncée dans la fiche technique du réactif manuelle « 4g/l ».

D'où la nécessité de réévaluer la linéarité pour les paramètres de la portée B.

- **Détermination de la fonction de la regression , la pente et l'ordonnée à l'origine**

A partir des valeurs linéaires on trace la courbe $y_i = f(X_i)$.



Les résultats de l'étude de la linéarité montrent une équation de la droite de régression obtenue est : $y = 1,0041x - 0,006$ avec ($R^2 = 0,9998$).

2.3.2.2. Effet de dilution

Résulte de la modification de la matrice par dilution du milieu biologique dans un diluant de composition différente du milieu biologique et peut être à l'origine de résultats erronés. La détermination de l'effet de la dilution doit être effectué dans le cas où les valeurs physiopathologiques pourraient être supérieures à la limite de linéarité.

Pour son évaluation, on a réalisé 10 mesures après dilutions indépendantes au facteur 1/2, 1/3 et 1/4. les résultats sont exprimés par les CV et comparés aux CV de références selon les normes SFBC.

Tableau 19 : Etude de l'effet de dilution du glucose Architect ci4100.

DILUTION	n	Moyenne	écart type	CV	CV fournisseur	CV optimal	CV désirable	Conclusion générale
AU DEMI	10	3.598	0.0537	1.4927	1.51	1.2	2.4	VALIDE
AU TIERS	10	2.321	0.0303	1.3076	1.51	1.2	2.4	VALIDE
AU QUART	10	1.735	0.0118	0.6793	1.51	1.2	2.4	VALIDE

Valide : CV calculé > soit au CV fournisseur ou CV optimal ou CV désirable.

Interprétation : On remarque que les CV diminuent avec l'effet de dilution.

2.3.2.3. Comparaison méthodes

Pour comparer les résultats de la méthode glucose ARCHITECT ci4100 (à tester) avec ceux de la méthode du glucose COBAS Integra (prise comme référence, elle permettra ainsi de vérifier la justesse) ; nous avons établi une cohorte de 40 échantillons de patients couvrant de façon homogène l'étendue du domaine physiopathologique rencontré au niveau du laboratoire et repartis selon les recommandations de la SFBC.

Tableau 20 : Répartition des concentrations pour les spécimens de patients utilisés pour les comparaisons de techniques « glucose Architect ci4100/Cobas Intégra » selon les recommandations SFBC.

	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Groupe D
Domaine de concentration	1,5 – 03 mmol/l 0,27 – 0,54 g/l	3,1 – 06 mmol/l 0,56 – 1,08 g/l	6,1 – 10 mmol/l 1,09 – 1,80	10,1 -24 mmol/l 1,82 – 4,32
Nombre d'échantillon (%)	04 (10%)	16 (40%)	12 (30%)	08 (20%)

Les échantillons sont analysés par les deux techniques dans les mêmes conditions. Analyse des échantillons successivement en simple sur les deux automates.

L'exploitation des résultats est réalisée par le logiciel XLSTAT offrant la possibilité de réaliser la comparaison selon les recommandations de SFBC :

- Régression linéaire de Passing Bablock
- Diagramme de différences de Bland Altman avec les limites de suivi de SFBC.

Les recommandations de Bland Altman permettent d'estimer les relatives différences entre deux méthodes en fonction des moyennes des concentrations mesurées pour chaque méthode.

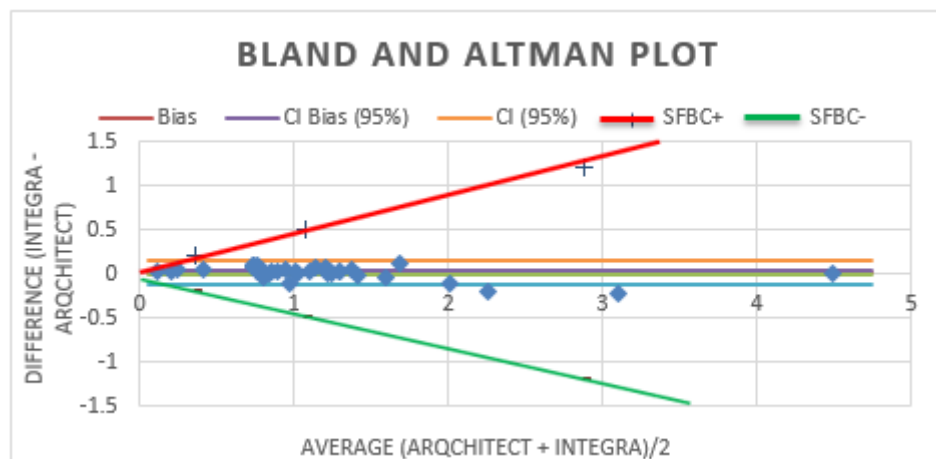
Cela permet de définir le biais entre les deux techniques, son écart type et son IC 95%.

Le graphe $x/y = f(x_i)$ donne des informations complémentaires au diagramme des différences.

La comparaison se déroule ainsi en deux étapes :

- Vérifier la discordance et porter l'interprétation et la correction adéquate.
- Vérifier la corrélation des deux régressions « méthode testée et méthode de référence ».

- **Test de Bland Altman**



Comparaison (x) : références
Moyenne : 1.16g/l
Ecart type : 0.75g/l

Test (Y) : Testée
Moyenne : 1.14g/l
Ecart type : 0.78 g/l

Couple : 40
Hors bornes : 0

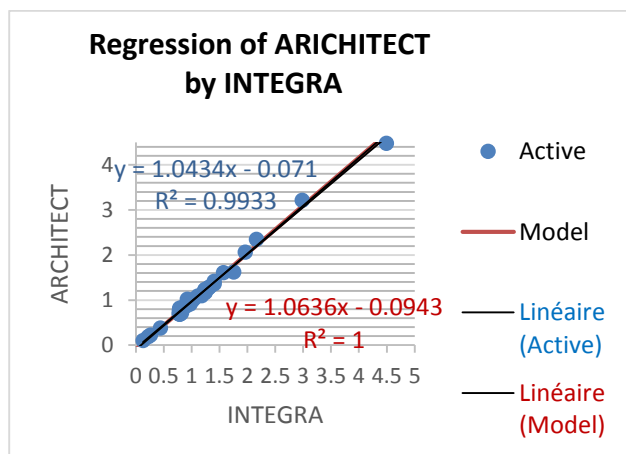
Figure 43 : Représentation graphique des différences entre les deux méthodes en fonction de la moyenne des concentrations.

Interprétation : La majorité des différences sont réparties d'une façon homogène dans IC95%, la moyenne des différences est positive ce qui montre que la technique à l'hexokinase donne des résultats légèrement supérieurs aux résultats fournis par la technique GOD/POD.

On identifie deux points « (2.255 -0.19) et (3.09 -0.23) qui sortent de l'IC 95%.

Cependant si on interprète par rapport aux limites d'acceptabilité SFBC de suivi et d'interprétation « presque égales aux normes de suivi, ces valeurs sont bien incluses à l'intérieur ».

- Régression de Passing and Bablok



Glucose (g /l)

Comparaison (x) : références

Moyenne : 1.16g/l

Ecart type : 0.75

Test (Y) : Testée

Moyenne : 1.14g/l

Ecart type : 0.78

Couple : 40

Pente : 1.043

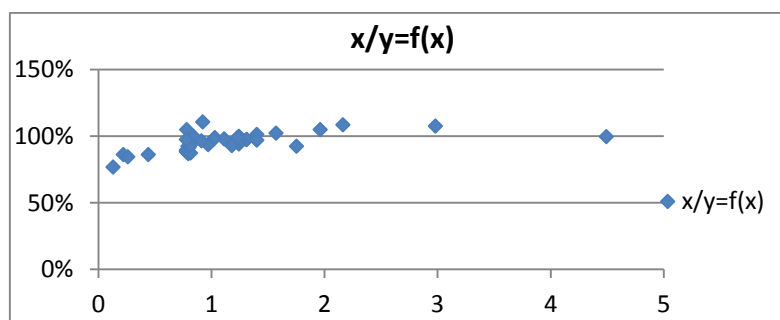
Origine : -0.071

Figure 44 : Représentation graphique de la droite de régression des deux méthodes.

Test de linéarité comparaison méthodes	p-value	alpha"α"	conclusion
relation entre les deux	0.819	0.05	VALIDE

Interprétation : P-value > alpha ; les deux droites sont parfaitement corrélées, la relation entre les variables est linéaire.

- Rapport de la méthode testée par rapport à la méthode de référence



moyenne	ET	CV
96%	0,07	7,29

Figure 45 : Représentation graphique (Xi/Yi) en pourcentage entre les deux méthodes en fonction de la concentration de la méthode de référence.

Interprétation : Il existe un biais systématique proportionnel à la concentration entre les deux méthodes qu'il convient de comparer aux normes d'acceptabilités, d'en rechercher la cause pour y apporter une mesure corrective, et si nécessaire, d'en évaluer l'impact sur l'intervalle de référence et d'en informer les prescripteurs.

- Evaluation de l'exactitude

- On a choisi 4 échantillons « à des niveaux des décision cliniques »
- Les valeurs observées sont comparées à la valeur cible. La différence exprimée en concentration et en pourcentage est comparée aux limites d'inexactitude.
- Les résultats font apparaître une erreur systématique.

Tableau 21 : Evaluation de l'exactitude d'une méthode de dosage de glucose par GOD/POD sur Architect ci4100.

	1	2	3	4
Valeur de référence cible g/l	0,44	0.91	1.25	1.75
Méthode testée (valeur) g/l	0,38	0.88	1.22	1.62
Différence g/l(%)	-0.06 (-13.6%)	-0.03 (-3.3%)	-0.03 (-2.4%)	-0.13(-7.4%)
Limite acceptable de justesse « SFBC »	+/-6%	+/-5%	+/-4%	+/-4%
Conclusion	NON VALIDE	VALIDE	VALIDE	NON VALIDE

Interprétation : Selon les normes SFBC, l'exactitude est à vérifier pour les concentrations basses et élevées.

2.4. Système de contrôle interne de qualité

Le contrôle interne de qualité est une des exigences techniques clés de l'accréditation des LBM selon le référentiel EN ISO 15189. Dans notre travail on a suivi les recommandations visant à aider les responsables de laboratoire à concevoir, mettre en place et exploiter quotidiennement et rétrospectivement un système de contrôle interne de qualité efficace.

Chaque laboratoire doit concevoir un système de contrôle interne de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue. Il doit démontrer que le matériel de laboratoire est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications recommandées afin de surveiller en continu que les opérations et les résultats des mesures sont suffisamment fiables pour être communiqués.

Plusieurs approches sont utilisées dans les laboratoires à l'échelle internationales allant des méthodes ne répondant à aucune recommandation aux nouvelles stratégies qui tiennent au préalable le degré de performance de chaque laboratoire.

Dans notre travail nous avons utilisées des approches différentes afin de pouvoir répondre à la question : quelle est la meilleure à mettre en place pour garantir une qualité meilleure ?

L'objectif final c'est que les erreurs détectées à l'aide des échantillons de contrôle doivent être le reflet exact de celles qui se produisent avec les échantillons de patients.

Toutes ces approches sont basées sur l'établissement des cartes de contrôle.

2.4.1. Exploitation des données de CIQ : Cartes de contrôles

Dans notre travail nous avons utilisé deux types de cartes de contrôle :

- Les cartes classiques de Levey Jenning
- Les cartes Z Score

2.4.1.1. Carte de Levey Jenning

Le diagramme de Levey Jenning représente l'outil de base de suivi des données individuelles de contrôle interne de qualité.

Après avoir constitué les cartes de contrôle, selon la méthode décrite ci-dessus « partie théorique page n°18 », nous avons procédé à leur interprétation.

L'interprétation immédiate « en temps réel » permet de détecter des résultats déviants, révélateurs d'une anomalie dans le processus d'analyse, elle est basée en règle général sur l'utilisation de l'écart type qui estime la dispersion des résultats et permet de définir les limites d'acceptabilité à l'intérieur desquelles peuvent varier les résultats.

L'interprétation à moyen terme nous a permis de calculer la fidélité intermédiaire et de déceler des tendances qui interprètent une dégradation du processus analytique.

Avant de procéder à l'interprétation des cartes de contrôle, la procédure de la gestion de qualité doit être prédéfinie « critères de jugement de la non-conformité ».

2.4.1.1.1. Illustration de quelques exemples de carte de contrôle

Afin de mieux comprendre l'interprétation des différents diagrammes de levey jenning, nous avons illustré un exemple pour chaque automate.

➤ ARCHITECT ci4100

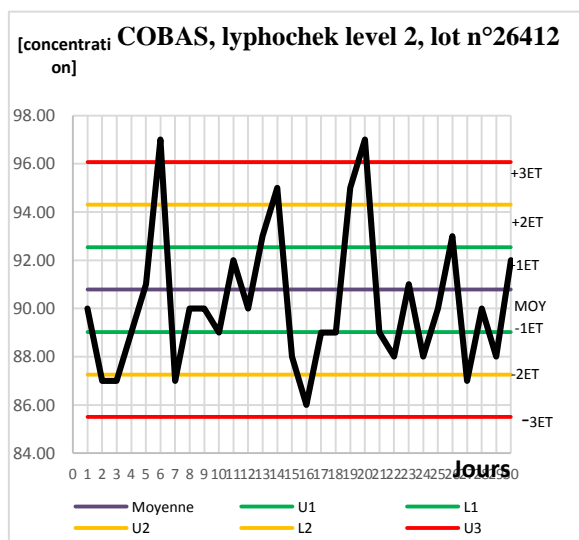


Figure 46 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité au glucose niveau 1 – Architect pendant 30 jours.

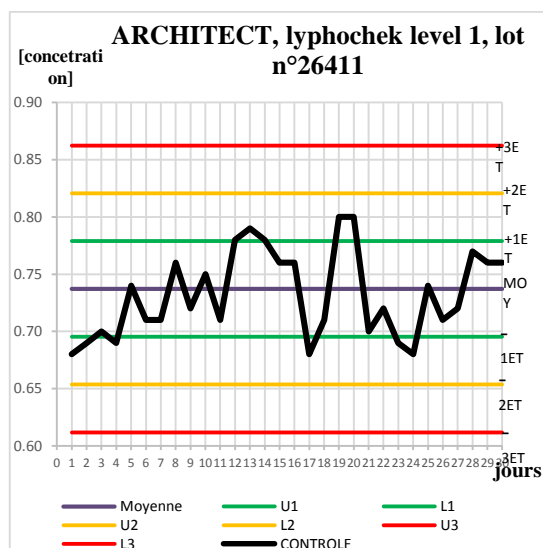


Figure 47 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité au glucose niveau 2 – Architect pendant 30 jours.

➤ COBAS Integra

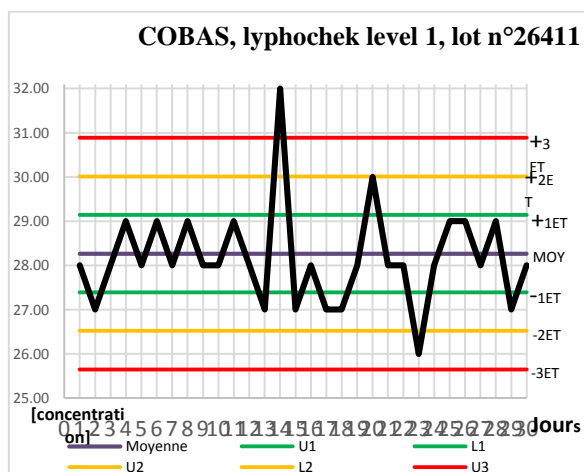


Figure 48 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de l'ALAT niveau 1 – Cobas pendant 30 jours.

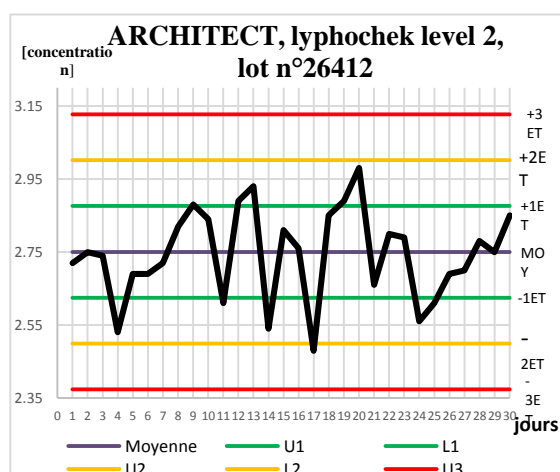


Figure 49 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de l'ALAT niveau 2 – Cobas pendant 30 jours.

➤ XPAND

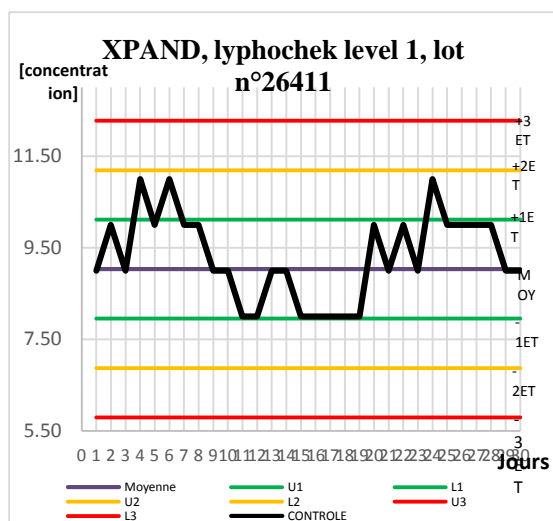


Figure 50 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de la bilirubine totale niveau 1 – Xpand pendant 30 jours.

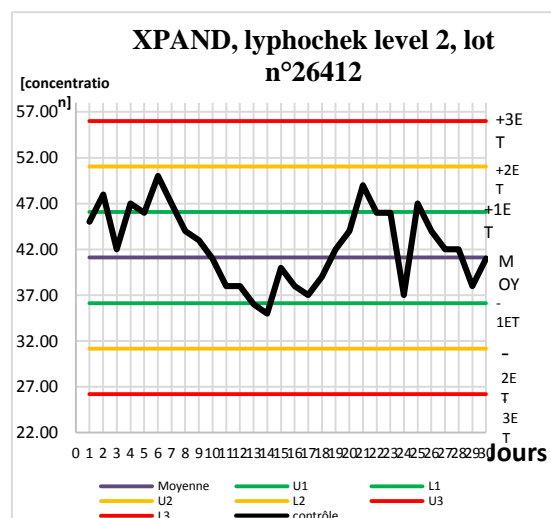


Figure 51 : Diagramme de levey jenning représentant les valeurs du contrôle qualité de la bilirubine totale niveau 2 – Xpand pendant 30 jours.

2.4.1.1.2. Les règles d'interprétation

2.4.1.1.2.1. Interprétation usuelle

D'une façon générale, les résultats compris dans l'intervalle $\pm 2s$, représentant 95.5% des valeurs normales, sont validés. Ceux différant de plus de 2s « seuil d'alerte et non du rejet » doivent faire l'objet d'une analyse utilisant les règles standard de westgard.

Tableau 22 : Représentation des pourcentages d'alerte à 2s des différents paramètres

REGLE D'ALERTE 2S		
Paramètre	Automate	% d'alerte
Glycémie	Architect ci4100	3%
	Cobas Integra	23%
Urée	Architect ci4100	10%
	Cobas Integra	13%
Créatinine	Architect ci4100	10%
	Cobas Integra	13%
ASAT	Architect ci4100	7%
	Cobas Integra	27%
ALAT	Architect ci4100	20%
	Cobas Integra	33%
GGT	Architect ci4100	10%
	Cobas Integra	13%
BILI T	Architect ci4100	13%
	Cobas Integra	7%
	Xpand	3%

Interprétation : On remarque que le pourcentage d'alerte est plus important pour Cobas Integra sauf pour la bilirubine totale.

Selon les nouvelles règles de westgard l'alerte à 2s n'est pas utilisée, on recommande ainsi selon les références westgard d'utiliser la nouvelle stratégie d'interprétation.

2.4.1.1.2.2. Règles de westgard

L'interprétation a été faite selon les nouvelles règles de westgard représentées dans la figure 52.

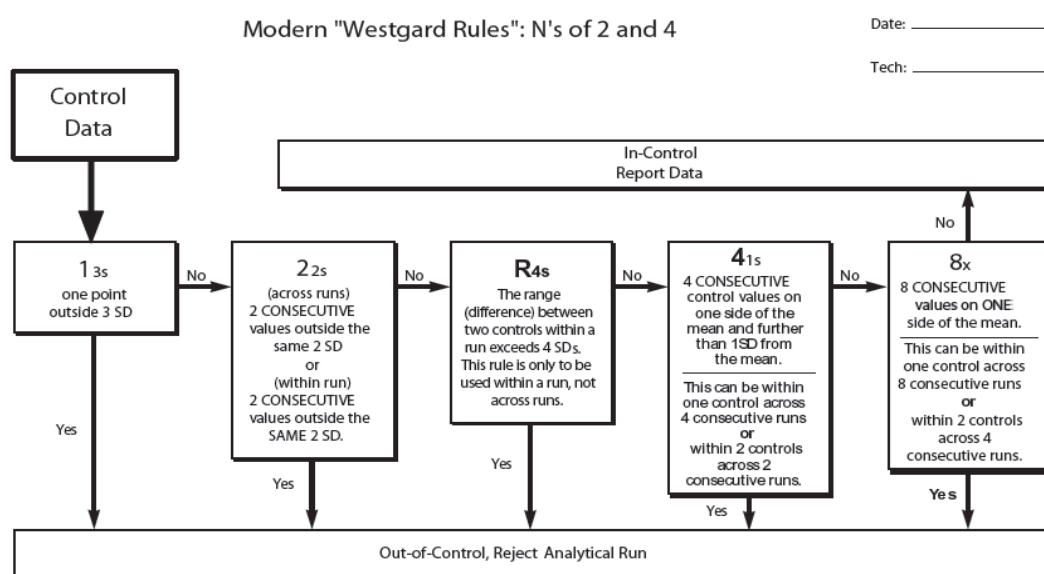


Figure 52 : Les nouvelles règles de Westgard

Pour chaque règle nous avons relevé les jours où il y a une violation de la règle parmi les 30 valeurs retenus pour chaque niveau de contrôle.

Nous avons représenté l'exemple du paramètre ASAT Architect ci 4100 dans le tableau 23.

Tableau 23 : Application des règles de Westgard sur l'exemple ASAT Architect ci4100

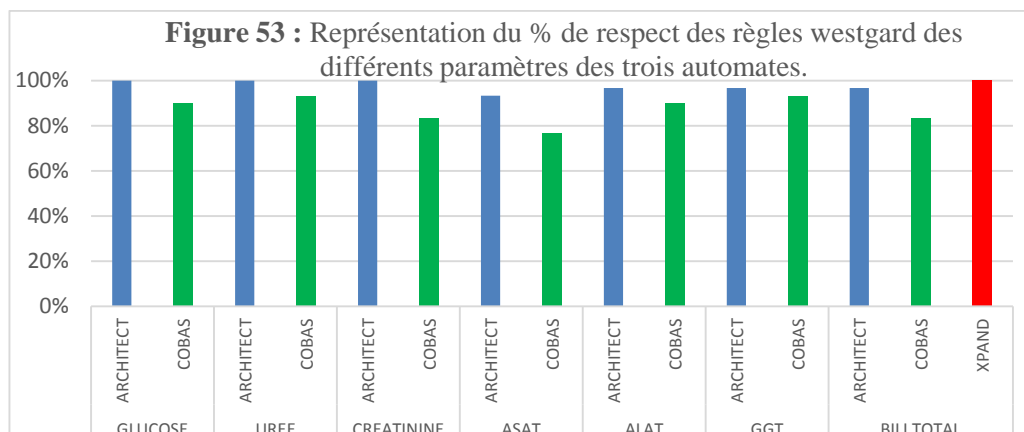
WESTGARD RULES						
Nombre de jours	CONCLU 3S NV1	CONCLU 3S NV2	CONCL 2.2.s	CONC R4s	CONCL 4.1.s	CONCL 8X
28	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI
1	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	FAUX	VRAI
1	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	FAUX	FAUX

Puis nous avons calculé le pourcentage des jours sous contrôle où toutes les règles ont été respectées.

$$\% = \frac{\text{nombre de jours sous contrôle}}{\text{nombre total de jours}} \times 100$$

30

Les résultats sont représentés dans la figure 53 :



Interprétation : On a enregistré un % de respect plus élevé pour l'Architect ci4100 par rapport à Cobas Integra.

2.4.1.2. Carte Z Score

Ce type de diagramme est une carte de contrôle destinée au suivi de la variable Z (Z-score). Ce diagramme permet à chaque laboratoire de suivre l'évolution de ses résultats au cours du temps et notamment après un changement de technique ou de lot.

2.4.1.2.1. Carte Z Score entre les niveaux

➤ ARCHITECT ci4100

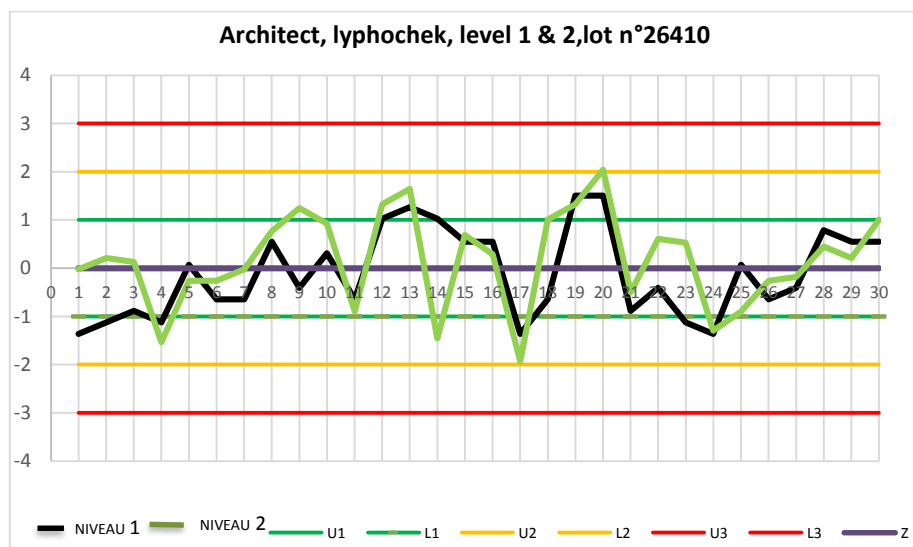
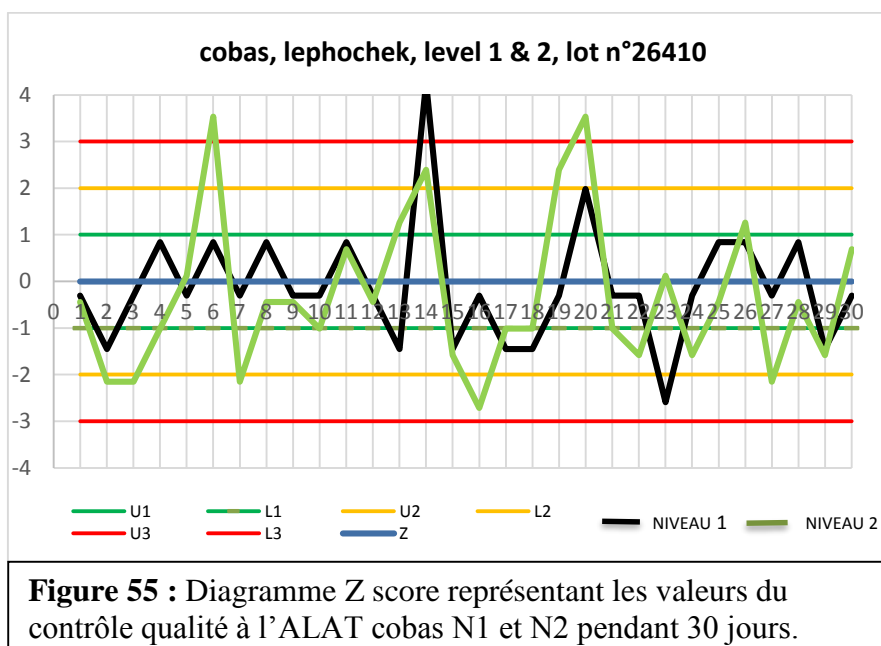


Figure 54 : Diagramme Z score représentant les valeurs du contrôle qualité au glucose Architect ci4100 N1 et N2 pendant 30

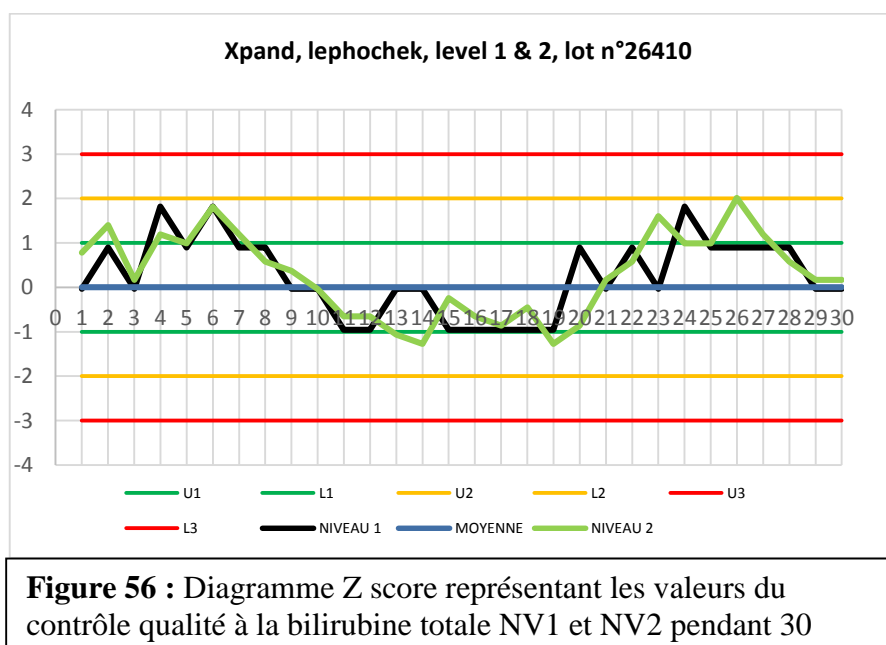
Interprétation : le Z score est entre la zone acceptable $-2/+2$.

➤ **COBAS Integra**



Interprétation : beaucoup de valeurs Z dépassent la zone acceptable $-2/+2$. Certaines mêmes dépassent la zone $+3$ ce qui est inacceptable. Des mesures correctives doivent être prises.

➤ **XPAND**



Interprétation : le Z score est entre la zone acceptable $-2/+2$. Les deux niveaux de contrôle sont au-dessus de 0.

2.4.1.2.2. Carte Z Score entre automates

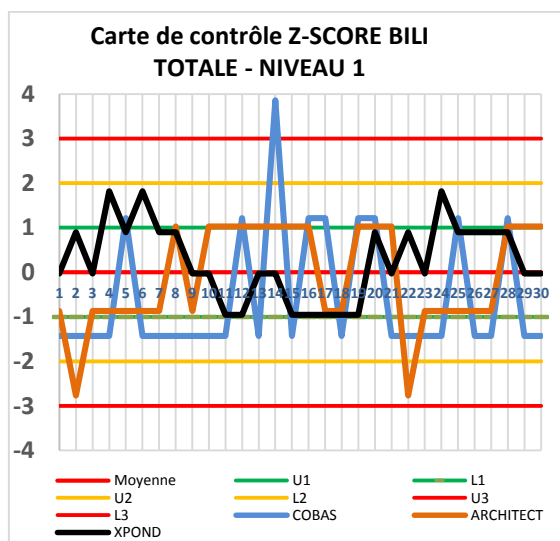


Figure 57 : Carte de contrôle Z Score du paramètre bilirubine totale niveau 1 entre les trois automates.

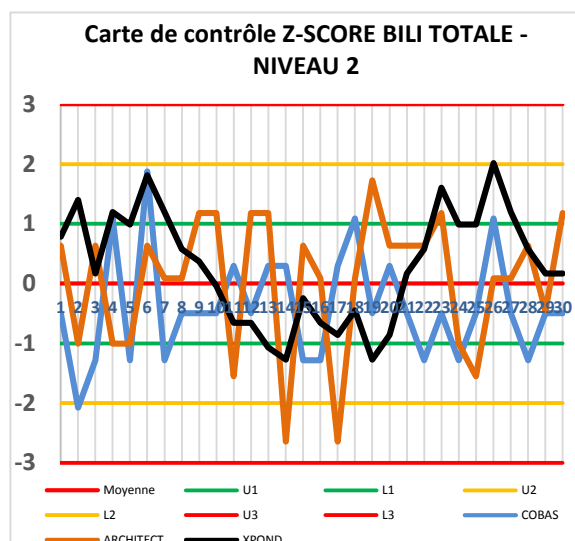


Figure 58 : Carte de contrôle Z Score du paramètre bilirubine totale niveau 2 entre les trois automates.

Interprétation : Le Z score est entre la zone acceptable $-2/+2$ pour la majorité des valeurs pour les trois automates. On remarque cependant une tendance entre le 6^{ème} jour et 14^{ème} jour pour Xpand.

2.4.1.2.3. Exploitation des résultats des cartes Z Score

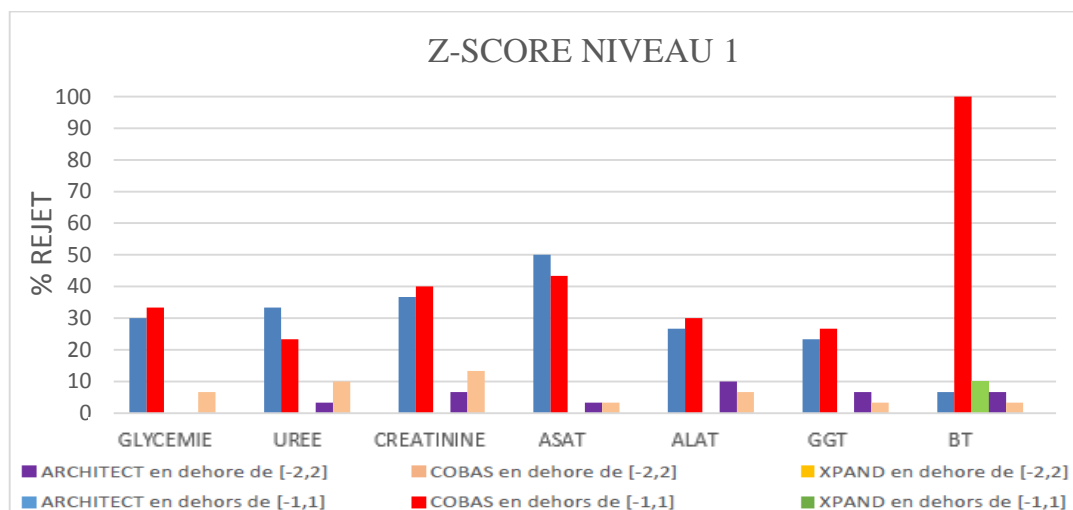


Figure 59 : Représentation graphique des pourcentages de rejet (en dehors des intervalles $[-1,1]$ et $[-2,2]$) du niveau 1 des paramètres des trois automates.

Interprétation : Pour le niveau 1 ; le % des contrôles qui sont en dehors de l'intervalle -1 et $+1$ est presque le même pour les trois appareils sauf la bilirubine totale Cobas integra où aucune valeur n'est à l'intérieur de l'intervalle -1 et $+1$.

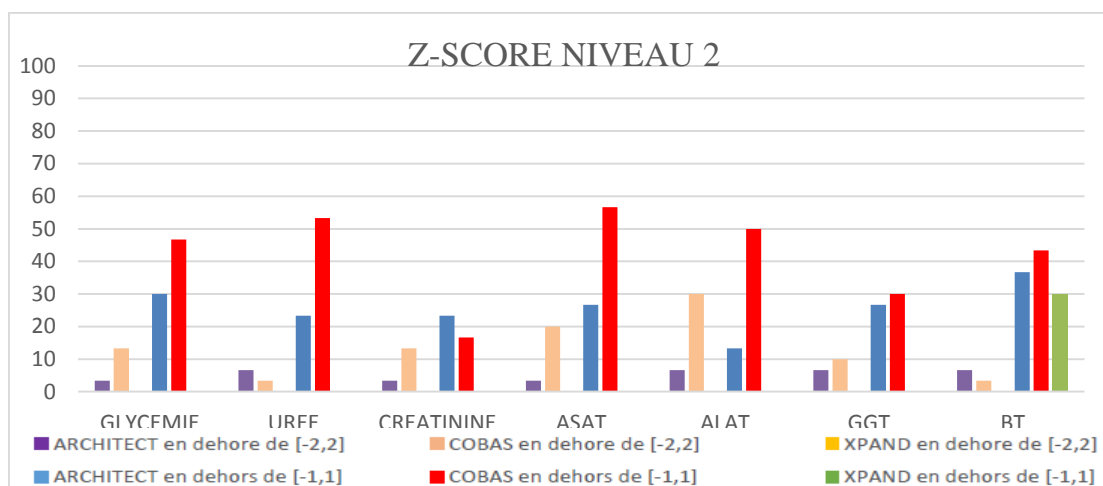


Figure 60 : Représentation graphique des pourcentages de rejet (en dehors des intervalles [-1,1] et [-2,2]) du niveau 2 des paramètres des trois automates.

Interprétation : Pour le niveau 2 ; le % des contrôles qui sont en dehors de l'intervalle -1 et +1 est plus important pour les paramètres Cobas Integra, presque le même résultat est constaté pour l'intervalle -2 +2.

- En examinant les cartes Z pour le niveau 1 et 2, on remarque qu'il n'y a pas d'erreurs systématiques pour Cobas Integra et Architect ci4100 ; cependant on révèle des tendances pour Xpand, ce sont plutôt des erreurs aléatoires dont la majorité est dans l'intervalle des valeurs acceptées.

2.5. Stratégie sigma métrique

Six Sigma signifie la marge d'erreur d'un processus. C'est une notion statistique.

1 Sigma est l'écart type (la zone autour de la moyenne).

Le but est que le processus de qualité ait une fiabilité quasi absolue, donc qui assure une fiabilité jusqu'à 6 fois l'écart type avec peu d'erreurs et un coût faible.

En effet, six sigma c'est 3,4 défauts par million d'opportunités de défauts, soit un taux de conformité de 99.99966%.

2.5.1. Calcul de sigma métrique

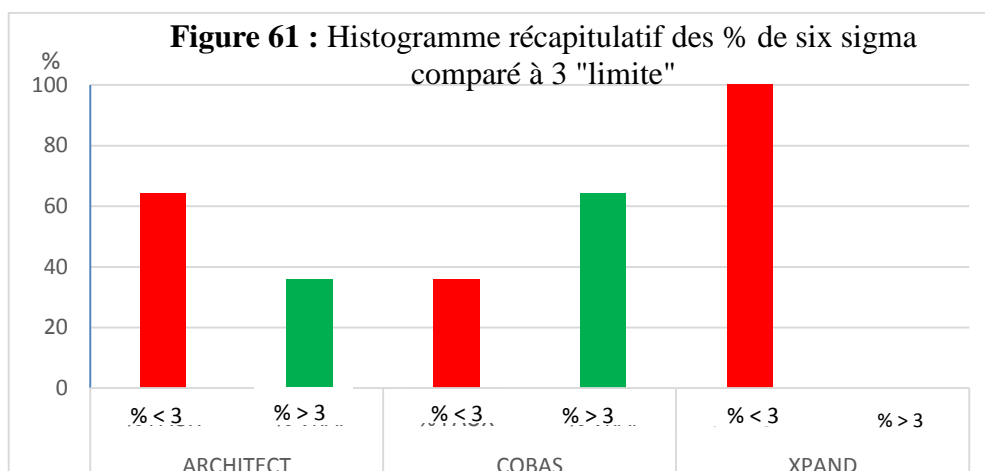
Le sigma métrique a été calculé pour tous les paramètres et comparé à la limite de 3 (limite inférieure de la qualité mondiale admise).

$$\text{Sigma métrique} = (\text{ETA-biais}) / \text{CV}$$

Les différents résultats sont représentés dans le tableau 24 ;

Tableau 24 : Sigma métrique des différents paramètres des trois automates

SIGMA métrique						
PARAMETRE	AUTOMATE	NIVEAU	ETA	Sigma métrique	limite	Conclusion
GLUCOSE	Architect	Niveau 1	10	-1.40	3	<3
		Niveau 2	10	3.66	3	>3
	Cobas	Niveau 1	10	2.30	3	<3
		Niveau 2	10	3.83	3	>3
UREE	Architect	Niveau 1	9	-1.72	3	<3
		Niveau 2	9	-2.33	3	<3
	Cobas	Niveau 1	9	1.11	3	<3
		Niveau 2	9	2.42	3	<3
CREATININE	Architect	Niveau 1	15	1.65	3	<3
		Niveau 2	15	1.41	3	<3
	Cobas	Niveau 1	15	1.65	3	<3
		Niveau 2	15	2.05	3	<3
ASAT	Architect	Niveau 1	20	2.01	3	<3
		Niveau 2	20	3.30	3	>3
	Cobas	Niveau 1	20	5.87	3	>3
		Niveau 2	20	5.53	3	>3
ALAT	Architect	Niveau 1	20	3.94	3	>3
		Niveau 2	20	4.17	3	>3
	Cobas	Niveau 1	20	5.48	3	>3
		Niveau 2	20	6.31	3	>3
GGT	Architect	Niveau 1	20	2.09	3	<3
		Niveau 2	20	3.84	3	>3
	Cobas	Niveau 1	20	3.40	3	>3
		Niveau 2	20	6.42	3	>3
BILI T	Architect	Niveau 1	20	1.53	3	<3
		Niveau 2	20	2.09	3	<3
	Cobas	Niveau 1	20	3.01	3	>3
		Niveau 2	20	6.18	3	>3
	Xpand	Niveau 1	20	0.48	3	<3
		Niveau 2	20	1.72	3	<3



Interprétation : La valeur de sigma diffère selon le niveau de la concentration pour les trois automates, elle est toujours plus élevée pour les niveau 2 « la concentration la plus élevée ». 60% des paramètres vérifiés sur Cobas integra dépasse le niveau de qualité 3 sigma.

Les enzymes présentent un niveau sigma meilleurs aux substrats « glycémie, urée, créatinine et bilirubine totale ».

2.5.2. Graphe OPsecs normalisé

Des cartes OPSecs normalisées « définition théorique page n°27 » peuvent être préparées qui s'appliquent à toute exigence d'erreur totale et à une liste limitée de règles de contrôle et à un nombre limité de mesures de contrôle.

Des calculs manuels sont nécessaires « en cas de la non disponibilité des logiciels » pour présenter l'imprécision et le biais de la méthode en pourcentage du total des erreurs requises. Le point de fonctionnement normalisé est ensuite tracé et son emplacement est utilisé pour déterminer les règles de contrôle et les N (nombre de contrôle) appropriés. Les arbres normalisés sont disponibles dans la littérature soit 90% ou 50% de détection d'erreur pour les règles de contrôle avec N de 2 à 4.

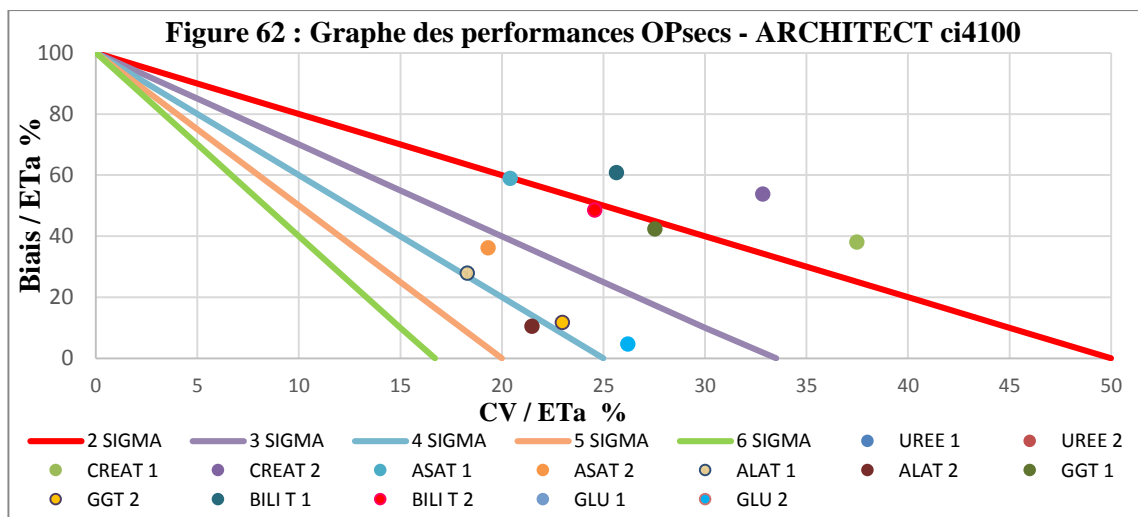
Dans notre travail on a utilisé uniquement les cartes OPsecs normalisés 90% et 50% avec N=2.

Tableau 25 : Calcul des points de fonctionnement des graphes OPsecs

OPsecs							
		ARCHITECT		COBAS		XPAND	
PARAMETRE	NIVEAU	BIAIS/ETA	% CV/ETA	BIAIS/ETA	% CV/ETA	BIAIS/ETA	% CV/ETA
Glucose	Niveau 1	137.60	26.83	28.45	31.14		
	Niveau 2	4.68	26.21	8.33	23.92		
Urée	Niveau 1	174.84	43.52	56.45	39.30		
	Niveau 2	213.64	48.85	36.84	26.09		
Créatinine	Niveau 1	37.99	37.48	34.51	39.79		
	Niveau 2	53.75	32.86	30.56	33.81		
ASAT	Niveau 1	58.93	20.41	3.74	16.40		
	Niveau 2	36.18	19.32	20.35	14.41		
ALAT	Niveau 1	27.82	18.30	8.71	16.65		
	Niveau 2	10.50	21.49	3.01	15.37		
GGT	Niveau 1	42.37	27.53	18.13	24.10		
	Niveau 2	11.75	22.99	0.75	15.47		
BILI T	Niveau 1	60.81	25.64	5.06	31.59	74.29	53.94
	Niveau 2	48.55	24.57	9.28	14.68	4.28	55.56

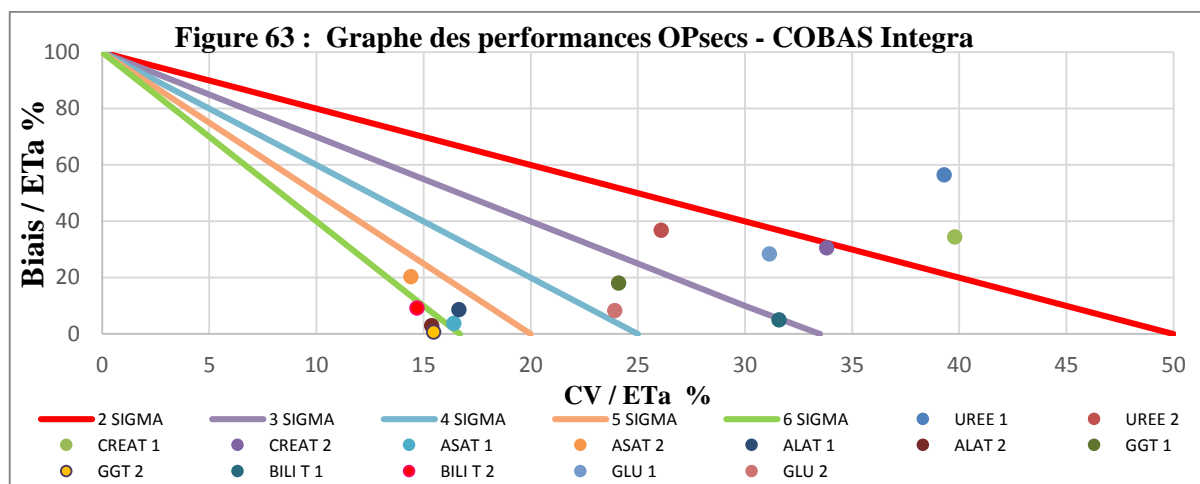
2.5.2.1. Evaluation des performances

➤ Architect ci4100



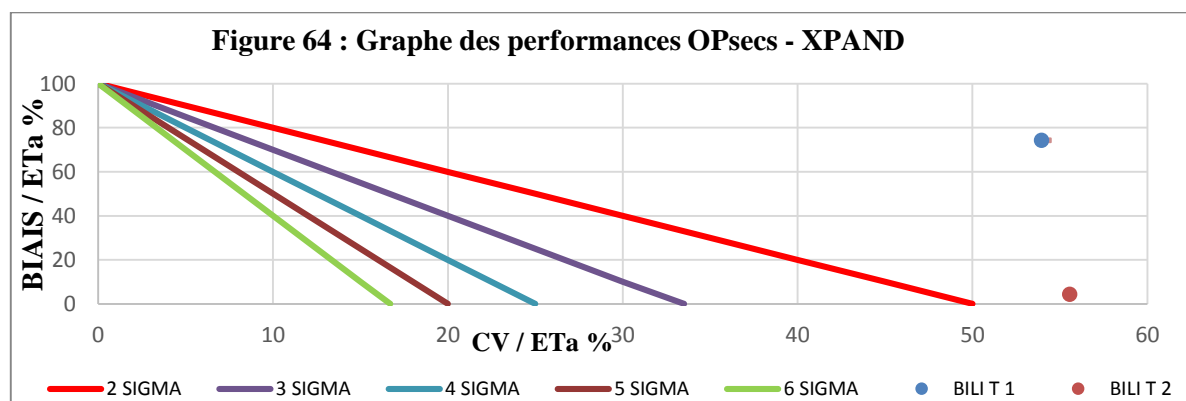
Interprétation : La performance a été évaluée à l'aide de mesures Sigma analytiques, uniquement créatinine et bilirubine totale niveau 1 dépassent les seuils de performances mais ils figurent sur la carte. Le glucose niveau 1 et l'urée ne sont pas représentables sur la carte.

➤ Cobas Integra



Interprétation : 64% des paramètres vérifiés dépassent la qualité trois sigma. Uniquement deux paramètres « Urée 1 et Créatinine 1 » sont inférieures aux limites de performance.

➤ Xpand



Interprétation : La performance de la bilirubine totale n'atteint pas le niveau inférieur de la qualité trois sigma.

2.5.2.2. Etablissement des stratégies d'interprétation des cartes de contrôle

L'objectif est d'atteindre 90% de détection d'erreur avec le N (nombre de contrôle) le plus bas possible et une probabilité de faux rejets proche de zéro.

Remarque : Pour l'interprétation des graphes OPSecs nous se référons aux figures 65 et 66.

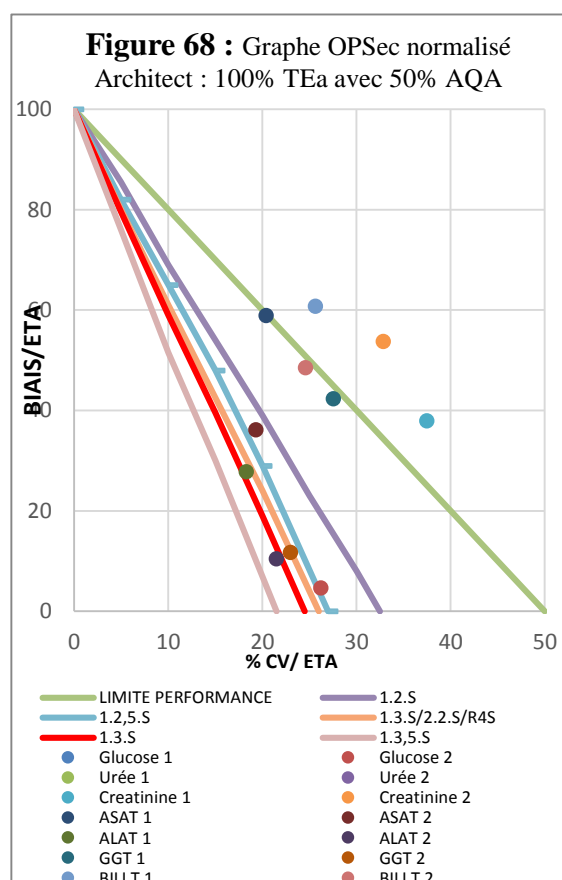
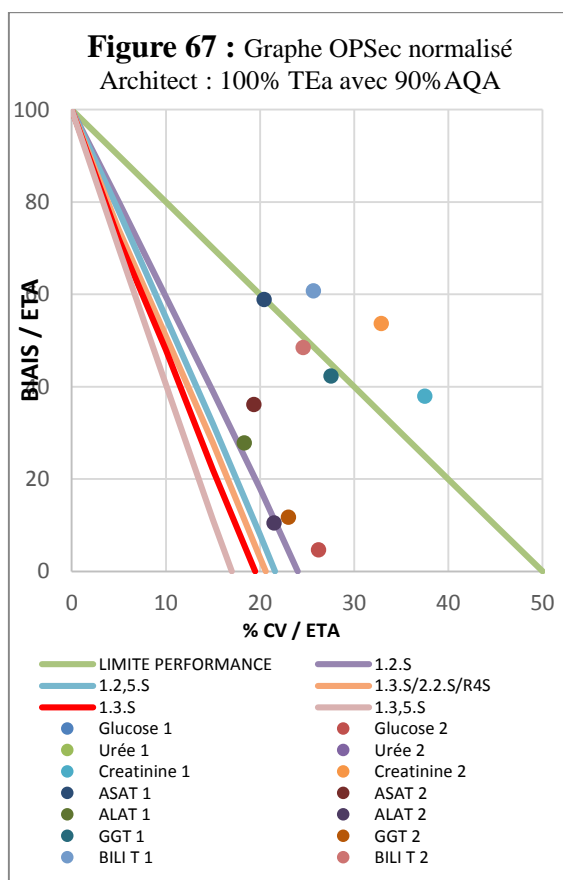
Figure 65 : N=2 avec 90% AQA

	P_{fr}	N	R
1_{2s}			
	0.09	2	1
$1_{2.5s}$			
	0.03	2	1
$1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$			
	0.01	2	1
1_{3s}			
	0.00	2	1
$1_{3.5s}$			
	0.00	2	1

Figure 66 : N=2 avec 50% AQA

	P_{fr}	N	R
1_{2s}			
	0.09	2	1
$1_{2.5s}$			
	0.03	2	1
$1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$			
	0.01	2	1
1_{3s}			
	0.00	2	1
$1_{3.5s}$			
	0.00	2	1

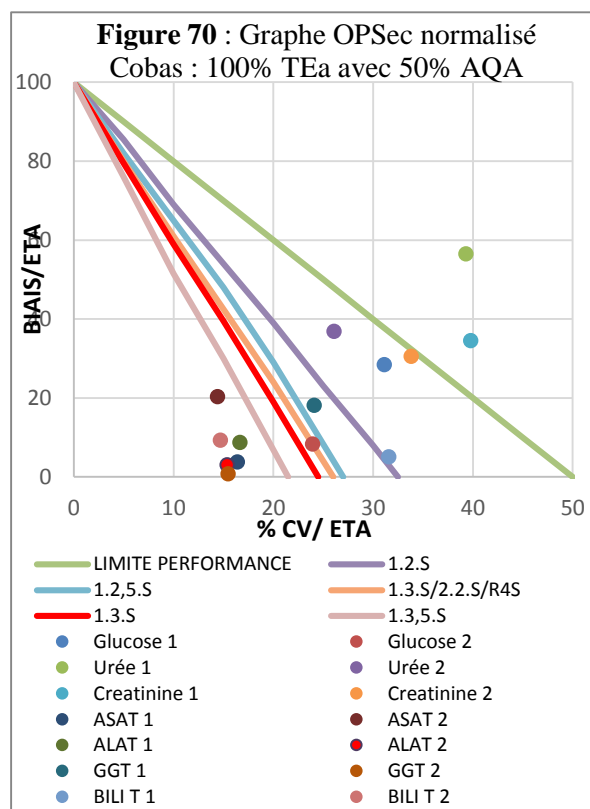
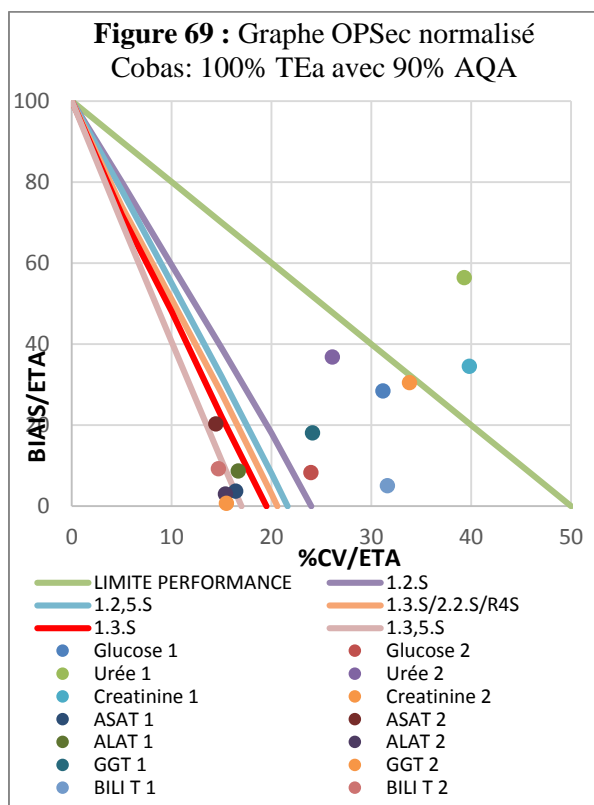
➤ Architect ci4100



Interprétation : Les procédures de CQ dont les limites de fonctionnement (imprécision/ETA et biais/ETA) sont supérieures au point de fonctionnement du paramètre fourniront la détection d'erreur indiquée dans le titre (90% et 50%). Pour l'exemple créatinine niveau 2 « AQA 90% et AQA 50%, N=2), il n'y a pas de lignes au-dessus du point de fonctionnement. On adopte donc la règle 2S.

Pour l'exemple de ALAT niveau 1 on peut appliquer la règle 2s avec l'AQA 90% ou 1,3s/2.2s/R4s avec AQA 50%. Les probabilités du rejet sont successivement 9% et 1% situations « figures 65 et 66 ».

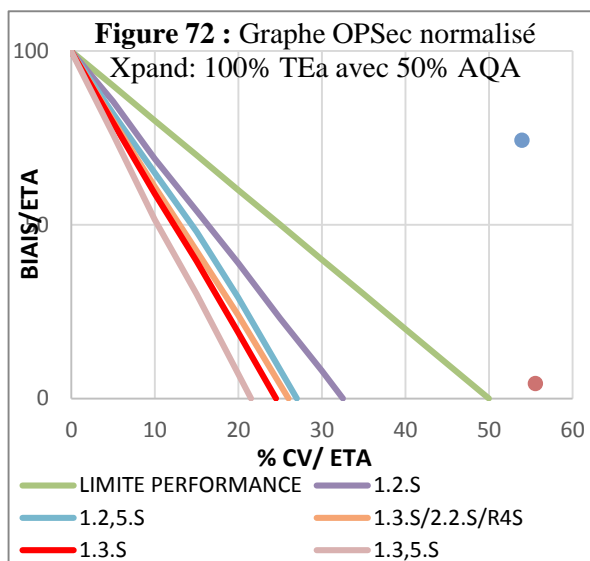
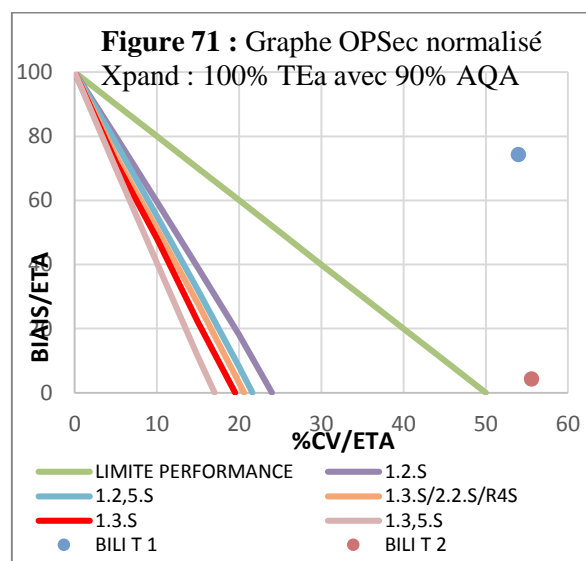
➤ Cobas Integra



Interprétation : Les deux niveaux de détection d'erreur indiquée dans le titre (90% et 50%) fournissent des résultats presque similaires où six tests fournissent une qualité qui dépasse 6 sigma permettant ainsi d'instaurer une stratégie d'interprétation du CIQ de type 3,5s.

Deux uniquement « urée NV1 et créatinine NV 1 » dépassent le niveau minimal de qualité exigeant ainsi le rejet de série.

➤ Xpand



Interprétation : Les deux niveaux de détection d'erreur indiquée dans le titre (90% et 50%) fournissent pour la bilirubine totale sur Xpand un niveau de qualité qui dépasse le niveau minimal de qualité exigeant ainsi le rejet de série à partir de 2s pour les deux niveaux de détection d'erreur indiqué « 90% et 50% »).

Résumé :

➤ Architect ci4100

Tableau 26 : Représentation des règles de contrôles OPSecs de l'Architect ci4100 avec 50% AQA et 90% AQA.

Règle de contrôle ARCHITECT ci4100							90% AQA			50% AQA		
Analyte	NIVEAU	ET	Biais	Cv	SIGMA	N	REGL	P de	P fr	REGLE	P de	P fr
Glycémie	1	10	9,35	2,7	-1,40	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
	2	10	0,47	2,6	3,64	2	1 2S	90 %	0,09	1 2.5S	50 %	0,03
UREE	1	9	15,74	3,9	-1,72	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
	2	9	19,23	4,4	-2,33	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
CREAT	1	15	5,70	5,6	1,65	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
	2	15	8,06	4,9	1,41	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
ASAT	1	20	11,79	4,1	2,01	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
	2	20	7,24	3,9	3,30	2	1 2S	90 %	0,09	1 2.5S	50 %	0,03
ALAT	1	20	5,56	3,7	3,94	2	1 2S	90 %	0,09	1 3S 22s R4s	50 %	0,01
	2	20	2,10	4,3	4,17	2	1 2S	90 %	0,09	1 3S	50 %	0,00
GGT	1	20	8,47	5,5	2,09	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
	2	20	2,35	4,6	3,84	2	1 2S	90 %	0,09	1 3S 22s R4s	50 %	0,01
Bili T	1	20	12,16	5,1	1,53	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09
	2	20	9,71	4,9	2,09	2	1 2S	90 %	0,09	1 2S	50 %	0,09

➤ Cobas Integra

Tableau 27 : Représentation des règles de contrôles OPSecs du Cobas Integra avec 50% AQA et 90% AQA.

Règle de contrôle COBAS Integra	90% AQA	50% AQA
---------------------------------	---------	---------

Analyte	NIVEAU	ETA	Biais	Cva	SIGMA	N	REGLE	P de	P fr	REGLE	P de	P fr
Glycémie	1	10	2,85	3,1	2,30	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
	2	10	0,83	2,4	3,83	2	1 2S	90%	0,09	1 3s 22s R4s	50%	0,01
UREE	1	9	5,08	3,5	1,11	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
	2	9	3,32	2,3	2,42	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
CREAT	1	15	5,18	6	1,65	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
	2	15	4,58	5,1	2,05	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
ASAT	1	20	0,75	3,3	5,87	2	1 3.5S	90%	0,00	1 3.5S	50%	0,00
	2	20	4,07	2,9	5,53	2	1 3S	90%	0,00	1 3.5S	50%	0,00
ALAT	1	20	1,74	3,3	5,48	2	1 3S	90%	0,00	1 3.5S	50%	0,00
	2	20	0,60	3,1	6,31	2	1 3.5S	90%	0,00	1 3.5S	50%	0,00
GGT	1	20	3,63	4,8	3,40	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
	2	20	0,15	3,1	6,42	2	1 3.5S	90%	0,00	1 3.5S	50%	0,00
Bili T	1	20	1,01	6,3	3,01	2	1 2S	90%	0,09	1 2S	50%	0,09
	2	20	1,86	2,9	6,18	2	1 3.5S	90%	0,00	1 3.5S	50%	0,00

➤ **Xpand**

Tableau 28 : Représentation des règles de contrôles OPSecs de l’Xpand avec 50% AQA et 90% AQA.

Règle de contrôle XPAND							90% AQA			50% AQA		
Analyte	NIVEAU	ETA	Biais	Cva	SIGMA	N	REGLE	P de	P fr	REGLE	P de	P fr
Bili T	1	20	2,85	3,1	0,48	2	1.2S	90%	0,09	1.2S	50%	0,09
	2	20	0,83	2,4	1,72	2	1.2S	90%	0,09	1.2S	50%	0,09

Interprétation : on remarque que les recommandations d’interprétation ne doivent pas se généraliser sur tous les tests, elles doivent s’adapter aux performance de chaque test visant de préférence une probabilité de faux rejet de moins de 5%.

2.6. Comparaison des stratégies d’interprétation des cartes de contrôle

Pour choisir la meilleure stratégie de contrôle qualité parmi les trois stratégies élaborés dans notre travail ; une comparaison a été faite et les résultats sont représentés dans le tableau 29.

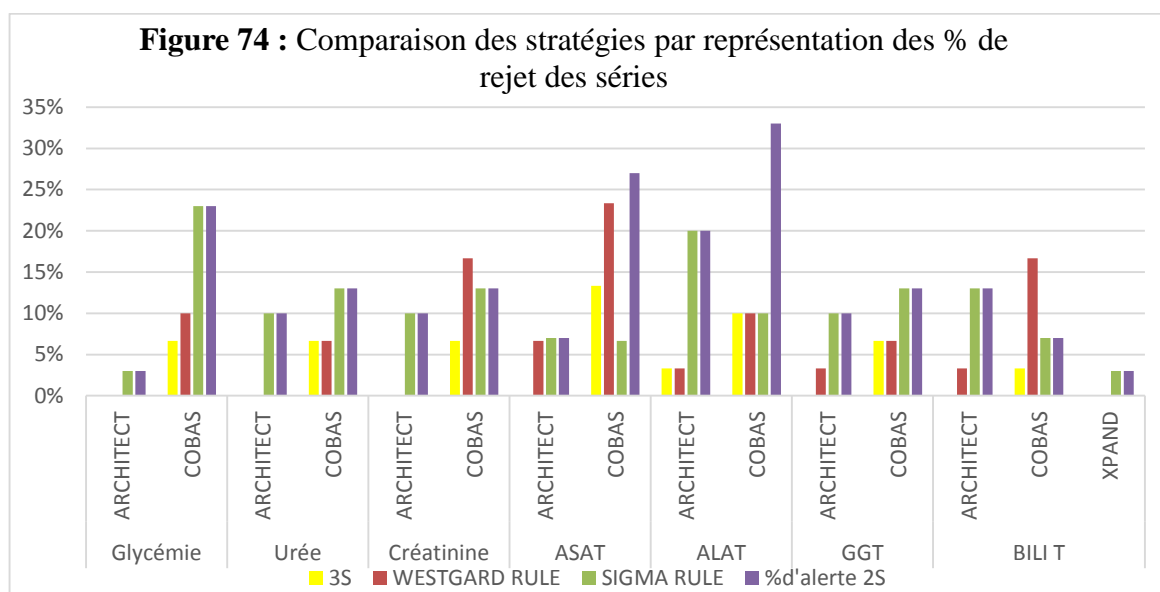
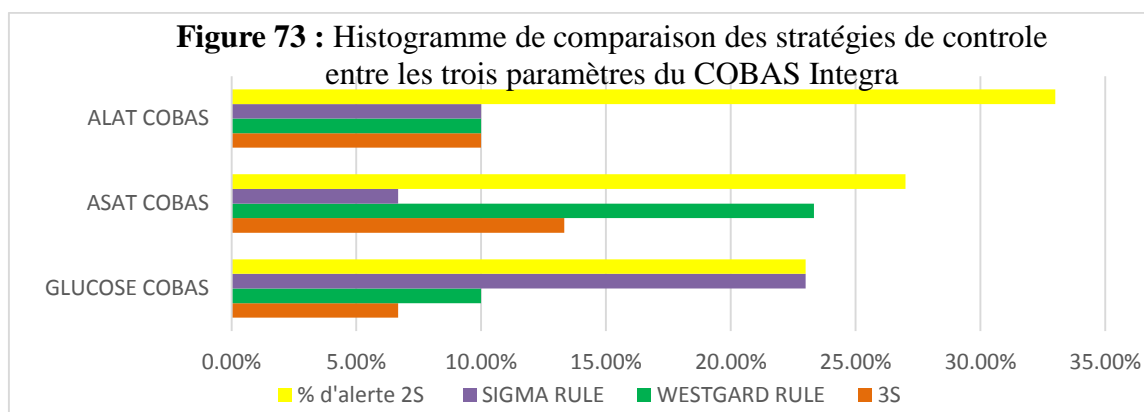
Tableau 29 : Comparaison des stratégies d’interprétation des cartes de contrôles.

Paramètre	Automate	% d'alerte 2s	3s	Règle westgard	Sigma
Glucose	ARCHITECT	3%	0.00%	0.00%	3.00%
	COBAS	23%	6.67%	10.00%	23.00%
Urée	ARCHITECT	10%	0.00%	0.00%	10.00%
	COBAS	13%	6.67%	6.67%	13.00%
Créatinine	ARCHITECT	10%	0.00%	0.00%	10.00%
	COBAS	13%	6.67%	16.67%	13.00%
ASAT	ARCHITECT	7%	0.00%	6.67%	7.00%
	COBAS	27%	13.33%	23.33%	6.67%
ALAT	ARCHITECT	20%	3.33%	3.33%	20.00%
	COBAS	33%	10.00%	10.00%	10.00%

GGT	ARCHITECT	10%	0.00%	3.33%	10.00%
	COBAS	13%	6.67%	6.67%	13.00%
BILI T	ARCHITECT	13%	0.00%	3.33%	13.00%
	COBAS	7%	3.33%	16.67%	7.00%
	XPAND	3%	0.00%	0.00%	3.00%

Tableau 30 : tableau récapitulatif des stratégies adéquates pour chaque paramètre

Automate	Paramètre	Niveau Sigma	Stratégie	Pfr 90% AQA/ 50% AQA
ARCHITECT ci4100	/	> 6	3.5s	0
COBAS Integra	ALAT 2/GGT2/BILI T 2			
ARCHITECT ci4100	/	5—6	3s	0
COBAS Integra	ASAT 1 et 2/ ALAT 1			
ARCHITECT ci4100	ALAT 2	4—5	3s/2.2s/R4s	0.01
COBAS Integra	/			
ARCHITECT ci4100	GLU2/ASAT 2/ALAT 1/GGT 2	3—4	2.5s	0.03
COBAS Integra	GLU2/GGT1/BILI T 1			
ARCHITECT ci4100	GLU 1/UREE1 et 2/ CREAT 1et 2/ASAT1/GGT1/BILIT 1et2	< 3	2s	0.09
COBAS Integra	GLU1/UREE1 et 2/CREAT 1 et 2			
XPAND	BILI T 1 et 2			



Interprétation : Pour une qualité analytique élevée l'utilisation de la stratégie à 2s induit une augmentation des faux rejets et l'utilisation de la règle 3s « intervalle fourni par le fournisseur » induit une diminution des rejets.

2.7. Gestion de la non-conformité

Le système de contrôle qualité du laboratoire mis en place doit classer le type de la non-conformité et définir la conduite à tenir.

2.7.1. Analyse des causes de la non-conformité

Le but est de typer l'erreur :

- Systématique constante ou proportionnelle.
- Aléatoire ou grossière.

Pour le faire on se sert de la valeur de l'écart type. Si ces valeurs sont du même signe, il s'agit d'une erreur systématique. Sinon, il s'agit d'une erreur aléatoire.

Le caractère proportionnel ou constant est évalué par le biais relatif.

Tableau 31 : Exemple de typage d'erreur du paramètre ASAT sur COBAS Integra.

Paramètre	ET N1	ET N2
ASAT	+4.54	+3.33

Interprétation : Pour la série du 14eme jour ; la série est rejetée. Les deux valeurs sont supérieures à trois écarts type et se situe du même côté de la moyenne ce qui suppose que l'erreur est systématique.

2.7.2. Diagramme de YOUNDEN et identification des types d'erreurs

Il s'agit de la représentation en deux dimensions des valeurs trouvées par les laboratoires sur deux spécimens de contrôle. Celle-ci permet de visualiser et d'apprécier les composantes systématique et aléatoire de l'erreur totale. Il s'agit de construire un graphique avec :

- En abscisses, les valeurs trouvées pour le contrôle à taux bas ;
- En ordonnées les valeurs trouvées pour le contrôle à taux élevé ;
- On définit alors un carré (ou plutôt un rectangle) d'acceptabilité avec les limites acceptables des 2 contrôles ;
- La diagonale du graphe représente la ligne de distribution normale et le centre du rectangle la valeur cible des 2 contrôles.

Nous avons illustré quelques exemples représentés dans les figures suivantes.

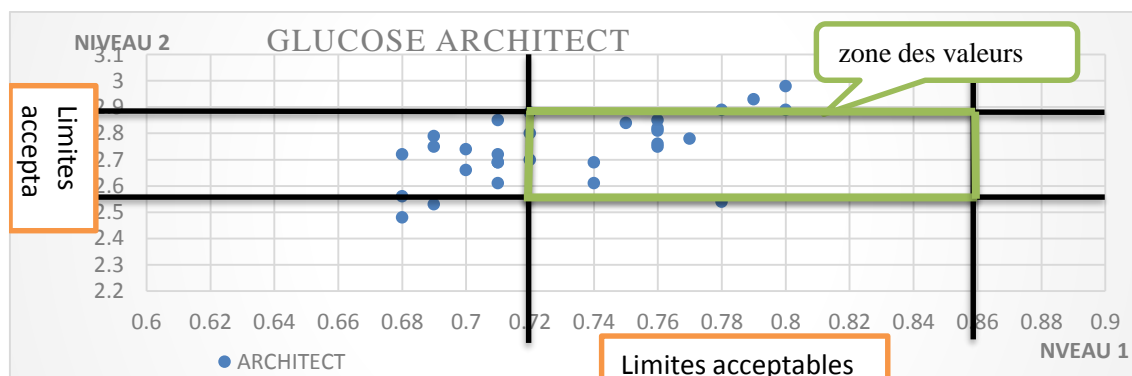


Figure 75 : Diagramme de Youden du paramètre glucose entre Architect ci4100.

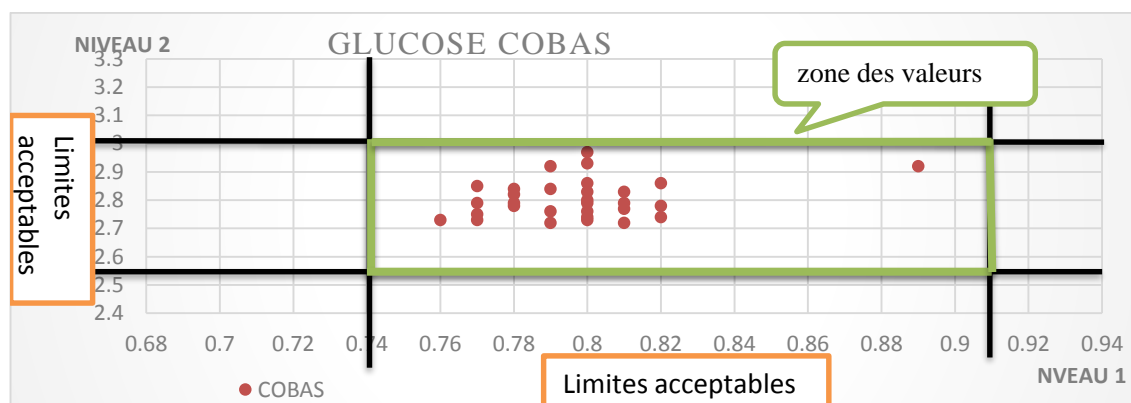


Figure 76 : Diagramme de Youden du paramètre glucose Cobas Integra.

Interprétation :

On remarque une erreur systématique pour le NV 1 du glucose Architect ci4100.

Sur Cobas Integra toutes les valeurs du glucose sont dans la zone des valeurs acceptables.

2.8. Interprétation à moyen terme

Les données mensuelles obtenues peuvent être utilisées pour estimer les différentes performances et les comparer aux limites d'acceptabilité afin de prévenir toute dégradation du processus analytique.

Dans notre travail, ces performances ont été évaluées pour vérification et validation méthode.

Nous avons effectué une revérification de la qualité sur le COBAS Integra, cette évaluation est faite par comparaison des résultats des contrôles PNU et PPU obtenues pendant le mois de Janvier à ceux du mois d'Avril.

Les résultats sont représentés dans le tableau 31.

Tableau 32 : Comparaison de la qualité sur Cobas Integra entre le mois de Janvier et Avril.

Paramètre	Niveau	CV 1	CV 2	BIAIS 1	BIAIS 2	SIGMA 1	SIGMA 2
GLUCOSE	PNU	2.8	4.36	3.26	0.72	2.40	2.13
	PPU	2.4	2.44	0.80	3.32	4.65	2.73
UREE	PNU	4.89	3.99	6.20	7.25	0.57	0.44
	PPU	3.46	3.48	1.94	1.21	2.04	2.24
CREAT	PNU	8.63	4.3	2.38	1.19	1.46	3.23
	PPU	6.64	4.95	3.23	0.52	1.77	2.93
ASAT	PNU	4.61	4.38	1.76	5.12	3.96	3.40
	PPU	2.14	3.48	1.37	5.52	8.70	4.16
ALAT	PNU	2.58	4.3	0.00	5.42	7.75	3.41
	PPU	1.68	2.32	0.83	5.68	11.40	6.18
GGT	PNU	7.73	4.94	0.54	8.32	2.52	2.36
	PPU	3.58	3.9	0.89	6.32	5.33	3.48
BILI T	PNU	6.97	6.32	1.57	3.56	2.64	2.60
	PPU	4.2	3.56	3.79	4.11	3.85	4.46

Interprétation : on remarque que les performances des enzymes se sont dégradées avec le temps.

2.9. Calcul de l'erreur totale

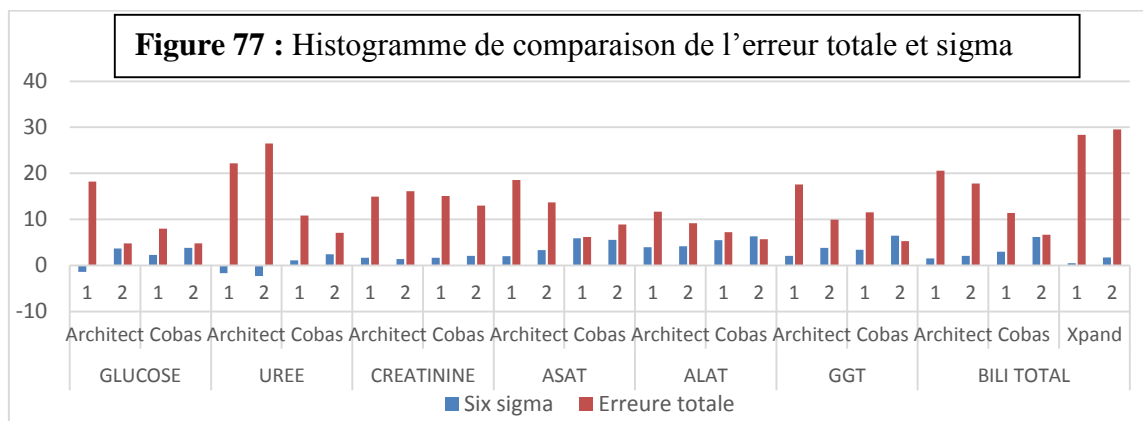
L'erreur totale est calculée selon la formule suivante : $ET = 1.65 \cdot CV + \text{BIAIS}$

Tableau 33 : Calcul de l'erreur totale des différents paramètres des trois automates.

PARAMETRE	AUTOMATE	NIVEAU	ET	ETA référence	conclusion
GLUCOSE	Architect	Niveau 1	18.215	10	NON VALIDE
		Niveau 2	4.757	10	VALIDE
	Cobas	Niveau 1	7.96	10	VALIDE
		Niveau 2	4.793	10	VALIDE
UREE	Architect	Niveau 1	22.17	9	NON VALIDE
		Niveau 2	26.487	9	NON VALIDE
	Cobas	Niveau 1	10.855	9	NON VALIDE
		Niveau 2	7.11	9	VALIDE
CREATININE	Architect	Niveau 1	14.938	15	VALIDE
		Niveau 2	16.146	15	NON VALIDE
	Cobas	Niveau 1	15.076	15	NON VALIDE
		Niveau 2	12.998	15	VALIDE
ASAT	Architect	Niveau 1	18.551	20	VALIDE
		Niveau 2	13.67	20	VALIDE
	Cobas	Niveau 1	6.192	20	VALIDE
		Niveau 2	8.854	20	VALIDE
ALAT	Architect	Niveau 1	11.669	20	VALIDE
		Niveau 2	9.195	20	VALIDE
	Cobas	Niveau 1	7.187	20	VALIDE
		Niveau 2	5.717	20	VALIDE
GGT	Architect	Niveau 1	17.548	20	VALIDE
		Niveau 2	9.94	20	VALIDE
	Cobas	Niveau 1	11.546	20	VALIDE
		Niveau 2	5.265	20	VALIDE
BILI T	Architect	Niveau 1	20.577	20	NON VALIDE
		Niveau 2	17.795	20	VALIDE
	Cobas	Niveau 1	11.407	20	VALIDE
		Niveau 2	6.641	20	VALIDE
	Xpand	Niveau 1	28.387	20	NON VALIDE
		Niveau 2	29.5315	20	NON VALIDE

VALIDE : si l'erreur totale calculée est $<$ à l'erreur totale admissible fourni par CLIA.

Interprétation : On remarque l'erreur totale calculée est inférieure à l'erreur totale admissible pour la plupart des paramètres et que l'erreur calculée supérieure à la référence est élevée pour le niveau 1 uniquement « concentrations basses » sauf pour la bilirubine de l'Xpand où les deux niveaux sont élevés.



Interprétation : les erreurs totales les plus élevées sont enregistrées pour les paramètres présentant des valeurs sigma basses ce qui rend important de connaître le niveau de qualité afin de prévenir l'incidence élevée des erreurs.

2.10. Calcul de l'incertitude de mesure

L'incertitude est un indicateur de la qualité d'un résultat et de la fiabilité qu'on peut lui accorder, elle est associée à tout résultat de mesure. La connaissance de l'incertitude constitue une aide pour le clinicien dans sa prise de décision diagnostique ou thérapeutique, ou apporte au biologiste médical un élément important pour l'interprétation du résultat, par exemple lorsque ce dernier est comparé à un résultat antérieur ou à un seuil de décision reconnu.

Les méthodologies d'évaluation de l'incertitude de mesure utilisées sont celles reconnues comme étant appropriées par le Cofrac pour répondre aux exigences des normes EN ISO 15189 et EN ISO 22870. Le laboratoire est libre d'appliquer d'autres méthodologies d'évaluation de l'incertitude de mesure s'il démontre que les dispositions prises permettent de satisfaire cette exigence des normes.

L'utilisation des données de CIQ pour l'évaluation de l'incertitude de mesure Selon la norme ISO 15189 est nécessaire car chaque laboratoire est tenu de déterminer l'incertitude de ces résultats.

La variabilité estimée par la fidélité intermédiaire est une composante principale des variations analytiques.

Les recommandations de la norme ISO 15189 recommande la mesure de l'incertitude et dénonce celle de l'erreur totale.

L'incertitude de mesure est calculée selon la formule : $\text{Inc} = \sqrt{(\text{biais}/\sqrt{3})^2 + \text{CV}^2}$

Les incertitudes de mesure de chaque paramètre de chaque automate sont représentées dans le tableau 33.

Tableau 34 : Incertitude de mesure des différents paramètres de chaque automate.

INCERTITUDE DE MESURE								
Paramètre	Automate	Niveau	INC type %	INCERT type	INCERT élargie	Inc elarg %	INC OP elarg	conclusion
GLUCOSE	ARCHITE CT	1	8.39	0.07	0.141	16.78	6.98	NON VALID E
		2	2.64	0.07	0.147	5.28	5.34	VALID E
	COBAS	1	3.52	0.03	0.06	7.04	6.98	NON VALID E
		2	2.44	0.07	0.14	4.88	5.34	VALID E
UREE	ARCHITE CT	1	9.89	0.03	0.067	19.78	11.3	NON VALID E
		2	11.94	0.13	0.263	23.88	7.04	NON VALID E
	COBAS	1	4.6	0.01	0.03	9.2	11.3	VALID E
		2	3.03	0.03	0.06	6.06	7.04	VALID E
CREATININE	ARCHITE CT	1	6.51	1.77	3.544	13.02	12.74	NON VALID E
		2	6.78	4.16	8.325	13.56	10	NON VALID E
	COBAS	1	6.68	1.32	2.64	13.36	12.74	NON VALID E
		2	5.72	2.75	5.49	11.44	10	NON VALID E
ASAT	ARCHITE CT	1	7.94	3.2	6.396	15.88	14.28	NON VALID E
		2	5.69	10.76	21.512	11.38	12.3	VALID E
	COBAS	1	3.31	1.22	2.43	6.62	14.28	VALID E

		2	3.72	6.69	13.39	7.44	12.3	VALID E
ALAT	ARCHITE CT	1	4.87	1.51	3.02	9.74	14.28	VALID E
		2	4.46	4.36	8.716	8.92	12.3	VALID E
	COBAS	1	3.48	1	2	6.96	14.28	VALID E
		2	3.09	2.82	5.65	6.18	12.3	VALID E
GGT	ARCHITE CT	1	7.37	4.39	8.78	14.74	14.28	NON VALID E
		2	4.79	7.19	14.381	9.58	12.3	VALID E
	COBAS	1	5.25	3.08	6.16	10.5	14.28	VALID E
		2	3.09	4.64	9.28	6.18	12.3	VALID E
BILI T	ARCHITE CT	1	8.7	0.97	1.93	17.4	16.6	NON VALID E
		2	7.46	2.99	5.973	14.92	15.42	VALID E
	COBAS	1	6.34	0.6	1.19	12.68	16.6	VALID E
		2	3.13	1.18	2.36	6.26	15.42	VALID E
	XPAND	1	13.78	1.46	2.92	27.56	26.92	NON VALID E
		2	11.12	4.55	9.1	22.24	27.2	VALID E

Interprétation : Mise à part le glucose N1, la créatinine N2 et l'urée de l'Architect ci4100 l'incertitude de mesure de l'ensemble des paramètres est satisfaisante aux normes SFBC.

2.11. Approche des moyennes normales

Cette application illustre une combinaison avancée de techniques de contrôle de la qualité : en utilisant à la fois les métriques Sigma pour estimer le niveau de la qualité puis les données sur les patients qui se situent dans la plage des valeurs de références, pour calculer une moyenne utilisée pour surveiller la stabilité du processus.

Tableau 35: Calcul des moyennes normales pour le paramètre glucose.

Ordre	GLUCOSE	
	1 ^{er} jour	2 ^{eme} jour
1	0.88	0.97
2	0.87	0.77
3	1.01	1.09
4	0.82	0.79
5	1.05	0.76
6	1.08	0.95
7	1.04	0.83

8	0.9	0.99
9	1.02	0.89
10	0.92	0.96
11	0.99	0.9
12	0.99	0.97
13	0.86	0.95
14	1.03	0.91
15	0.96	1.02
16	0.87	1
17	0.82	0.97
18	0.92	0.96
19	0.98	1.06
20	1.06	0.89
21	0.91	0.76
22	0.99	1.01
23	0.88	0.87
24	0.8	1.05
25	1.01	1.06
26	0.78	1.04
27	0.8	0.82
28	0.91	0.83
29	0.83	1.06
30	1.1	0.81
Moyenne	0.94	0.93
écart type	0.09	0.10
CV	9.89	10.75

Interprétation : Les CV des valeurs normales des deux jours sont inférieurs aux CV des valeurs de références « 11.11% ». On peut dire que le processus analytique est stable.

2.12. Résumé des intervalles de référence du laboratoire de biochimie du CHU Tizi Ouzou

Tableau 36 : Intervalles de références à 2s et à 3s.

Intervalle de référence					2s		3s	
Paramètre	Automate	Niveau	Cible	S	limite inf	limite sup	limite inf	limite sup
GLUCOSE	ARCHITECT	1.00	0.74	0.04	0.66	0.82	0.61	0.87
		2.00	2.75	0.13	2.49	3.01	2.36	3.14
	COBAS	1.00	0.80	0.02	0.77	0.84	0.75	0.86
		2.00	2.81	0.05	2.72	2.91	2.68	2.95
UREE	ARCHITECT	1.00	0.29	0.02	0.25	0.33	0.23	0.35
		2.00	0.89	0.06	0.77	1.01	0.71	1.07
	COBAS	1.00	0.33	0.01	0.31	0.34	0.30	0.35
		2.00	0.98	0.02	0.95	1.02	0.93	1.04

CREATININE	ARCHITECT	1.00	25.73	1.49	22.75	28.71	21.26	30.20
		2.00	56.45	2.51	51.43	61.47	48.92	63.98
	COBAS	1.00	18.87	1.04	16.80	20.94	15.76	21.97
		2.00	45.78	2.21	41.36	50.19	39.16	52.39
ASAT	ARCHITECT	1.00	44.92	1.59	41.74	48.10	40.15	49.69
		2.00	200.78	8.70	183.38	218.18	174.68	226.88
	COBAS	1.00	36.72	1.16	34.39	39.04	33.23	40.21
		2.00	187.56	3.14	181.29	193.83	178.15	196.97
ALAT	ARCHITECT	1.00	32.62	1.08	30.46	34.78	29.38	35.86
		2.00	99.51	3.65	92.21	106.81	88.56	110.46
	COBAS	1.00	28.27	0.87	26.52	30.02	25.64	30.89
		2.00	90.78	1.76	87.26	94.30	85.50	96.07
GGT	ARCHITECT	1.00	54.46	2.93	48.60	60.32	45.67	63.25
		2.00	146.92	7.52	131.88	161.96	124.36	169.48
	COBAS	1.00	60.87	2.49	55.89	65.85	53.40	68.34
		2.00	149.73	3.51	142.71	156.74	139.20	160.25
BILI T	ARCHITECT	1.00	12.46	0.53	11.40	13.52	10.87	14.05
		2.00	43.84	1.83	40.18	47.50	38.35	49.33
	COBAS	1.00	9.54	0.38	8.79	10.30	8.41	10.68
		2.00	38.63	1.26	36.10	41.15	34.83	42.42
	XPAND	1.00	9.03	1.08	6.87	11.19	5.79	12.27
		2.00	41.19	4.86	31.47	50.92	26.60	55.78

3. Discussion

Une méthode d'analyse en biologie médicale doit permettre l'obtention d'un résultat le plus proche de la valeur vraie (au sens métrologie du terme).

Différents outils statistiques permettent d'évaluer les erreurs et fournissent les informations nécessaires à la maîtrise de la qualité analytique.

Le CIQ est un élément indispensable du management de la qualité dans un laboratoire de biologie médicale. Il fournit aux techniciens et aux biologistes des données permettant de vérifier la maîtrise du processus analytique (méthodes sous contrôle) et un rendu de résultats fiables indispensables à de bonnes prise en charge diagnostiques, de suivi et de pronostiques des malades.

De nombreux laboratoires et fabricants affirment qu'ils « contrôlent » la qualité ; mais ne peuvent pas expliquer le niveau de qualité qu'ils atteignent.

On doit s'interroger sur la qualité qui est contrôlée et comment instaurer un système de gestion de qualité si on ne connaît pas le niveau de qualité qu'on veut atteindre.

Dans notre mémoire on s'est intéressé au contrôle interne de qualité sur tous ces points à savoir :

- La méthode déjà suivi dans la réalisation du contrôle qualité au niveau du laboratoire ;
- L'évaluation de la qualité de certains paramètres via la détermination du niveau des performances des techniques selon la norme ISO 15189 ;
- L'audit de contrôle interne de qualité par plusieurs approches ;
- L'apport de l'approche sigma métrique dans l'élaboration de meilleurs systèmes de contrôle interne de qualité ;
- Et comment entreprendre la gestion de la non-conformité.

3.1.Vue d'ensemble sur le système de contrôle qualité actuel : où est ce qu'on est ?

- Le laboratoire de biochimie du CHU Tizi Ouzou essaye dans la mesure du possible d'améliorer la qualité des résultats ; et ce via l'assurance continue de la disponibilité des sérums de contrôle et l'acquisition de nouvelles technologies.

Cependant une nouvelle technologie n'est pas synonyme de la qualité. Selon le document COFRAC SH GTA 4 chaque laboratoire doit vérifier /valider sa technique avant sa mise en marche (2).

- Au niveau du laboratoire, on se contente de l'interprétation immédiate « à court terme » pour valider la cohérence de la technique.

Les limites d'interprétation utilisées sont celles fournies avec les fiches techniques des sérums de contrôles « correspondant à 3s ».

Les sérums de contrôles « 2 niveaux ou 3 niveaux : selon l'étendue du domaine de mesure » sont lancés chaque matin après la maintenance, en cas de calibration ou de problèmes de cohérences des résultats des patients.

- Ces pratiques ne sont pas suffisantes et ne répondent pas entièrement à la norme ISO 15189 « adoptées dans notre pays pour l'accréditation des LBM » qui exigent :

- Une vérification/validation des techniques selon des protocoles bien définis comme un prérequis à l'utilisation des techniques.
- Une élaboration d'un intervalle interne des valeurs de contrôle et l'interprétation en général à 2s ou selon les règles de Westgard.

En effet cette mauvaise pratique est suivie dans d'autres laboratoires à l'échelle nationale « si ce n'est pas la totalité ; aucun travail auditoire n'est publié ».

À l'échelle internationale, selon une enquête réalisée par l'équipe Westgard en 2017 sur 682 laboratoires de différents pays du monde, 55% utilisent la méthode 2s pour l'interprétation des résultats (3).

Une autre enquête sur 701 laboratoires a rapporté qu'environ $\frac{3}{4}$ répondent à l'utilisation de toutes les règles de Westgard (3).

Quant au nombre de contrôle à lancer chaque jour, les mêmes études rapportent des résultats différents où la plupart se contente d'un contrôle au début de la journée comme c'est pratiqué au niveau du laboratoire de biochimie où on a effectué notre étude.

On peut dire selon cet aperçu rapide qu'il n'y a pas une harmonisation des pratiques de contrôle interne de qualité surtout que les lois d'accréditation diffèrent d'une norme à une autre. Un constat qui nous pousse à dire qu'il faut des efforts massifs pour améliorer les pratiques en matière de contrôle qualité.

Devant cette divergence de normes la problématique reste de savoir son impact sur la qualité des résultats.

3.2. Vérification / validation des techniques

- Dans le cadre de la norme ISO 15189 et 22870, il est demandé au LBM de procéder à une vérification lors de la mise en application, appelée vérification de performances sur site. C'est un prérequis indispensable dans le cadre de l'accréditation des laboratoires. Elle comporte plusieurs critères dont les plus pertinents ont été détaillés dans les parties théorique et pratique du présent travail (30).

Nous avons effectué une « vérification/validation de portée A et B » où les méthodes reconnues (DMDIV marqués CE ou méthodes « fournisseurs »), sont à priori validées dans leur domaine d'application.

Les critères de vérification /validation déterminés dans notre travail sont résumés dans le tableau 07.

- Les systèmes de CIQ des analyses quantitatives proposés utilisent des statistiques gaussiennes, ils supposent une distribution normale des résultats et établissent des valeurs cibles et des limites acceptables.

Pour les paramètres sur lesquels on a travaillé « Glucose, Urée, Créatinine, ASAT, ALAT, GGT et BILI T » uniquement la créatinine et le niveau 2 d'ALAT sur Cobas Integra ne suivent pas une distribution gaussienne. Cela peut être expliqué par la meilleure répétabilité de l'automate qui fournit des résultats identiques dans les intra-séries de contrôle.

Dans une situation pareille on utilise comme alternative l'histogramme des distributions pour repérer les valeurs d'allure normale.

- La méthode de détermination des intervalles de confiances sont influencés par la présence des valeurs aberrantes « erreurs aléatoires ». Elle déplace la valeur moyenne « valeur cible » et élargie ou rétrécie l'intervalle selon sa valeur.

Dans notre travail l'application du test de Dixon a révélé des aberrances dans certains paramètres « J18 pour l'urée de l'Architect ci4100, J14 pour le glucose Cobas integra et J2 de pour la Bili T Xpand ».

A l'examen des fiches de travail (voir annexe IV) nous avons constaté que ce sont des séries lancées un jour avant l'intervention technique de service de maintenance ou changement de réactifs. Cela pousse à dire que malgré qu'on a jugé que la valeur est dans l'intervalle des valeurs du contrôle il se pourrait qu'il s'est produit des erreurs systématiques type tendance.

- Les résultats des pratiques de vérification /validation déterminés dans notre travail sont comparés aux normes, elle doit ainsi répondre d'une part aux critères que nous nous étions fixés à savoir les spécifications du protocole Valtec (SFBC), et/ou à d'autres performances annoncées par le fournisseur dans ses documents techniques et à celles de Ricos « lorsqu'elles étaient disponibles ».

En effet la qualité des analyses de biologie médicale dépend de différents facteurs parmi lesquels le choix de la technique et sa validation jouent un rôle très important.

Ces exigences sont réglementaires, mais le référentiel permettant de définir les qualités souhaitables d'une technique d'analyse n'existe pas. Il appartient donc au biologiste de bien sélectionner ses outils et de justifier objectivement ses décisions comme le rappelle le Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (35).

Ainsi plusieurs modèles de qualité sont recommandés, ils incluent l'ETA « issu des tests de références ou à partir des protocoles de CEQ », un CV maximal et un biais maximal toléré. Ces limites sont définies à partir des variantes biologiques, médicales et cliniques « limites de décision clinique » basées sur les guidelines d'interprétation (50).

En 1999, un consensus a recommandé une hiérarchie dans les exigences de qualité à respecter. Celles-ci incluent plusieurs formats donnant une préférence aux limites de décisions cliniques > aux variations biologiques > recommandations des groupes externes > à l'état de l'art « variations analytiques » (35).

3.2.1. Répétabilité

Les résultats de la répétabilité comparés respectivement aux limites acceptables du fournisseur et à celles de la SFBC sont représentés dans le tableau 18 où la colonne intitulée valide/Non valide répertorie les décisions prises pour chaque analyte en fonction du CV limite SFBC optimal, SFBC désirable et/ou fournisseur.

Les coefficients de variation obtenus pour l'étude de répétabilité sont satisfaisants dans l'ensemble et répondent globalement aux exigences émises par le fournisseur et aussi aux critères du protocole Valtec (SFBC).

Les CV du Cobas Intégra sont excellents ce qui explique la distribution non gaussienne des paramètres Créatinine « CV de 2.2% pour le niveau 1 et 1.1% pour le niveau 2 » et le niveau 2

pour ALAT « CV = 0.7% est le plus petit CV enregistré après celui du Glucose Cobas Intégra niveau 2 avec un CV=0.6% ».

D'une manière générale les CV de répétabilité sont meilleurs pour les niveaux élevés de concentration où les interférences affectent moins la fidélité des résultats.

Les CV de répétabilité des techniques de la portée B sont très proches de ceux des techniques de la portée A ce qui confirme que leur fidélité est comparable.

Le paramètre qui présente le CV le plus important dans les trois appareils est la bilirubine totale, cela pourrait être expliqué par la sensibilité du paramètre aux conditions pré analytiques.

- **Argumentaire de la conclusion** : La répétabilité est conforme pour tous les paramètres étudiés selon les trois automates.

Pour le glucose Architect ci4100, les résultats objectivés par la présente étude sont comparables, inférieur aux CV limites, à ceux obtenus par l'étude réalisé par Pr H. PORTUGAL & Dr.C DUCROS : Vérification sur site d'un automate de biochimie : Architect ci4100 dans le cadre de l'accréditation selon la norme EN ISO 15189» qui ont trouvé des CV 1,04 % et 0,85% pour le niveau 1 et 2 du CIQ respectivement..

3.2.2. Fidélité intermédiaire

Les résultats de la fidélité intermédiaire comparés respectivement aux limites acceptables du fournisseur et à celles de la SFBC sont représentés dans le tableau 19 où la colonne intitulée valide/Non valide répertorie les décisions prises pour chaque analyte en fonction du CV limite SFBC optimal, SFBC désirable et/ou fournisseur.

Les coefficients de variation obtenus pour l'étude de la fidélité intermédiaire sont satisfaisants dans l'ensemble et répondent globalement aux exigences émises par le fournisseur et aussi aux critères du protocole Valtec (SFBC), excepté pour les niveaux 2 de la créatinine sur Cobas Intégra et de la bilirubine totale sur Xpand, dont les valeurs obtenues sont respectivement (5.1%, 11.1%).

D'une manière générale les CV de la fidélité intermédiaires sont supérieurs aux CV de la répétabilité car ils interprètent la variabilité analytique d'une méthode dans des conditions opératoires différentes. En les comparant on remarque que les CV de la fidélité intermédiaire

de l'Architect ci4100 sont plus proches des CV de répétabilité au contraire du Cobas Intégra suggérant des facteurs responsables.

En examinant la fiche de travail on remarque que les CV de la fidélité intermédiaire sont plus importants pour les paramètres qui sont fréquemment calibré surtout les paramètres Architect ci4100 « Urée, Créatinine : facteur de variation ». Cela affectera l'étendu de l'incertitude des mesures.

Le choix des paramètres stables qui ne requièrent pas des calibrations fréquentes est parmi les moyens d'amélioration de la fidélité intermédiaire. Les nouvelles technologies sur chimie sèche proposent des technologies avec des calibrations très espacées dans le temps.

Pour la même raison que les CV de répétabilité, les CV de la fidélité intermédiaire sont meilleurs pour les niveaux élevés de concentration.

Les CV des techniques de la portée B sont très proches de ceux des techniques de la portée A ce qui confirme que leur fidélité est comparable.

Le paramètre qui présente le CV le plus important dans les trois appareils est toujours la bilirubine totale, il dépasse sur Xpand les limites requises.

- **Argumentaire de la conclusion :** La fidélité intermédiaire est conforme pour tous les paramètres étudiés selon les trois automates excepté deux mais qui ne restent pas loin des limites désirables SFBC et sans conséquences clinique « limites de décision » et ils sont conformes aux limites minimales SFBC et / ou Ricos :
 - CREAT N2 Cobas Integra : CV limite SFBC et CV Ricos = 6%, notre CV= 5.1% : valide pour les deux.
 - BILI T N2 Xpand : CV limite SFBC=6.8%, CV Ricos= 21.8%, notre CV = 11.11% : vrai uniquement pour Ricos.

Pour le glucose Architect ci4100, ces résultats semblent concordants, inférieurs aux CV limites, avec ceux d'autres travaux « Etude réalisé par Pr H. PORTUGAL & Dr.C DUCROS : vérification sur site d'un automate de biochimie : Architect ci4100 dans le cadre de l'accréditation selon la norme EN ISO 15189 » qui ont trouvé des CV 1,16 % et 1,53% pour le niveau 1 et 2 du CIQ respectivement.

Les CV obtenus selon les spécifications de RICOS sont satisfaisants. Le modèle du CV RICOS est certes un modèle prioritaire selon la conférence de Stockholm car plus ambitieux, néanmoins il apparaît pour un certain nombre d'analytes notamment ceux dont l'intervalle de référence est étroit et la variation biologique est faible que le modèle de l'état de l'art constitue une alternative intéressante pour valider une technique.

3.2.3. Justesse

Les stratégies thérapeutiques, diagnostiques et de suivi comptent sur une mesure reproductible et non-biaisée des valeurs des paramètres dosés.

Lors d'une évaluation de la méthode, les mesures peuvent être proches les unes des autres (bonne fidélité) mais en dehors de la zone de probabilité de la valeur vraie, elles sont donc biaisées (mauvaise justesse) ou inversement. Or, une méthode est dite exacte si elle est à la fois fidèle et juste.

Au vu des biais obtenus et ainsi comparés aux spécifications de la SFBC dont ils répondent, les méthodes ont été jugées fidèles et justes, donc elles sont exactes pour tous les paramètres étudiés, exceptés pour deux paramètres dosés sur Architect ci4100 : le niveau 1 glucose et les deux niveaux d'urée dont les biais sont respectivement de 13.76%, 15.735% et 19.3%, dépassant ainsi l'ETA « 10% ».

Ces résultats, pris tels qu'ils sont, invalident les techniques correspondantes, cependant l'analyse de la justesse par le moyen d'un autre sérum de contrôle en dehors du Lyphotchek « PNU et PPU » confirment que ces biais sont exagérés de fait qu'ils sont revenus 7.27% pour le glucose niveau 1, 4.91% et 9.49% pour les deux niveaux de l'urée.

3.2.4. Comparaison de méthodes

L'objectif de ce module est d'estimer la comparabilité des résultats obtenus par ces méthodes et de définir s'il existe un biais entre elles. En cas de discordance entre les deux méthodes, il conviendra d'en évaluer les causes et d'informer les prescripteurs et les patients.

- **Graphique des différences : graphique Bland-Altman**

Un graphique de Bland-Altman permet de comparer les moyennes des mesures à leurs différences. La moyenne des différences « md » indique si un des instruments tend à produire des valeurs systématiquement plus basses ou plus élevées que l'autre.

Cette étude a été effectuée uniquement pour le paramètre glucose sur Architect ci4100. La moyenne md étant de -0.02 g/l ; il semble donc que la méthode glucose sur Architect ci4100 fournisse des valeurs un peu plus faibles que Cobas Intégra. Cependant il faut s'interroger sur la signification de cette différence « 1.72% ». En effet l'interprétation des limites d'agrément se fait en lien avec le contexte de réalisation du test (intérêt clinico-biologique) et non en comparaison avec des valeurs « de référence ». Avant de faire le graphe de Bland-Altman, il faudra donc s'interroger sur la différence entre les deux instruments que l'on considérera acceptable « selon normes SFBC ».

Le graphique des différences montre ainsi des valeurs qui oscillent entre dans l'intervalle IC 95% [-0.12 ; 0.16] donc proche de 0 et qui sont conformes aux normes de suivi de la SFBC ; alors les mesures obtenues sont considérées comme similaires ou interchangeables, les deux instruments sont concordants.

- **Graphique des rapports**

La représentation graphique des rapports GLU Architect ci4100/ GLU Cobas Integra en fonction du glucose Cobas Integra montre une répartition homogène des résultats sur l'ensemble des valeurs du glucose étudié, et qui se situe dans l'intervalle [77% ; 111%].

- **Droite de régression Passing and Bablok**

Les données pertinentes sont apportées par l'équation de la droite de régression dont la pente et l'ordonnée à l'origine expriment la similitude des méthodes comparées. En outre la comparaison de la droite de régression (droite des moindres rectangles) obtenue à la droite théorique ($y=x$) peut être simplifiée en utilisant les normes d'interprétation (NI) de la droite de régression proposées par la SFBC.

Pour les deux niveaux de concentration, les deltas entre les deux droites $y=1,0434x-0,071$ et $y=x$ sont inférieures aux normes d'interprétation. Notre droite ne sera pas considérée comme différente de $y=x$: aucune discordance significative n'est donc détectée. Les deux automates présentent une bonne corrélation.

3.2.5. Etude de la linéarité et effet de dilution

On l'a effectué uniquement pour le paramètre glucose sur Architect ci4100. Les résultats de l'étude de la linéarité montre qu'elle est satisfaisante jusqu'à 3,28 g /l, ce qui est suffisant pour les besoins cliniques habituels.

La dilution n'affecte pas la fidélité des résultats, elle est donc obligatoire au-delà des concentrations dépassant 3.28g/l.

On a remarqué que les CV diminuent avec l'effet de dilution suggérant l'influence de l'effet matrice sur la reproductibilité des résultats.

- **Argumentaire de la conclusion** : Conforme, convient aux besoins du laboratoire.

3.3. Les cartes de contrôles et méthodes d'interprétation « quel intervalle à utiliser »

- On a tendance à utiliser les intervalles fournis par les fournisseurs or c'est une grosse erreur, cet intervalle est très large et calculé à partir des ET de plusieurs participants de programme de CEQ et prends un facteur d'élargissement de 3s. Ainsi la variation inter laboratoire est très élevée par rapport aux variations intra laboratoires « quand la qualité du laboratoire est meilleure par rapport au groupe ».

En effet l'intervalle utilisé doit refléter les conditions opératoires du laboratoire pour cela le document NCCLS C24-A2 recommande pour chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs à chaque nouveau lot du CQ après un minimum de collecte de 20 valeurs.

Le calcul des intervalles de contrôle peut se faire de différentes manières selon les référentiels de qualité. Le choix s'incombe aux biologistes ; ainsi :

- SFBC : utilise les écarts types de la fidélité intermédiaires ;
- Ricos et Fraser : déduit l'écart type à partir de la formule : $0.5 \times CV$ intra individuel ;
- OMS : déduit l'écart type à partir de la formule : $\text{intervalle de référence} / 12$ (50).

Dans notre travail le calcul est basé sur les normes SFBC.

Le tableau 36 montre les nouveaux intervalles propres au laboratoire de biochimie de Tizi Ouzou qu'on a pu déterminer à travers notre travail utilisant un facteur d'élargissement à 2s.

En le comparant aux intervalles fournis par le fournisseur on remarque bien qu'ils sont moins larges sauf pour l'Urée 1 Architect ci4100 et Bili T 2 Xpand à cause de leurs CV élevés (3.9% et 11.11%). A noter aussi que l'intervalle calculé à 3s est moins large pour la majorité des paramètres car il prend en compte que les variations intra laboratoire ; ceci affectera la qualité validée par l'intervalle du fournisseur, en effet on aura une diminution des rejets de séries et validation de séries qui pourraient présenter des erreurs analytiques.

Le NCCLS recommande aussi l'utilisation de la moyenne cumulative, un écart type de plus de 100 valeurs pour réduire les variations de l'écart type.

- Selon l'enquête réalisée par l'équipe westgard sur 682 laboratoires, 55% utilise la règle 2s pour tous les essais. Hors cette méthode génère beaucoup de faux de rejets « Pfr = 9% pour 2 contrôles et plus élevée pour 3 contrôles ».

La norme ISO 15189 généralise aussi l'utilisation de cette règle mais avec limitation par un maximum de tolérance d'erreurs (30).

L'application de la règle 2s dans notre étude montre des pourcentages d'alerte considérable notamment sur le Cobas Integra « avec un maximum de 33% pour ALAT » pour une période d'un mois, et cela est expliqué par le fait que les CV du Cobas Integra sont plus petits fournissant un intervalle moins large que celui fourni par le fournisseur. Hors étant donné que le Pfr est de 9% on peut dire que les pourcentages de rejet sont surestimés.

On remarque aussi que le pourcentage de rejet pour bilirubine totale sur Xpand est le plus faible, alors que les CV de la fidélité intermédiaires étaient très élevés dépassant même l'ETA. En effet plus le CV est grand, plus il élargira l'intervalle. Le laboratoire doit donc faire attention aux intervalles déterminés, il doit s'assurer de validité de la fidélité intermédiaire des tests en la comparant aux normes requises mais surtout de voir son impact sur les limites de décision clinique.

Pour diminuer ces faux rejets il faut considérer la règle 2s comme une règle d'alerte poussant ensuite l'interprétation selon le reste des règles de Westgard.

L'application de cette stratégie sur nos résultats a révélé un pourcentage de rejet toujours plus élevé pour Cobas Integra. L'explication en se référant aux fiches de travail montre que la cause pourrait être la stabilité des réactifs qui se rapprochent de leurs dates de péremption.

- L'utilisation des cartes Z score fournit une meilleure visibilité sur la qualité des résultats et une possibilité d'interprétation de plusieurs paramètres, niveaux et même sur différents automates des résultats de contrôle qualité.

Considérant les limites d'acceptabilité sur les cartes Z score est de $[-3 ; +3]$, on remarque que des mesures correctives devraient être prises sur Cobas Integra qui fournit beaucoup de résultats dépassant ces limites.

Les cartes Z entre appareils et niveaux montre l'absence d'erreur systématique sauf pour l'Xpand qui présente une tendance qui se corrige après. En examinant les fiches de travail on a enregistré une intervention de l'équipe technique le jour où les valeurs commençaient à se corriger. Cela montre l'intérêt de l'examen rétrospective des valeurs de contrôle et l'insuffisance de l'interprétation immédiate à court terme.

Cette interprétation rétrospective pourrait être une alternative efficace et économique aux stratégies prospectives de Westgard.

3.4.L'approche sigma métrique « entre maîtrise de la qualité et limites d'utilisation »

En 2001, puis en 2006 Westgard propose l'approche « six métrique » sous la forme d'un indicateur de « capacité », calculé en fonction de la qualité requise (erreur totale admissible par le CLIA, de l'erreur de justesse estimée au taux critique et de la reproductibilité obtenue), l'objectif étant d'atteindre une valeur égale à 6.

Selon Westgard cet indicateur permet :

- L'optimisation de l'emploi des règles de Westgard et du nombre des niveaux de matériau de contrôle à mettre en œuvre
- De comparer le niveau de performances de différentes méthodes.

Toutefois cet indice est étroitement dépendant du critère de qualité requise (par le CLIA en l'occurrence).

Selon une étude effectuée par l'équipe westgard, plusieurs fournisseurs utilisent l'approche sigma métrique pour l'optimisation de la procédure du CIQ proposée aux clients. L'Architect ci4100 est le plus utilisateur de cette théorie.

Dans notre travail l'application de cette approche sur les paramètres étudiés a révélé une qualité n'excédant pas le niveau de la qualité mondiale admise « 6 sigma » sauf pour « ALAT 2, GGT 2 et BILI T 2 du COBAS Integra » ayant respectivement des sigma « 6.41, 6.42 et 6.18 ». 46.6% sont acceptables mais 53.4% ont des sigmas bas voir même négatif.

La valeur la plus basse est trouvée pour le glucose 1 Architect ci4100 avec un sigma de -1.40. Cependant le même paramètre présente un sigma meilleur calculé à partir des performances déterminées en utilisant un autre sérum de contrôle. Cela suggère que le biais très élevé enregistré avec le premier sérum de contrôle « Lyphochek » est surestimé. Il convient donc d'utiliser pour ces paramètres les intervalles internes pour la validation des séries.

Les niveaux élevés des sérums de contrôles présentent des sigmas meilleurs, cela concorde avec les critères de performance qui le sont aussi. On confirme donc que la sigma métrique mesure véritablement la qualité analytique. Elle est de qualité mondiale pour les enzymes car l'erreur totale acceptable est élevée pour les enzymes « intervalle des variations biologiques larges » ; cela confirme que cet indice est étroitement dépendant des critères de qualité requise. Il est ainsi très important de savoir d'en choisir les plus pertinents et dont l'objectif est d'avoir des variations analytiques inférieures aux variations biologiques aux limites de décisions cliniques.

L'utilisation de l'approche sigma est facilitée par la confection des graphes OPsecs normalisés qui tiennent en compte au même temps des critères de performances déterminés pour la technique et des critères de qualité « ETA, Pfr, nombre de contrôle ». Ce sont des diagrammes normalisés qui permettent aussi leur utilisation pour des paramètres différents.

L'approche sigma métrique est utilisée aussi pour la comparaison des performances des méthodes.

On peut facilement voir la variation de la qualité des différents automates, différents niveaux et différents paramètres. Pour l'Architect ci4100 la meilleure qualité atteinte ne dépasse pas 5 sigma, la plus mauvaise est enregistrée pour l'urée et le glucose niveau 1 pour les mêmes raisons citées en ci-dessus.

Le Cobas Integra présente des performances meilleures par rapport à l'Architect ci4100 dépassant le six sigma « ALAT, GGT et BILI T ».

Nos résultats ne concordent pas vraiment avec l'étude de l'équipe Westgard qui a enregistré pour l'Architect ci4100 le pourcentage le plus élevé des paramètres dépassant 5 sigma. Cela

pourrait être expliqué par le biais surestimé sur Architect ci4100 en utilisant le Lyphochek lot n°26410 mais aussi au fait qu'on utilise pas les propres calibrants de l'automate par défaut de disponibilité.

En appliquant les sigmas métriques dans l'élaboration des stratégies d'interprétation des cartes de contrôle on a trouvé que celles-ci diffèrent d'un automate à un autre et entre les paramètres pour le même automate, des fois même entre les niveaux pour le même paramètre.

Le niveau de qualité ainsi très différent ce qui rend difficile voire impossible d'harmoniser la même stratégie. suivant résume les résultats de notre étude sur les stratégies adéquates pour chaque paramètre et automate et ce pour une AQA 90%/50% et Pde de 100%.

L'approche sigma est un moyen très efficace pour suivre la qualité fournie par un système analytique. Dans notre travail on a comparé le niveau sigma à un intervalle de 4 mois sur l'appareil Cobas Integra 10/14 « 71.4% » des paramètres ont vu leur sigma diminuer. Cela suppose un mauvais entretien soit du côté maintenance ou purement analytiques « stabilité du réactif, calibration ... ». Devant des situations pareilles le laboratoire doit prendre des mesures correctives avant qu'elles affectent la qualité des résultats des patients mais aussi l'influence sur les intervalles internes à déterminer du moment où l'erreur totale augmente le facteur d'élargissement « s ».

3.5. Comparaison des stratégies d'interprétation des cartes de contrôle

La comparaison des différentes stratégies d'interprétation montre que le pourcentage des faux rejets dépend de la stratégie d'interprétation utilisée. Ainsi pour une qualité faible, l'utilisation de l'interprétation à 3s « intervalle du fournisseur » risque d'accepter des séries qui devraient être rejetées.

Et l'utilisation de la règle 2s « adoptée par les normes ISO NF 15189 » pour les paramètres de meilleure qualité augmente le rejet des séries qui devraient être validées.

De ce fait on doit adapter nos choix au niveau des performances du laboratoire. Cette pratique est astreignante du fait qu'on ne peut pas harmoniser le niveau de qualité pour tout le laboratoire.

Les normes ISO NF 15189 proposent une alternative. Elle consiste à continuer à utiliser la règle 2s comme une règle de rejet et pas d'alerte et d'accepter les résultats hors intervalle 2s mais qui sont à l'intérieur d'intervalle d'erreur totale admissible.

3.6. Autres moyens de CIQ

Lorsque les performances idéales ne peuvent pas être atteintes avec une seule procédure de contrôle qualité, plusieurs conceptions de contrôle qualité peuvent être utilisées pour atteindre des objectifs spécifiques.

- **Le diagramme de YOUTEN**

Le diagramme de Youden fournit une interprétation rapide sur la validité de la série et le type d'erreur.

En examinant son application sur nos résultats on remarque directement l'erreur systématique pour le niveau 1 glucose, des meilleurs résultats pour glucose Cobas Integra.

- **Approche des moyennes normales**

- Cette application illustre une combinaison avancée de techniques de contrôle de la qualité : en utilisant à la fois les métriques Sigma et les données sur les patients (aussi connu sous le nom de moyenne des normales, AoN, moyenne des patients).
- Le contrôle qualité des données du patient utilise les résultats des tests des patients pour évaluer les performances d'un processus de test en laboratoire et identifier les changements dans la stabilité du processus.
- L'utilisation des données des patients pour le contrôle des processus présente beaucoup d'intérêt pour le nouveau millénaire.
- La réunion annuelle 2000 de l'American Association for Clinical Chemistry a présenté une séance Edutrak intitulée « L'utilisation des données des patients pour le contrôle des processus : Il est temps est venu ».
- L'hypothèse est qu'une modification de la valeur moyenne suggère qu'un changement s'est produit dans le processus et que son fonctionnement ne représente plus une performance stable.
- La performance AoN dépendait du rapport entre l'écart-type de la population patient et l'écart-type de la méthode.

Cette stratégie devient généralement applicable lorsque la capacité du processus est inférieure à 5 sigma et est généralement nécessaire lorsqu'elle est inférieure à 4-sigma. Même les processus ayant des performances inférieures à 3-sigma peuvent être correctement surveillés si le contrôle qualité des données du patient peut être correctement conçu.

3.7. Gestion de la non conformité

En cas d'écart par rapport à ses propres spécifications, le laboratoire devra ouvrir une fiche de non-conformité qui permet de réaliser et de tracer l'action corrective et surtout l'analyse de l'impact sur les résultats des patients. Enfin, une synthèse annuelle, analyse par analyse, permet d'avoir une vision synthétique des performances analytiques du laboratoire.

Plusieurs actions sont possibles : le repassage du même CIQ, l'utilisation d'un nouveau flacon de CIQ, la calibration du paramètre ou des paramètres et le changement de réactif.

Signalons à ce propos qu'il n'y a pas de preuve que l'utilisation de CIQ à plus de 2 niveaux, apporte un avantage pour l'efficacité du CIQ, sauf à évaluer une éventuelle limite du domaine de mesure.

Plusieurs logigrammes sont proposés pour la gestion de la non-conformité qui reposent en général sur les règles de westgard pour la détection d'erreurs, son identification et la prise des mesures correctives adéquates (voir annexe X).

Une différence supérieure à 2,8 fois le CV de reproductibilité pour le paramètre concerné et en cas de conséquence clinique, la correction des résultats doit être faite et le prescripteur et ou le patient doivent en être informés (50).

3.8. Identification des erreurs

« Savoir interpréter : c'est détecter et identifier l'erreur »

Dans l'interprétation du CIQ, l'objectif n'est pas uniquement de rejeter les séries hors normes mais aussi de déterminer les étiologies possibles et rechercher les problèmes qui peuvent être à l'origine de la violation des règles de Westgard. Par exemple, la règle 2-2s révèle une erreur systématique dont la cause peut être un défaut de calibration, un problème de stabilité du réactif.

Une erreur aléatoire, mise en évidence par la règle R-4s, peut être liée à un problème de pipetage mais aussi de calibration donc être aussi systématique. La règle 1-3s révèle une erreur aléatoire ou le début d'une erreur systématique d'où la difficulté à adopter une attitude homogène face à toutes les situations possibles. De plus, si un seul niveau de CIQ est impacté (pour une seule analyse ou pour plusieurs analyses) ou si 2 et 3 niveaux de CIQ sont impactés, cela modifie considérablement la logique d'interprétation.

On peut aussi utiliser pour identification des erreurs le rapport valeur du contrôle/valeur cible et leur différence, c'est une méthode simple mais permet une vision rapide sur la nature des erreurs (50).

Remarque :

- Dans notre travail on s'est basé sur les moyens de maîtrise des erreurs analytiques, néanmoins des études ont montré que le pourcentage élevé d'erreur est de type pré analytique « 45.5% » et postanalytique « 47.2% » par rapport aux erreurs analytiques qui représentent uniquement 7.3% d'erreurs.
- Selon Westgard les laboratoires peuvent réduire le nombre de contrôle de deux niveaux par jour à deux niveaux par semaine ou plus (50).

3.9. Erreur totale et approche de l'estimation de l'incertitude

L'incertitude de mesure est un « paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées à la mesurande ». C'est un paramètre qui permet d'avoir une idée sur la fiabilité des résultats donnés par l'automate. Ainsi, deux résultats proches l'un de l'autre, doivent être interprétés par le clinicien en tenant compte de l'incertitude de mesure pour conclure si oui ou non ils seraient totalement différents ou au contraire tout à fait identiques.

L'incertitude de nos résultats, mesurée à partir des données du CIQ, présentés dans le tableau 34 sont comparées à celles des limites SFBC. On peut donc déduire que les incertitudes des paramètres étudiés dans notre travail sont satisfaisantes d'une façon à ne pas altérer l'interprétation clinique des résultats des patients.

➤ Limites de l'étude

Le présent travail a toutefois comporté quelques limites qu'il serait possible de revoir à l'occasion d'une autre étude, lorsque les conditions le permettront :

- ✓ La non disponibilité de la totalité des réactifs ;
- ✓ L'absence de coopération et d'autres conditions qui régnaient au sein du laboratoire au moment de l'étude et qui nous ont empêchés de réaliser d'autres tests requis ;
- ✓ L'indisponibilité de logiciels de validation adéquats pour une analyse plus complète des résultats.

➤ Recommandations

Nous concluons à travers ce travail qu'il serait utile de :

- ✓ Mettre en place une dynamique d'amélioration continue ainsi qu'une extension de la gestion des CIQ et la prise des mesures correctives ;
- ✓ Se référer aux intervalles propres au laboratoire ;
- ✓ L'établissement des limites acceptables se rapprochant plus des exigences cliniques que de l'état de l'art ;
- ✓ Une meilleure formalisation de la formation et de l'habilitation du personnel à la gestion des CIQ ;
- ✓ Un choix judicieux des matériaux de contrôle de qualité qui doivent répondre à certaines caractéristiques :
 - Lots assez importants et assez stables pour pouvoir être utilisés pendant au moins une année (pour les CIQ) ;
 - Concentrations choisies en fonction des intervalles de référence, proches des seuils de décision clinique ;
 - Il faut également s'assurer que le comportement du matériau de contrôle est proche de celui des spécimens des patients.
- ✓ Utiliser des programmes informatisés et des logiciels spécialisés de contrôle qui facilitent le suivi des valeurs de contrôle ;
- ✓ Participer à des programmes de contrôle qualité externes.

Conclusion

Le contrôle de la qualité joue un rôle essentiel pour assurer la fiabilité des résultats des tests de laboratoire.

Pour répondre aux exigences des normes internationales notamment la norme ISO 15189 relative aux exigences de la qualité et compétences des LBM, des audits internes à des intervalles planifiés doivent être menés et ceci à travers un contrôle interne de la qualité.

L'objectif est d'atteindre une erreur totale qui peut être tolérée sans nuire à la prise en charge du patient, sans compromettre le diagnostic, la surveillance ou une décision thérapeutique.

Grâce à une bonne planification des procédures de CQ, un laboratoire peut atteindre un niveau de qualité défini en fonctionnement quotidien et s'assurer que les résultats des tests satisferont aux exigences requises.

C'est dans cet objectif que nous avons mené un travail au niveau du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi ouzou ou nous avons essayé de répondre au mieux aux exigences techniques de l'étape analytique de la norme ISO 15189 et de contribuer à la maîtrise du processus analytique, tout en en apportant la preuve.

L'étape de Vérification/validation méthode a bien montré que malgré que le CIQ quotidien n'invalide aucun résultat, les performances de certains paramètres ne répondent pas aux exigences requises et requièrent une intervention corrective.

Cela confirme l'obligation de la vérification de la qualité annoncée par le fournisseur avant d'aborder le suivi de sa stabilité par des contrôles de qualité interprétés par des règles qui sont présumées simples mais dont l'harmonisation de la procédure d'utilisation est compliquée.

Ainsi plusieurs approches de suivi de la qualité sont proposées telles que les règles de Westgard, l'approche sigma métrique et même l'association de plusieurs approches en vue de maîtriser au mieux les systèmes analytiques.

Il ne faut pas perdre de vue que le contrôle de qualité, même s'il est valide, ne garantit pas totalement la fiabilité du résultat : d'autres éléments peuvent perturber la phase analytique : les interférences, la sensibilité et la spécificité de la méthode. De plus, l'examen de biologie médicale ne se limite pas à la phase analytique, la maîtrise des autres processus (phase pré et post analytique) est primordiale pour l'obtention d'un résultat fiable.

L'utilisation d'un bon système de la gestion de la qualité est la clé principale pour entamer la démarche de l'accréditation selon la norme ISO 15189 relatives aux LBM, qui partagent des normes avec les autres référentiels de qualité à savoir CLIA, RICOS, CLSI...

En Algérie, l'accréditation des laboratoires n'est qu'à son tout début tant dis qu'ailleurs elle devient une obligation.

La réglementation des LBM (privé et étatique) en Algérie doit être mise à jour ; en incluant des lois pour encourager ces laboratoires à entamer une démarche d'accréditation ou même l'inclure comme obligation pour les années à venir.

Le CIQ est nécessaire mais non suffisant et doit être obligatoirement complété par l'utilisation des Évaluations externes de la qualité (EEQ) comme cela est précisé dans la norme d'accréditation 15189.

Dans l'optique d'atteindre la politique internationale de la gestion de la qualité des LBM, Le laboratoire de Biochimie de Tizi Ouzou a ainsi commencé un essai d'EEQ, le mois de juin 2018, assuré par ASQUALAB.

Bibliographie

1. FEINBERG M. validation interne des methodes d'analyse P224.
2. Greg Cooper C, MHA. Cahier Leçons de Base de CQ au laboratoire. 2010.
3. mondiale de la Santé O. Système de gestion de la qualité au laboratoire: manuel: Organisation mondiale de la Santé; 2013.
4. Rémi S. Mise en place de la norme NF EN ISO 15189 au laboratoire : application à la gestion des contrôles de qualité et à un changement de méthode de dosage. 2015.
5. Azzabi L. Contribution à l'amélioration d'un système de production: intégration de la méthode six sigma et approche multicritère d'aide à la décision dans sidelec internationale: Université d'Angers; 2010.
6. Giroud¹ C, Dumontet² M, Vassault³ A, Braconnier⁴ F, G. Férard⁵. Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F).
7. DUMONTET M. Mise en oeuvre, utilisation et exploitation du contrôle de qualité afin d'assurer la validation analytique, la maîtrise métrologique des instruments d'analyses et la détermination de l'incertitude de mesure. 2007.
8. Setbon M. La qualité des soins, nouveau paradigme de l'action collective ? Sociologie du Travail. 2000;42(1):51-68.
9. Callum G. Fraser quality assurance in clinical biochemistry Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences / Volume 101 / January
10. Ballandras C, Lebel D, Atkinson S, Simard M, Bussièrès J. Qualité et risques en santé: à qui en confier la gestion au sein des unités fonctionnelles.
11. la qualité dans les laboratoires de biologie medicale ;règles de paratique 2009.
12. Labostat. Guide de validation des methodes d'analyse
13. Cofrac. Guide technique d'accréditation en biologie medicale
14. Barkiré AS. Verification de la methode de dosage de l' HBA1C par CLHP Sur l'automate Arkray Adams A1C HA-8180V nouvellement acquis au laboratoire de biochimie - toxicologie L'HMIMV-.
15. Ellerbrok H, Jacobsen S, Patel P, Rieger T, Eickmann M, Becker S, et al. External quality assessment study for ebolavirus PCR-diagnostic promotes international preparedness during the 2014 - 2016 Ebola outbreak in West Africa. PLoS neglected tropical diseases. 2017;11(5):e0005570.

16. Anne-Marie, Lorec-Péneta, Sauniera V, EL, CA, HP. Du GBEA à l'accréditation dans un laboratoire de biochimie de CHU : application à une structure multi-sites. 2010(accréditation des laboratoires de biologie médicale).
17. NF, 7870 NI. Application de méthodes statistiques au management de produits et de processus. 2013.
18. Pascal P, Beyerle F. Quality standards for medical laboratories. Pathologie-biologie. 2006;54(6):317-24.
19. Saint Martin CR. Démarche qualité en biologie médicale: évolution des référentiels vers l'accréditation réglementaire COFRAC selon la norme NF EN ISO 15789: application au dosage de la plombémie 2011.
20. Farges G. Accréditation en 45001 au service biomédical ? RBM-News. 1999;21(10):10-2.
21. Cofrac. Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189.
22. Giroud C, J. Arnaud, Vassault A, analytique elmds-g. Incertitude de mesure. Annales de biologie clinique. 2010.
23. standards Cal. A Quality Management System Model for Health Care; Approved Guideline.
24. Barbier F, Berkane Z, Dehorne J, Desch G, Dhondt J, Drouillard I, et al. Recommandations pour la maîtrise de l'étape de prélèvement des échantillons biologiques.
25. Plebani M. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. Annals of clinical biochemistry. 2010;47(Pt 2):101-10.
26. Vassault A, Hulin A, Chapuzet E, Arnaud J, Giroud C, editors. Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse. Annales de biologie clinique; 2010.
27. Cofrac. Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes
28. Labexpert. Contrôle de qualité des laboratoires de biologie médicale Revue des technologues experts du Québec 2011;1.
29. Cofrac. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale 2005.
30. Cofrac. Guide technique d'accréditation :contrôle de qualité en biologie médicale
31. oeno r. recueil des méthodes internationales d analyses. 2002.
32. Heuillet M. Development of reference methods for lipid profile biomarqueurs : application to quality control in clinical chemistry: Université de Bourgogne; 2013.
33. QUALAB. Contrôle qualité interne

34. Bugni E, Cohen R, Mazellier C. IQC Laboratory management strategy for medical biology. *Annales de biologie clinique*. 2017;75(6):637-45.
35. Giroud C, Arnaud J, Adjidé V, Vassault A, editors. Contrôle interne de qualité. *Annales de biologie clinique*; 2010.
36. Cofrac. Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale
37. Bio-rad. Utilisation du contrôle qualité 2009.
38. Menditto A. Quality Assurance in Biological Monitoring of Environmental and Occupational Exposure to Chemicals. *Microchemical Journal*. 1996;3(54):252-61.
39. Rakotomalala R. Tests de normalité. Université Lumière Lyon. 2008.
40. Jolivet A. La certification à l'épreuve de la communication: figures de la qualité et travail du sens: le cas d'un établissement de santé: Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier; 2011.
41. Guénet D, Moineau MP, Morin JF, Codet JP. Exploitation des contrôles de qualité. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 2006;21(3):172-80.
42. Vassault A, Grafmeyer D, De Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J, editors. *Annales de Biologie Clinique*. *Annales de biologie clinique*; 1999.
43. Wang Y, Chen H-J. Use of percentiles and z-scores in anthropometry. *Handbook of anthropometry*: Springer; 2012. p. 29-48.
44. Olson T. Statistical techniques for collaborative tests. By WJ Youden. The Association of Official Analytical Chemists, Box 540, Benjamin Franklin Station, Washington, DC 20044, 1967. ix+ 60 pp. 17× 26 cm. Price \$2.00. Paperbound. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1968;57(1):194-.
45. Westgard J. Règles de Westgard Sigma 2014.
46. Westgard J. Cartes OPSpecs normalisées
47. J. Arnaud VA, A. Vassault. Comparaisons inter-laboratoires/évaluation externe de la qualité.
48. Balazs A. International vocabulary of metrology-basic and general concepts and associated terms. *CHEMISTRY International*. 2008.
49. Scherrer F, Boisson R, Cartier R, Cohen R, Eynard J, Poggi B, et al., editors. Réflexion sur le choix des limites acceptables dans les programmes d'évaluation externe de la qualité. *Annales de biologie clinique*; 2007.

50. Giannoli JM, Szymanowicz A, Lbm des Charpennes V. Proposed recommendations for the practical use of internal quality controls (IQC) in a medical biology laboratory. *Annales de biologie clinique*. 2011;69(4):489-98.
51. Scherrer F, Boisson RC, Eynard JC, Chamard D, Poggi B, Grafmeyer D. [State of the art and method validations: application to fidelity performance]. *Annales de biologie clinique*. 2008;66(6):721-5.
52. 12-Annales de Biologie Clinique Metrologie.pdf>.
53. Washetine K, Long É, Hofman V, Lassalle S, Ilie M, Lespinet V, et al. L'accréditation selon la norme ISO 15189 d'un laboratoire de pathologie et de génétique somatique (LPCE, CHU de Nice) : retour d'expérience. *Annales de pathologie*. 2013;33(6):386-97.
54. ALGERAC. [www. ALGERAC.dz](http://www.ALGERAC.dz).
55. Corfac. www.cofrac.fr.
56. pierre D. L'accréditation Cofrac des laboratoires de biologie médicale dans le cadre de la loi HPST. 2010.
57. Westgard J. www.westgard.com.

Annexes

Annexe I

▪ Les normes ISO classées en 20 séries- version 2011.

1. Normes ISO : 1 - 999 / Langues et caractères
2. Normes ISO : 1000 - 8999 / Codes et langages
3. Normes ISO : 9000 - 9099 / Qualité
4. Normes ISO : 9100 - 9999 / Exigences logiciels, codage, langage (suite)
5. Normes ISO : 10000 - 13999
6. Normes ISO : 14000 - 14399 / Environnement
7. Normes ISO : 14400 - 15999
8. Normes ISO : 16000 - 16999
9. Normes ISO : 17000 - 19099
10. Normes ISO : 19100 - 19199 / Information géographique
11. Normes ISO : 19200 - 20999
12. Normes ISO : 21000 - 21999
13. Normes ISO : 22000 - 22999
14. Normes ISO : 26000 - 26999
15. Normes ISO : 27000 - 27999 / Sécurité de l'information
16. Normes ISO : 29000 - 29999
17. Normes ISO : 30000 - 39999
18. Normes ISO : 40000 - 49999
19. Normes ISO : 50000 - 59999
20. Normes ISO : 60000 - 69999

▪ Chapitres 4 et 5 de la norme ISO 15189

Chapitre 4 : EXIGENCES RELATIVES AU MANAGEMENT DE LA QUALITE

1. Responsabilité en matière d'organisation et de management
2. Système de management de la qualité
3. Maîtrise des documents
4. Contrats de prestations
5. Examens transmis à des laboratoires sous-traitants
6. Services externes et approvisionnement
7. Prestation de conseils
8. Traitement des réclamations
9. Identification et maîtrise des non-conformités
10. Actions correctives

11. Actions préventives
12. Amélioration continue
13. Maîtrise des enregistrements
14. Évaluation et audits
15. Revue de direction

Chapitre 5 : EXIGENCES TECHNIQUES

1. Personnel
2. Locaux et conditions environnementales
3. Matériel de laboratoire, réactifs et consommables
4. Processus pré analytiques
5. Processus analytiques
 - 5.1. Sélection, vérification et validation des procédures analytiques
 - 5.2. Intervalles de référence biologique ou valeurs de décision clinique
 - 5.3. Documentation des procédures analytiques
6. Garantie de qualité des résultats
7. Processus post-analytiques
8. Compte rendu des résultats
9. Diffusion des résultats
10. Gestion des informations de laboratoire

▪ Norme ISO 22870

« Examens de biologie médicale délocalisée (EBMD) - Exigences concernant la qualité et la compétence ».

Le présent document fournit des exigences spécifiques des examens de biologie médicale délocalisée et est destiné à être utilisé conjointement avec l'ISO 15189. Les exigences du présent document s'appliquent lorsque les EBMD sont réalisées dans un hôpital ou une clinique et par un organisme de santé prodiguant des soins ambulatoires. Le présent document peut s'appliquer à des mesurages transcutanés, à l'analyse de l'air expiré et à la surveillance in vivo de paramètres physiologiques.

Annexe II

■ Différents modules à programmer en fonction des stratégies à déployer

→ TABLEAU I. DIFFÉRENTS MODULES À PROGRAMMER EN FONCTION DES STRATÉGIES À DÉPLOYER

Stratégie	1 : vérification des performances	2 : vérification rétrospective	3 : validation partielle*	4 : vérification /validation méthode qualitative	5 : validation méthode semi-quantitative	6 : validation méthode quantitative
Modules	Méthode quantitative ou semi-quantitative					
Module 1. Fidélité						
Répétabilité	B et E	B, R ou E	E	—	B et E	E
Fidélité intermédiaire	B et E	B, R ou E	E	—	B et E	E
Module 2. Justesse						
Justesse	B et E si possible	B et R ou E si possible	B et E si possible	—	—	E si possible
Module 3. Limite de détection et seuil de positivité						
Limite de détection	B ou E si intérêt	B ou R si intérêt	B et E si intérêt	—	—	E si intérêt
Seuil de positivité	—	—	—	—	E	—
Module 4. Limites de linéarité						
Intervalle de mesure	B	B	E si intérêt	—	—	E
Limite inférieure de quantification	B ou E	B ou R	E si intérêt	—	B et E si intérêt	E
Effet dilution	B ou E si intérêt	B, R ou E si intérêt	B ou E si intérêt	—	—	B ou E si intérêt
Module 5. Comparaison avec une autre méthode						
Comparaison avec une autre méthode	B ou E si possible	R si disponible	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si possible
Module 6. Contamination inter-échantillons						
Contamination inter-échantillons	B ou E si intérêt	R ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	E si intérêt

→ TABLEAU I. DIFFÉRENTS MODULES À PROGRAMMER EN FONCTION DES STRATÉGIES À DÉPLOYER (SUITE)

Stratégie	1 : vérification des performances	2 : vérification rétrospective	3 : validation partielle*	4 : vérification /validation méthode qualitative	5 : validation méthode semi-quantitative	6 : validation méthode quantitative
Modules	Méthode quantitative ou semi-quantitative					
Module 7. Évaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons						
Évaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons	B si intérêt	B si intérêt	B si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt
Module 8. Autres critères						
Fonction de réponse	–	–	–	–	–	B et E si intérêt
Choix de la matrice			B et E si intérêt	–	–	B et E si intérêt
Spécificité analytique	B	B	B	B	B	B et E si intérêt
Sélectivité	B	B	B	B	B	B et E si intérêt
Stabilités						B et E si intérêt
– Réactifs	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	E si intérêt
– Étalons	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	E si intérêt
– Échantillons biologiques	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	B ou E si intérêt	E si intérêt
Rendement d'extraction				–	E si besoin	E si besoin
Exactitude	B si possible	B si possible	B si possible	–	–	E si possible

* Dispositif médical de diagnostic in vitro (DMDIV) marqué CE, utilisation sous spécifications fournisseur.
E : essai à programmer ; B : vérification bibliographique ; R : données rétrospectives.

Annexe III : Automates

- **Architect ci 4100**



- **Cobas integra 400**



- **Dimension xband**



- **Fiche de suivi des automates**

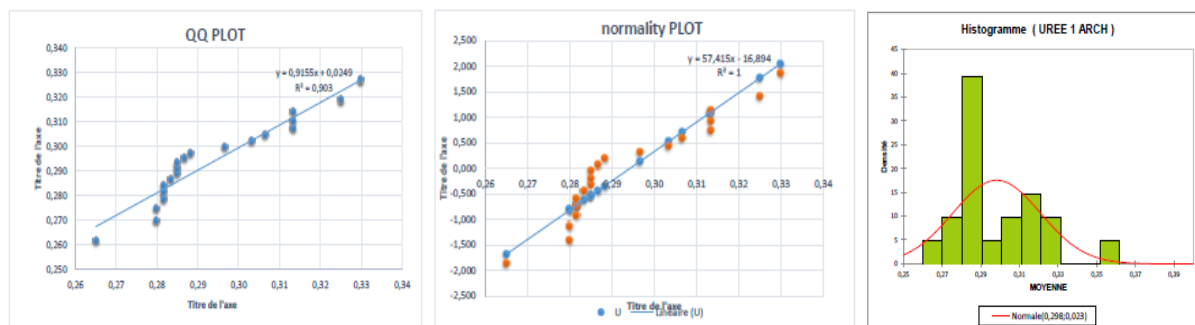
paramètres et appareils		Etat de l'appareil avant le lancement des contrôles								
		Etat appareil	Etat de maintenance	Etat de réactif	Nombre de tests	Etat de calibration	Date de calibration	autres	Conduite de correction	Résultats de la correction
ARCHITECT CI400	GLUCOSE									
	UREE									
	CREA									
	AST									
	ALT									
	GGT									
	BT									
COBAS INTEGRA	GLUCOSE									
	UREE									
	CREA									
	AST									
	ALT									
	GGT									
XPAND	BT									

- **Fiche de suivi des réactifs et calibrants**

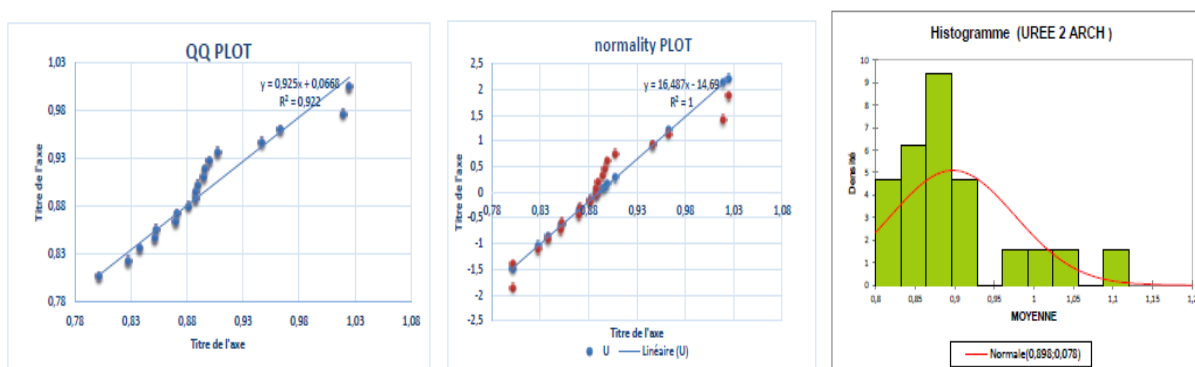
[illegible]

Annexe IV : TESTS DE NORMALITE

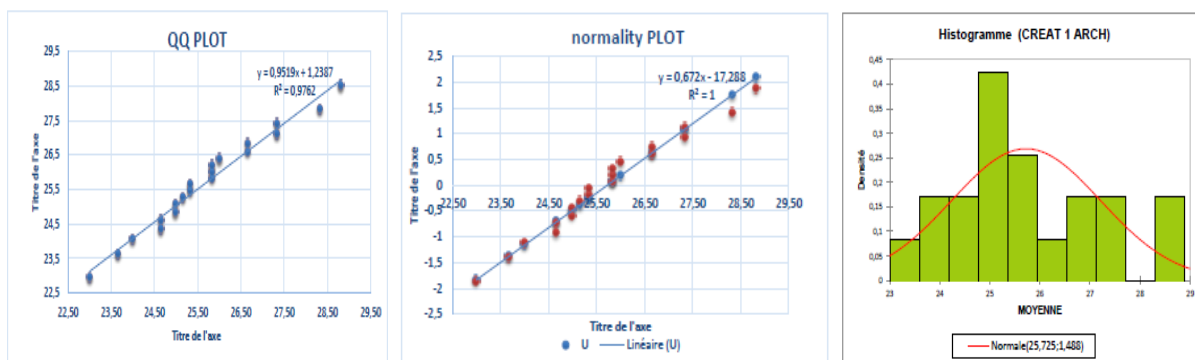
■ Tests de normalité Urée Architect ci4100 niveau 1.



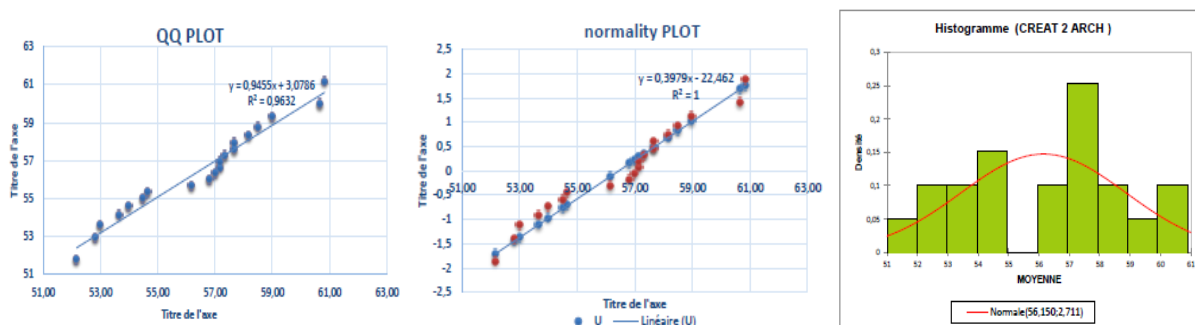
■ Tests de normalité Urée Architect ci4100 niveau 2.



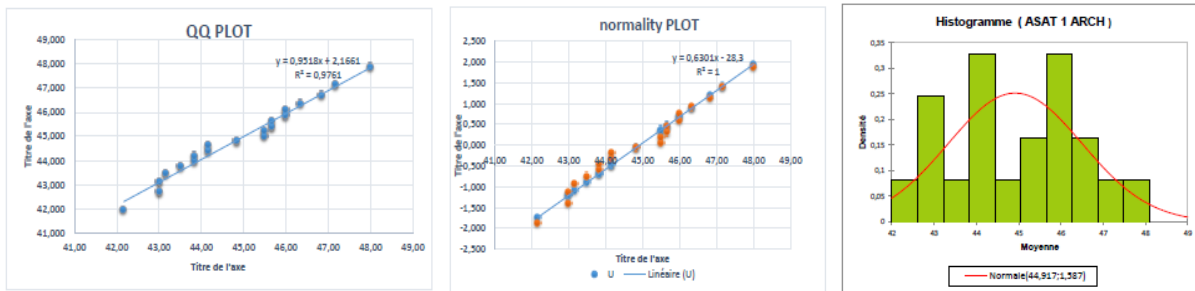
■ Tests de normalité Créatinine Architect ci4100 niveau 1.



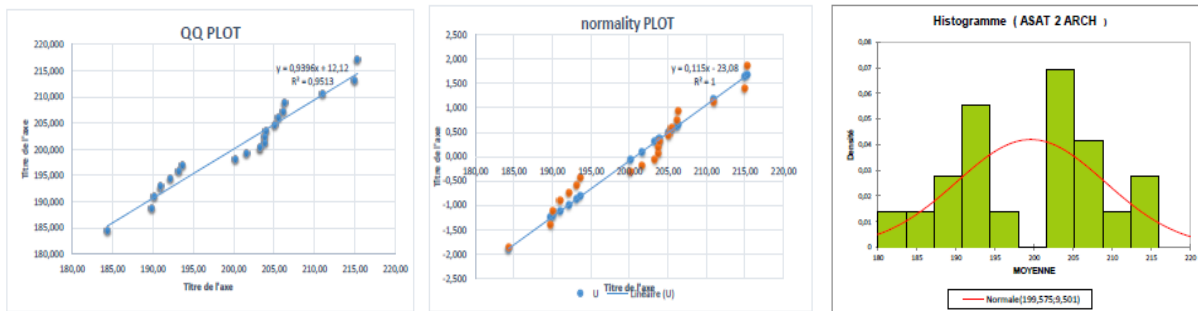
■ Tests de normalité Créatinine Architect ci4100 niveau 2.



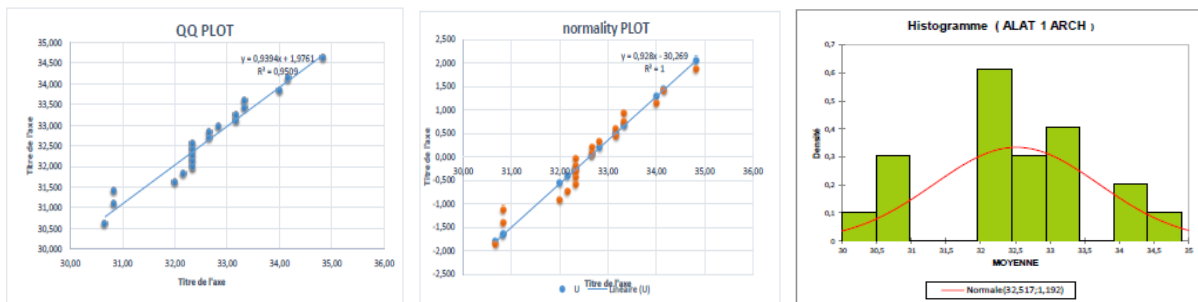
- Tests de normalité ASAT Architect ci4100 niveau 1.



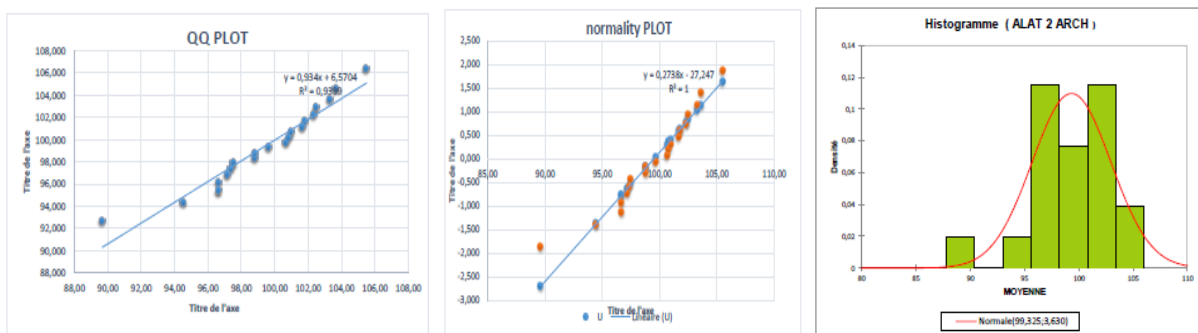
- Tests de normalité ASAT Architect ci4100 niveau 2.



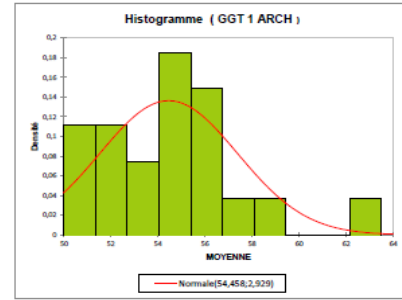
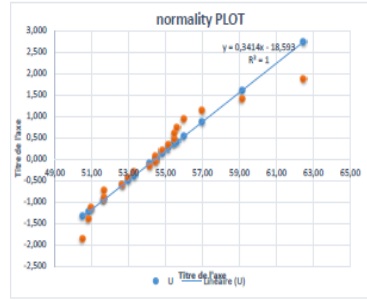
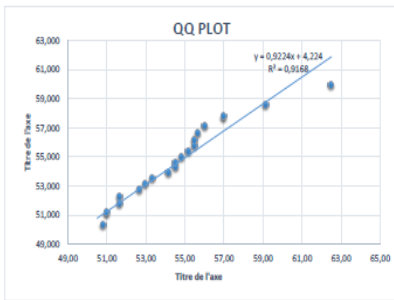
- Tests de normalité ALAT Architect ci4100 niveau 1.



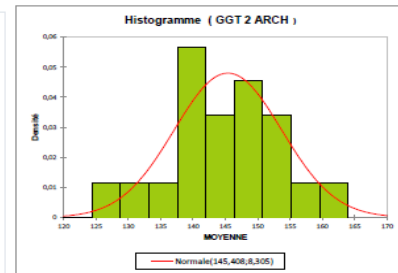
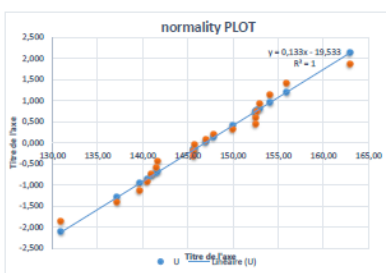
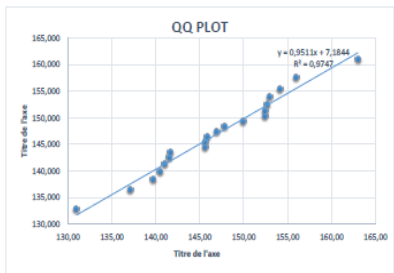
- Tests de normalité ALAT Architect ci4100 niveau 2.



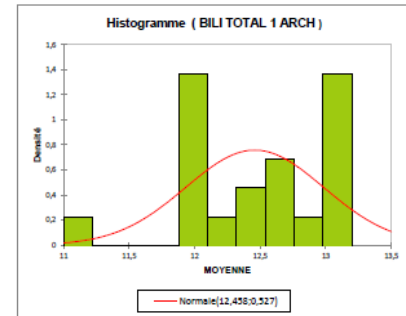
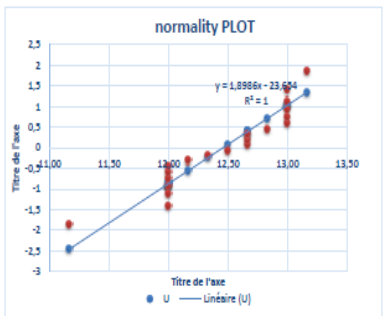
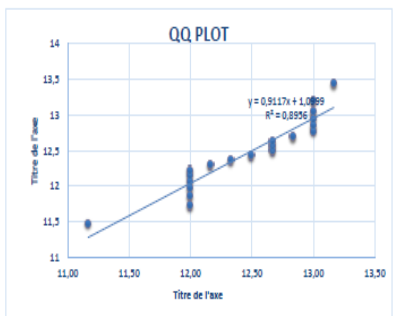
■ Tests de normalité GGT Architect ci4100 niveau 1.



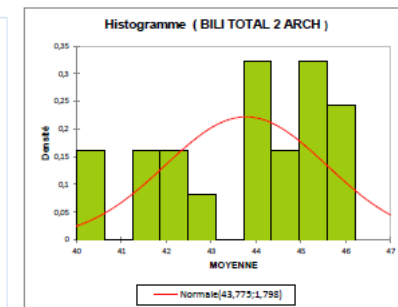
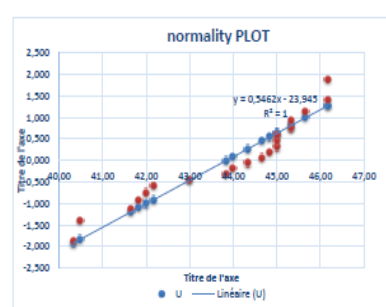
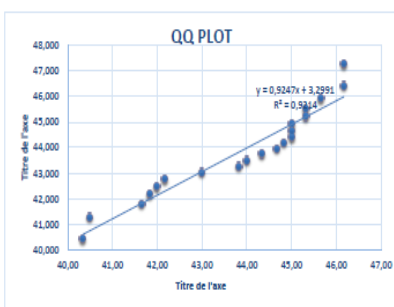
■ Tests de normalité GGT Architect ci4100 niveau 2.



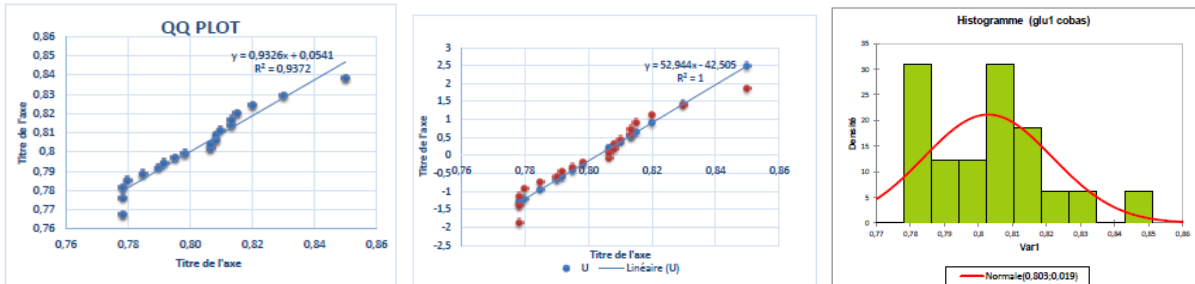
■ Tests de normalité BILI T Architect ci4100 niveau.



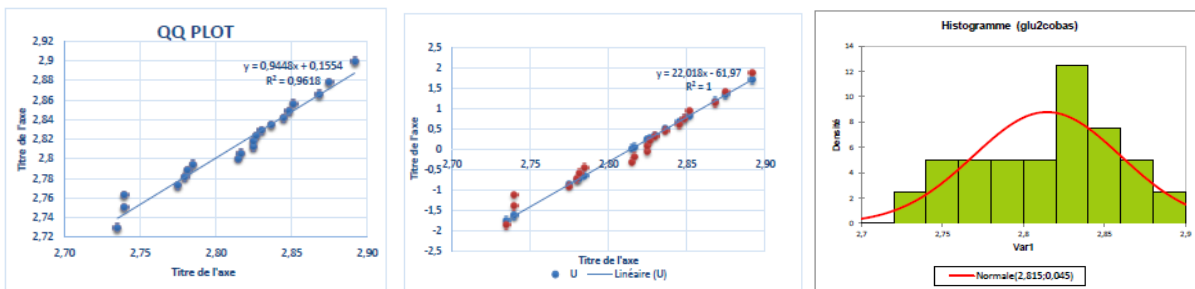
■ Tests de normalité BILI T Architect ci4100 niveau 2.



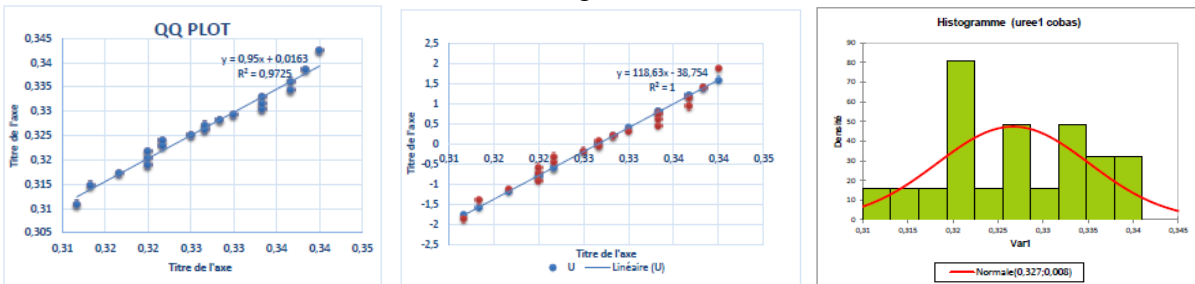
- Tests de normalité Glucose Cobas Integra niveau 1.



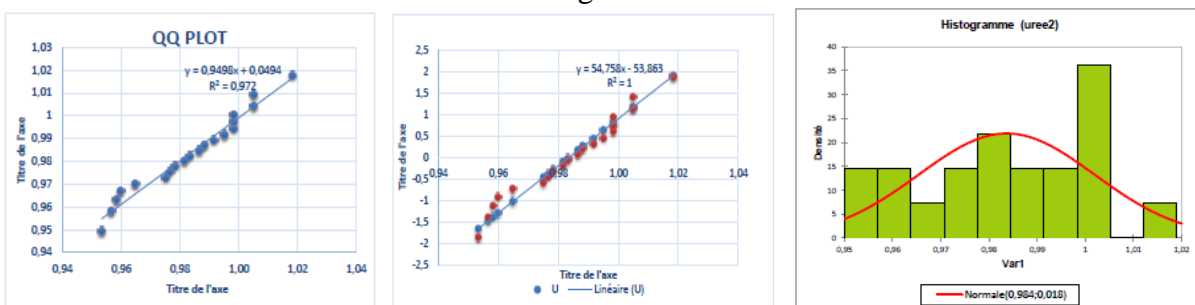
- Tests de normalité Glucose Cobas Integra niveau 2.



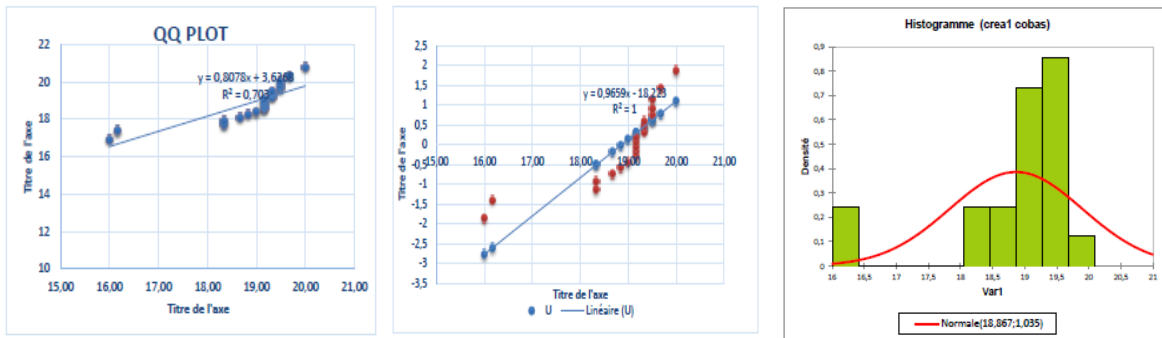
- Tests de normalité Urée Cobas Integra niveau 1.



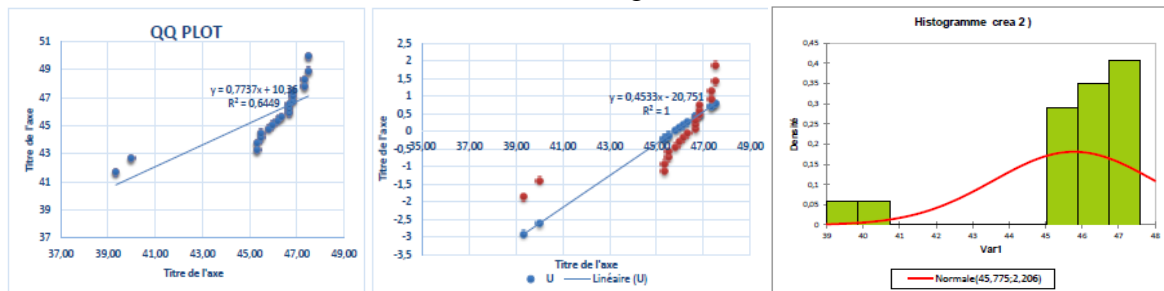
- Tests de normalité Urée Cobas Integra niveau 2.



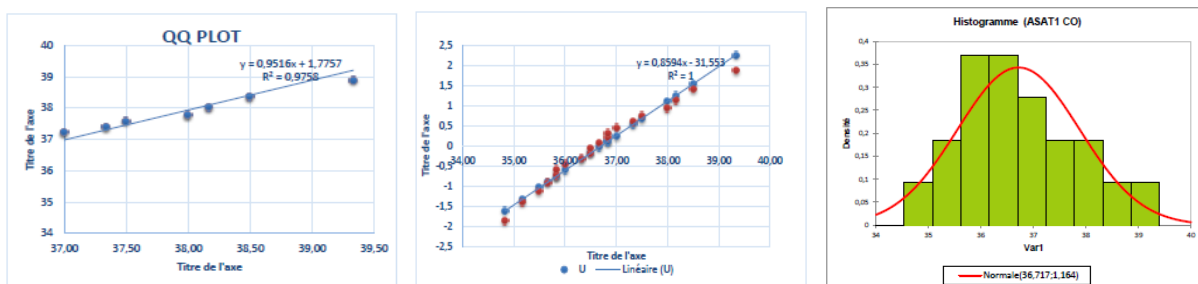
■ Tests de normalité Créatinine Cobas Integra niveau 1.



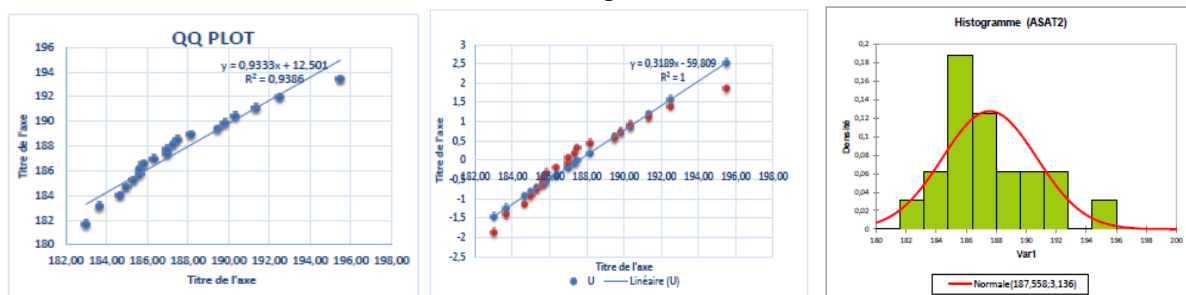
■ Tests de normalité Créatinine Cobas Integra niveau 2.



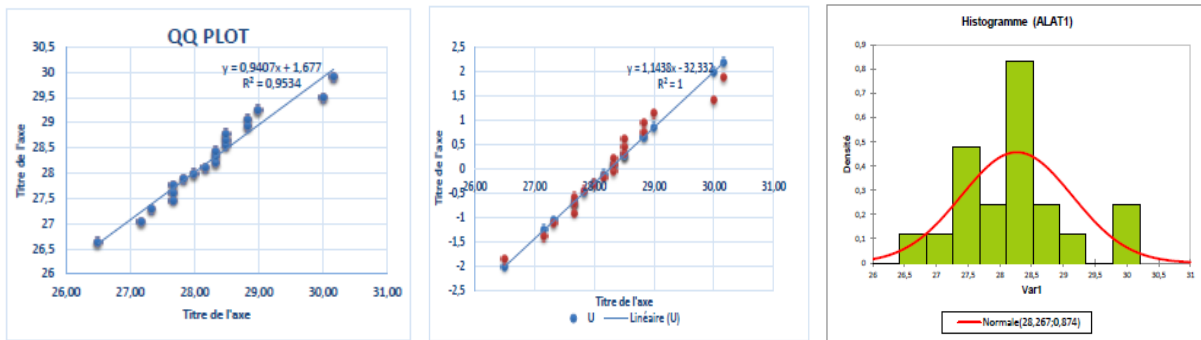
■ Tests de normalité ASAT Cobas Integra niveau 1.



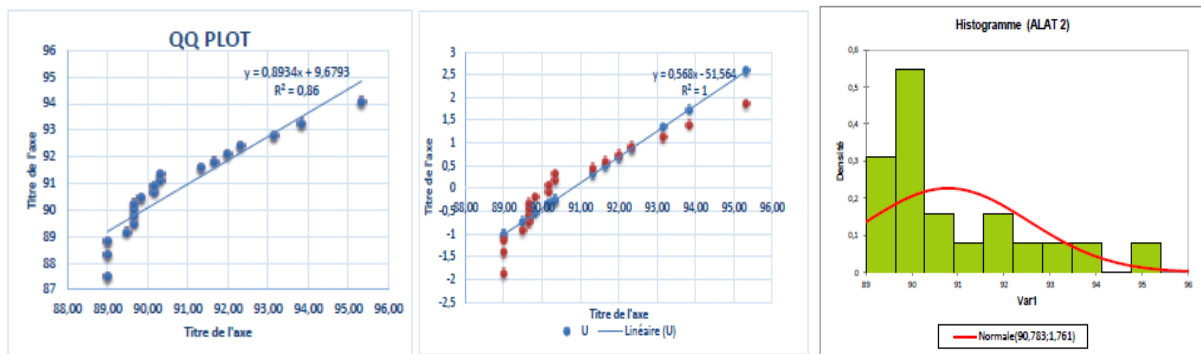
■ Tests de normalité ASAT Cobas Integra niveau 2.



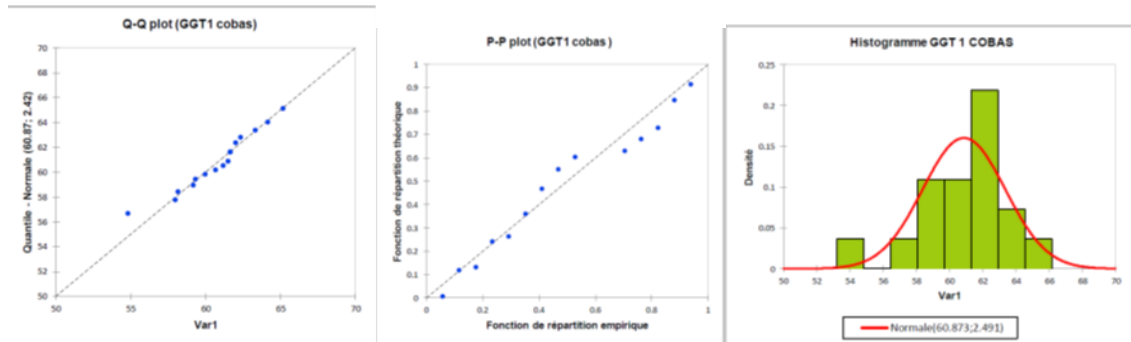
- Tests de normalité ALAT Cobas Integra niveau 1.



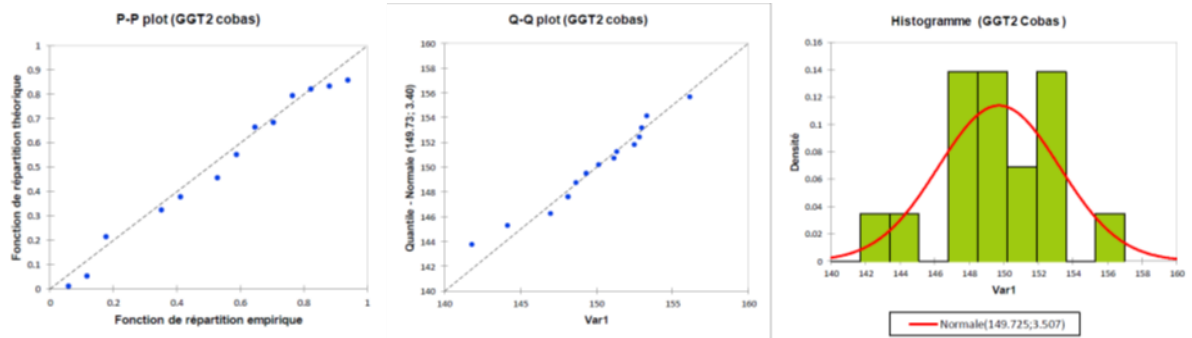
- Tests de normalité ALAT Cobas Integra niveau 2.



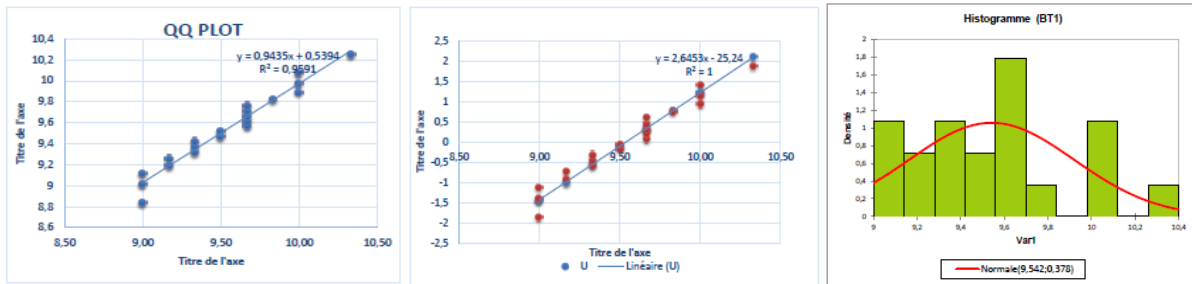
- Tests de normalité GGT Cobas Integra niveau 1.



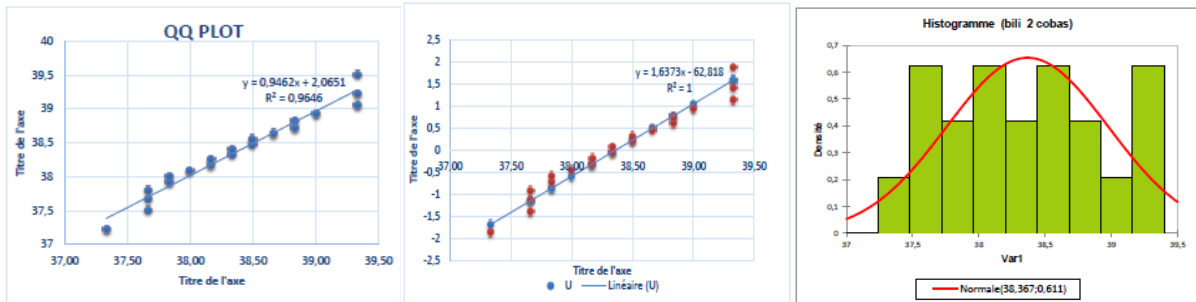
- Tests de normalité GGT Cobas Integra niveau 2.



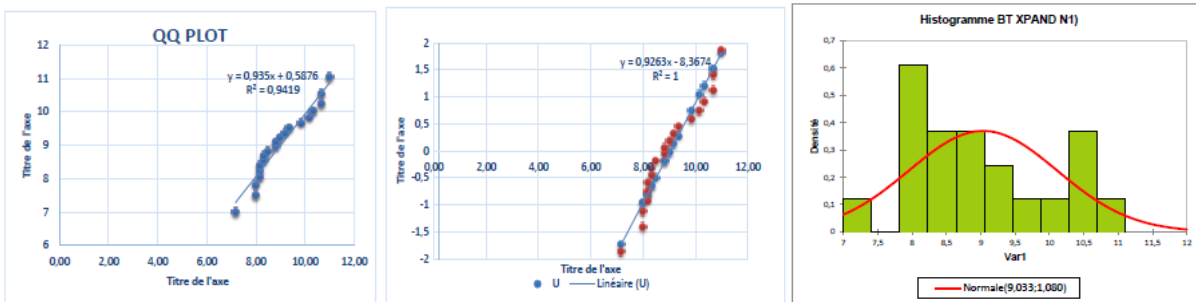
■ Tests de normalité BILI T Cobas Integra niveau 1.



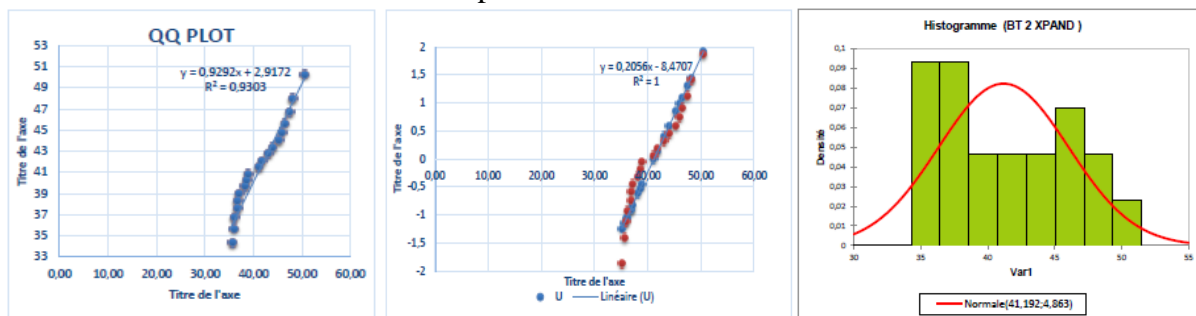
■ Tests de normalité Bili T Cobas Integra niveau 2.



■ Tests de normalité Bili T Xpand niveau 1.



■ Tests de normalité Bili T Xpand niveau 2.

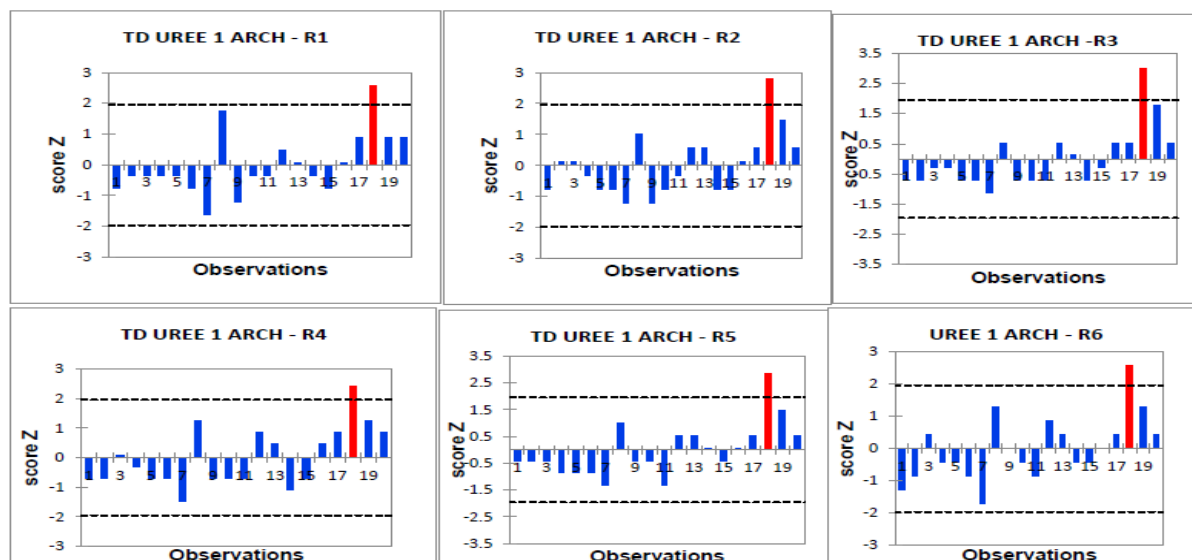


▪ Tests de Shapiro Wilk et Jarque Berra

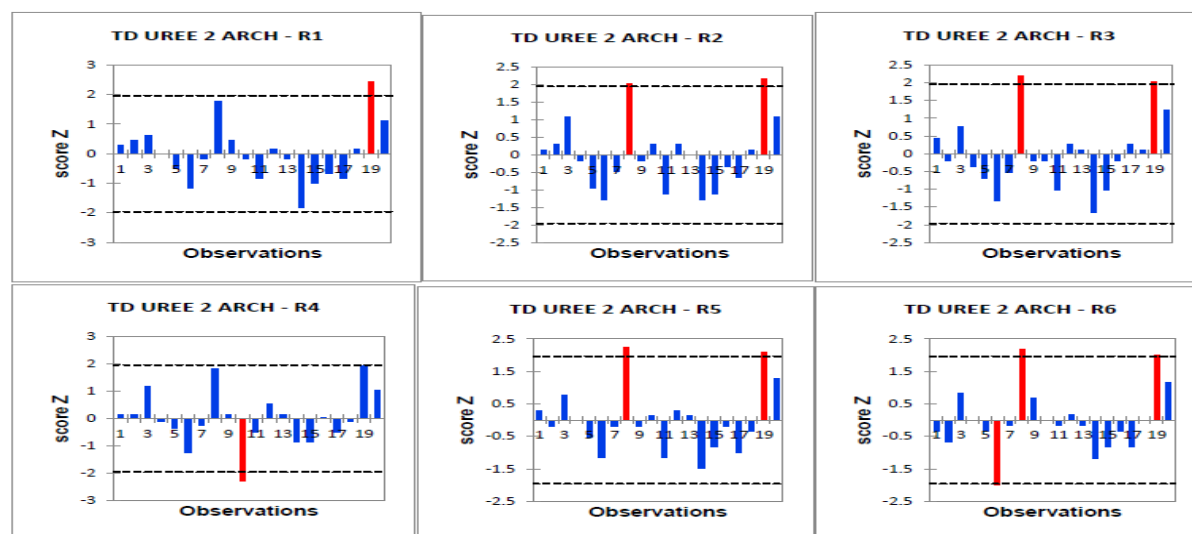
Tests statistique			Shapiro Wilk			Jarque Berra		
Paramètre	Automate	Niveau	alpha	p-value	conclusion	alpha	p-value	conclusion
GLUCOSE	ARCHITECT	1	0.05	0.26	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.98	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	0.298	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.338	VRAI	0.05	-	-
UREE	ARCHITECT	1	0.05	0.043	FAUX	0.05	0.057	VRAI
		2	0.05	0.098	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	0.532	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.604	VRAI	0.05	-	-
CREATININE	ARCHITECT	1	0.05	0.87	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.41	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	< 0.0001	FAUX	0.05	0.0001	FAUX
		2	0.05	< 0.0001	FAUX	0.05	0.0001	FAUX
ASAT	ARCHITECT	1	0.05	0.74	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.28	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	0.833	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.251	VRAI	0.05	-	-
ALAT	ARCHITECT	1	0.05	0.37	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.36	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	0.554	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.007	FAUX	0.05	0.029	FAUX
GGT	ARCHITECT	1	0.05	0.11	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.94	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	0.298	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.338	VRAI	0.05	-	-
BILI T	ARCHITECT	1	0.05	0.033	FAUX	0.05	0.107	VRAI
		2	0.05	0.057	VRAI	0.05	-	-
	COBAS	1	0.05	0.367	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.362	VRAI	0.05	-	-
	XPAND	1	0.05	0.18	VRAI	0.05	-	-
		2	0.05	0.07	VRAI	0.05	-	-

Annexe V : TEST DE DIXON

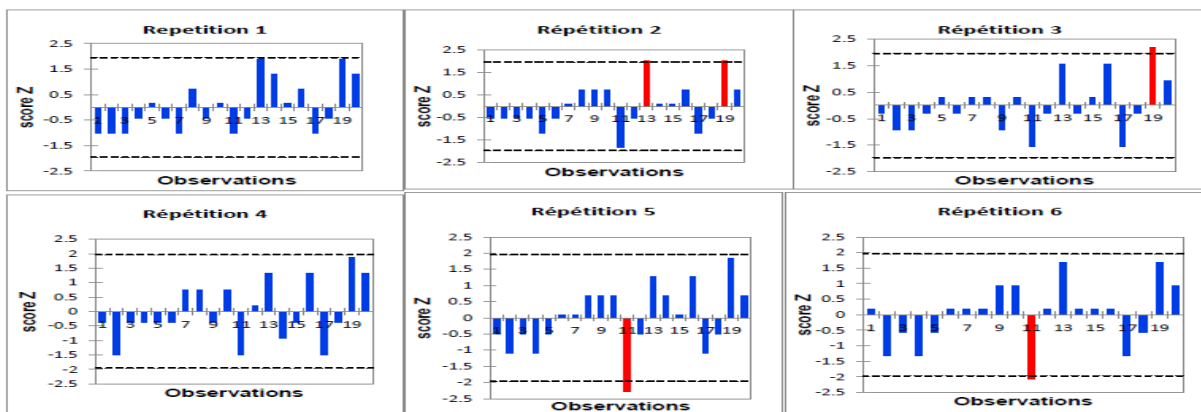
- Test de Dixon du paramètre Urée Architect ci 4100 niveau 1



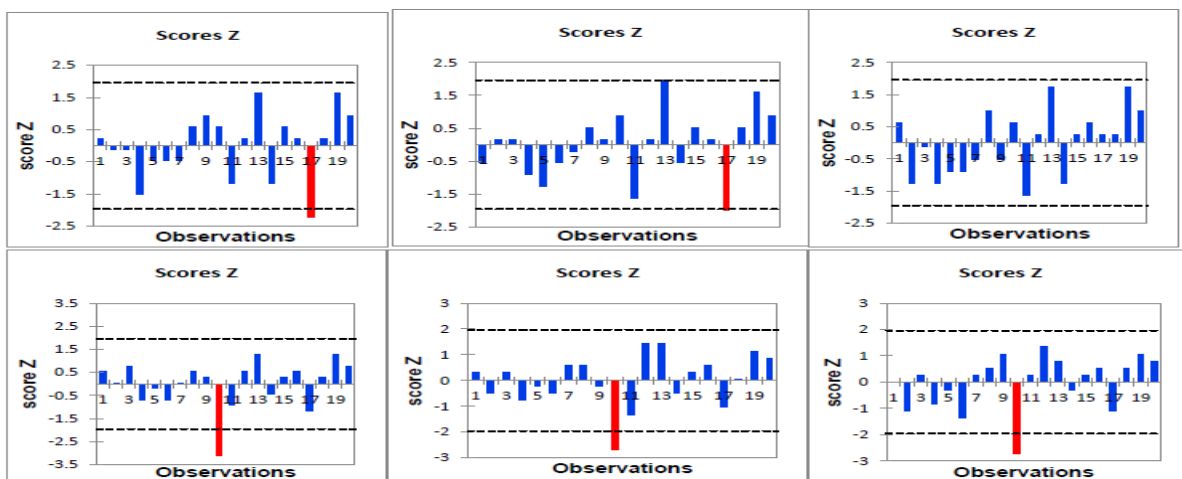
- Test de Dixon du paramètre Urée Architect ci 4100 niveau 2



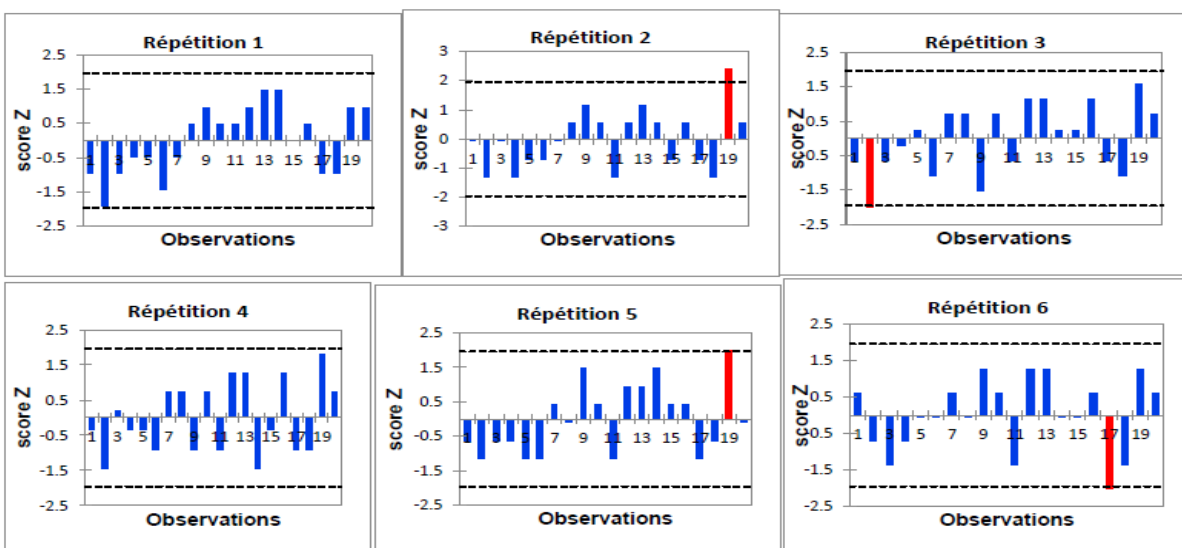
- Test de Dixon du paramètre Créatinine Architect ci 4100 niveau 1



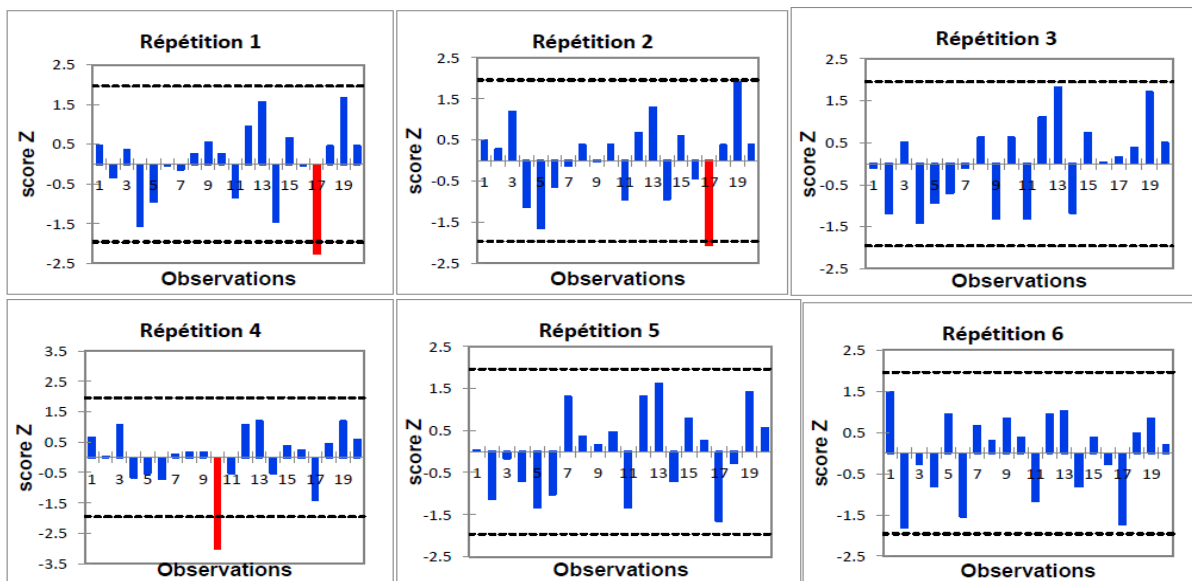
- Test de Dixon du paramètre Créatinine Architect ci 4100 niveau 2



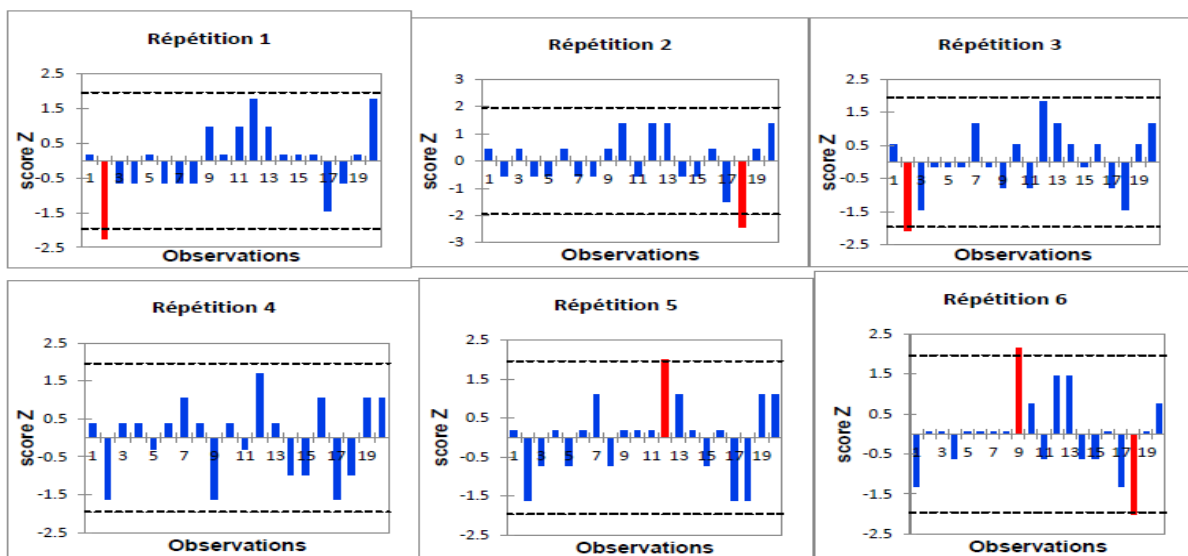
- Test de Dixon du paramètre ASAT Architect ci 4100 niveau 1



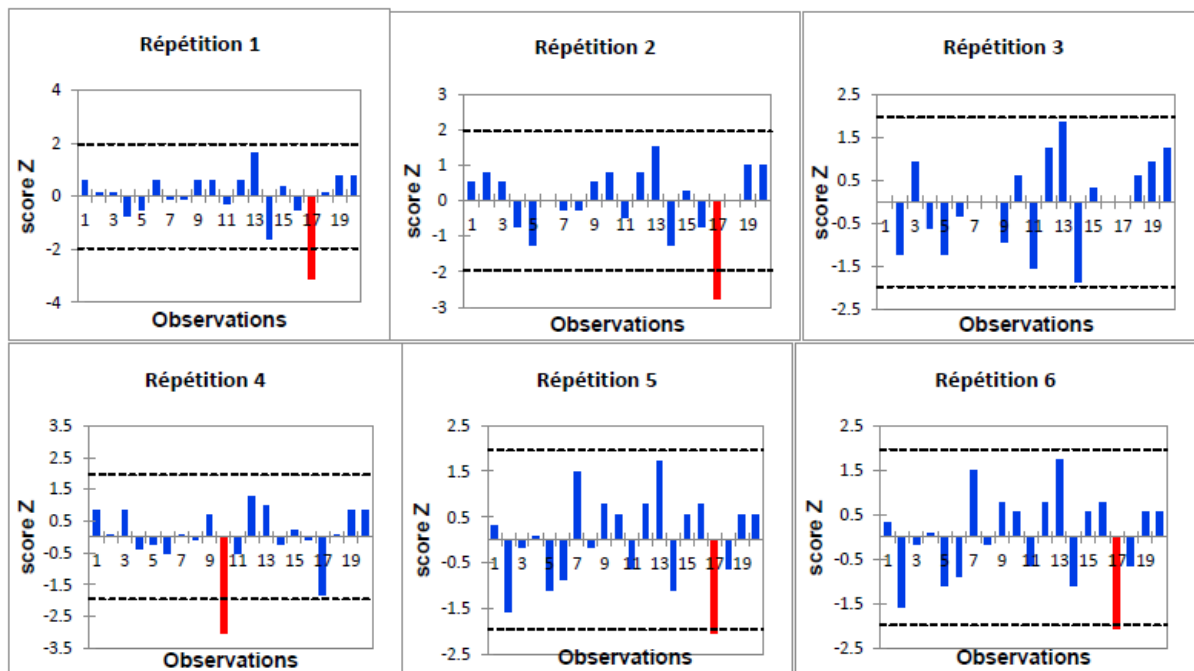
- Test de Dixon du paramètre ASAT Architect ci 4100 niveau 2



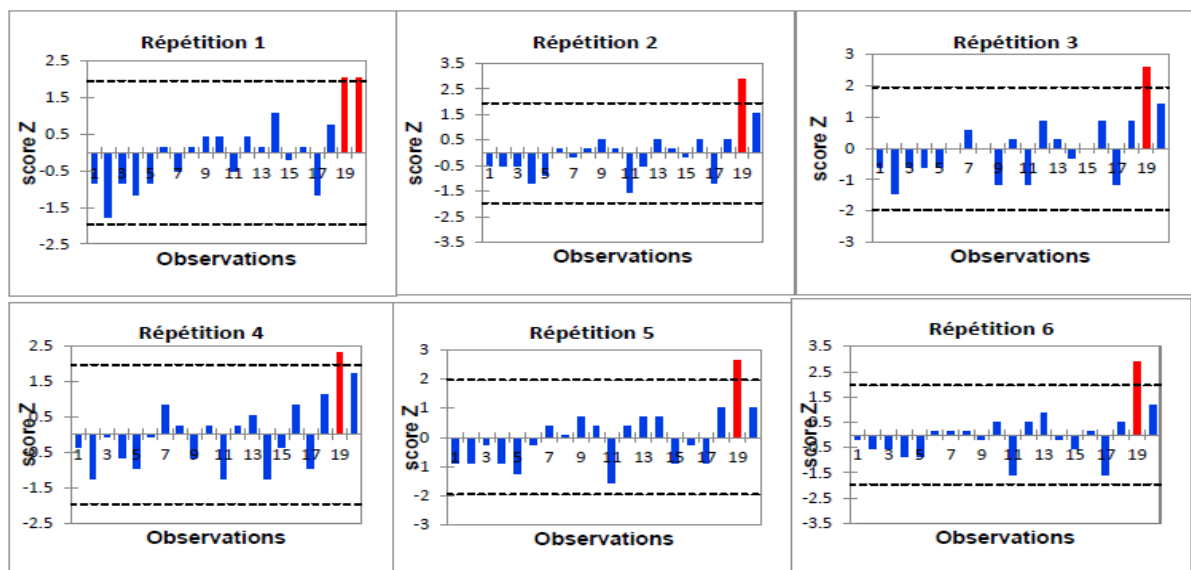
- Test de Dixon du paramètre ALAT Architect ci 4100 niveau 1



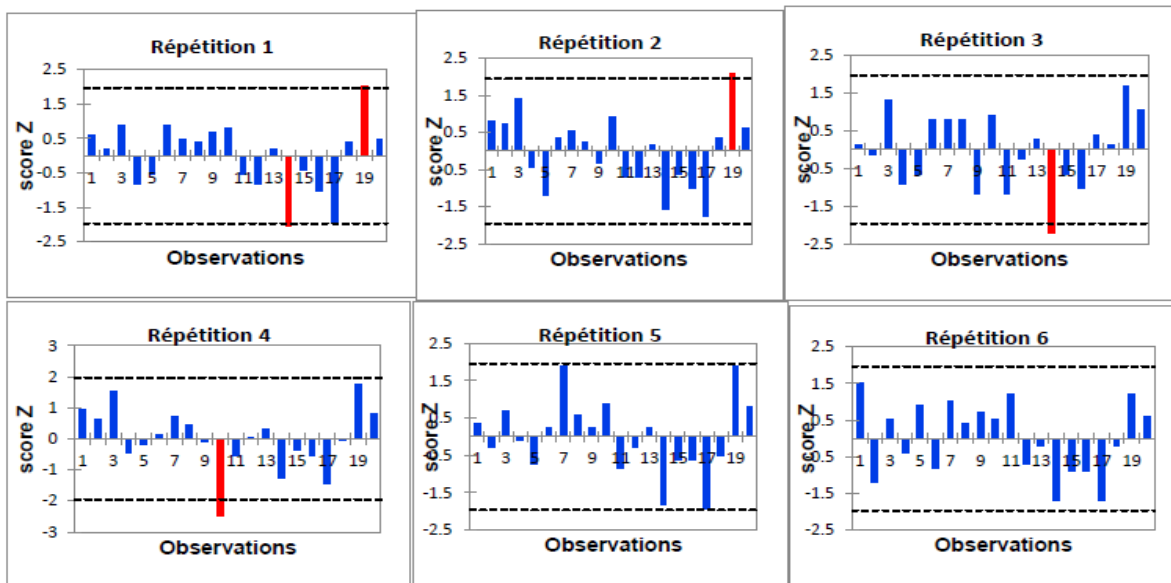
- Test de Dixon du paramètre ALAT Architect ci 4100 niveau 2



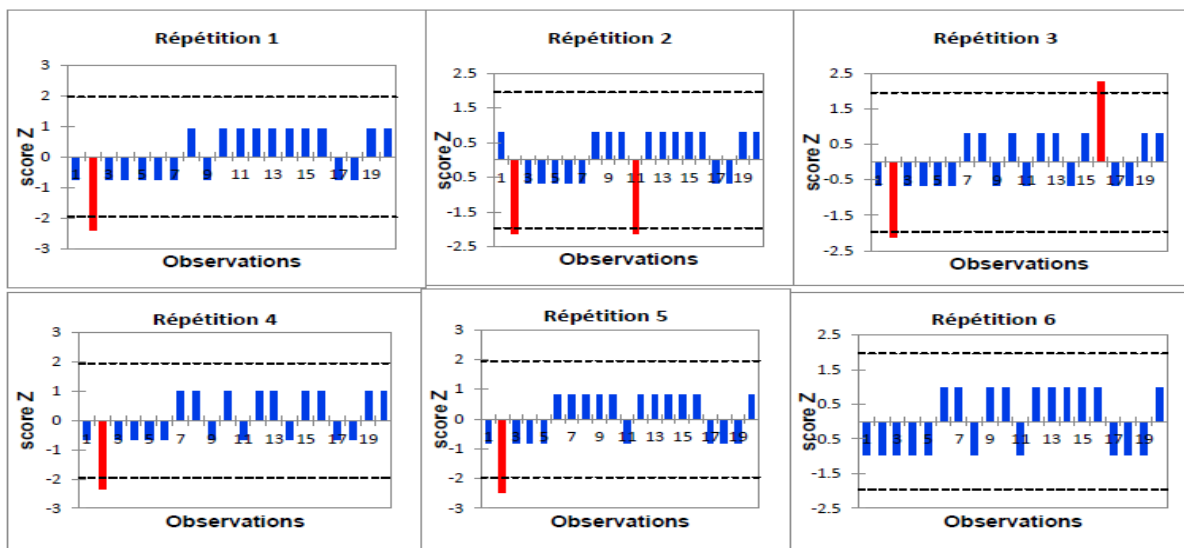
- Test de Dixon du paramètre GGT Architect ci 4100 niveau 1



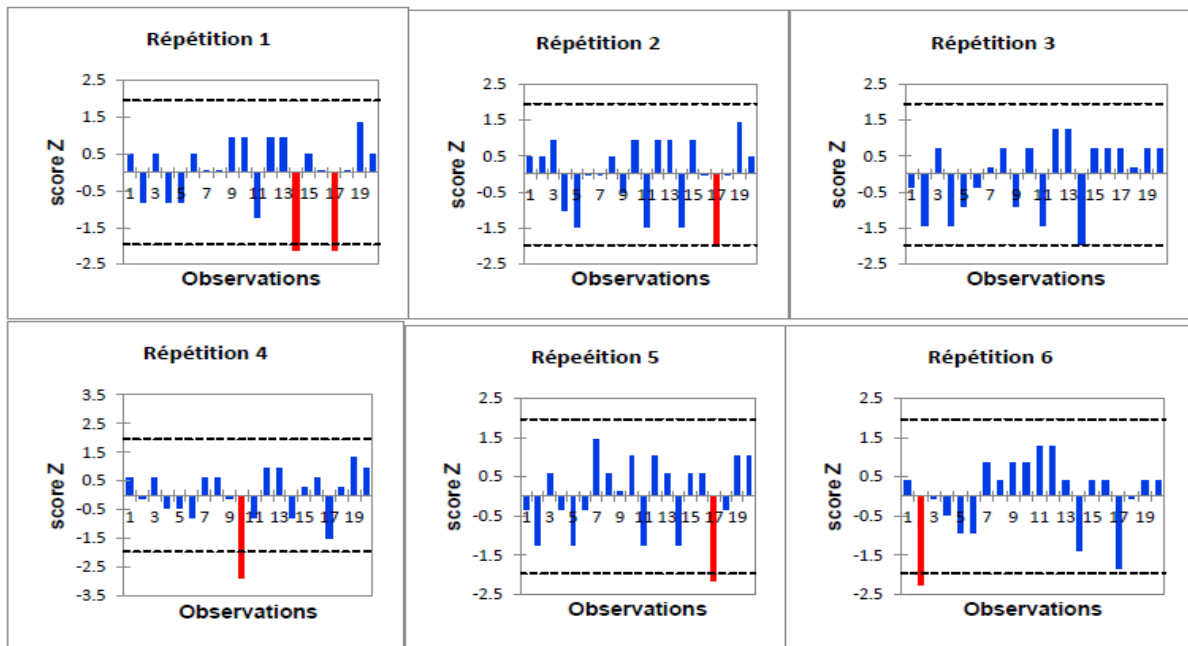
- Test de Dixon du paramètre GGT Architect ci 4100 niveau 2



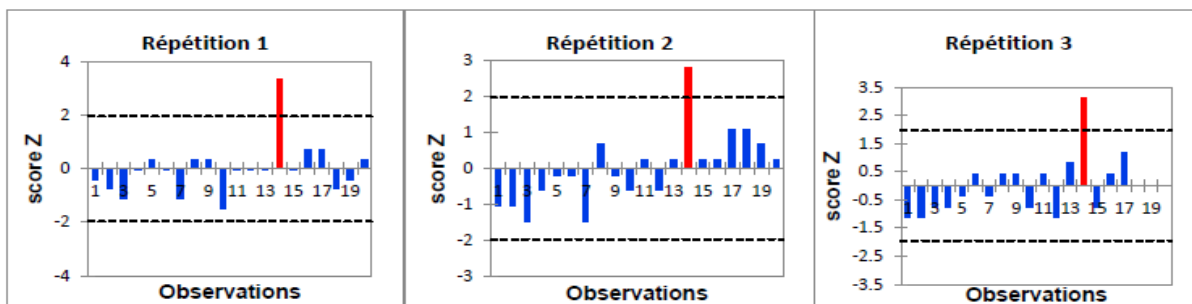
- Test de Dixon du paramètre BILI T Architect ci 4100 niveau 1



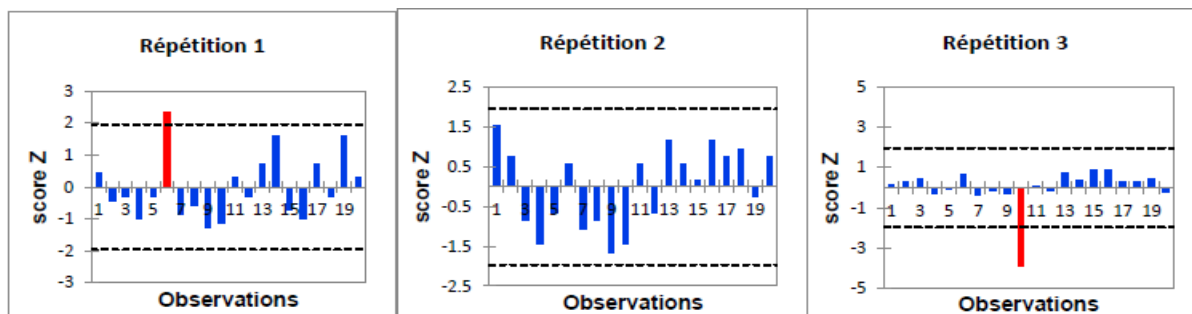
- Test de Dixon du paramètre BILI T Architect ci 4100 niveau 2



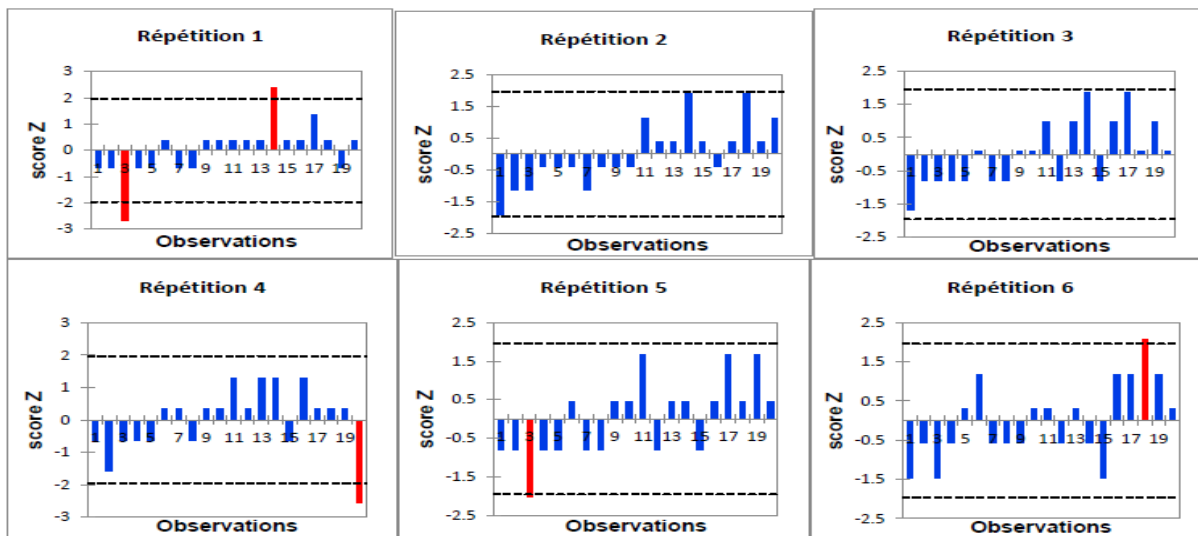
- Test de Dixon du paramètre Glucose Cobas Integra niveau 1.



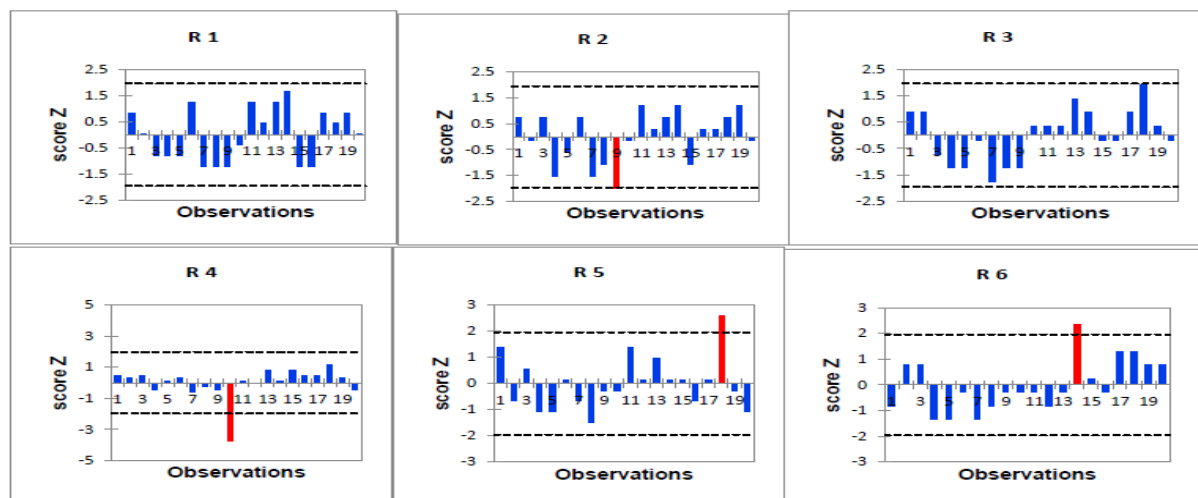
- Test de Dixon du paramètre Glucose Cobas Integra niveau 2.



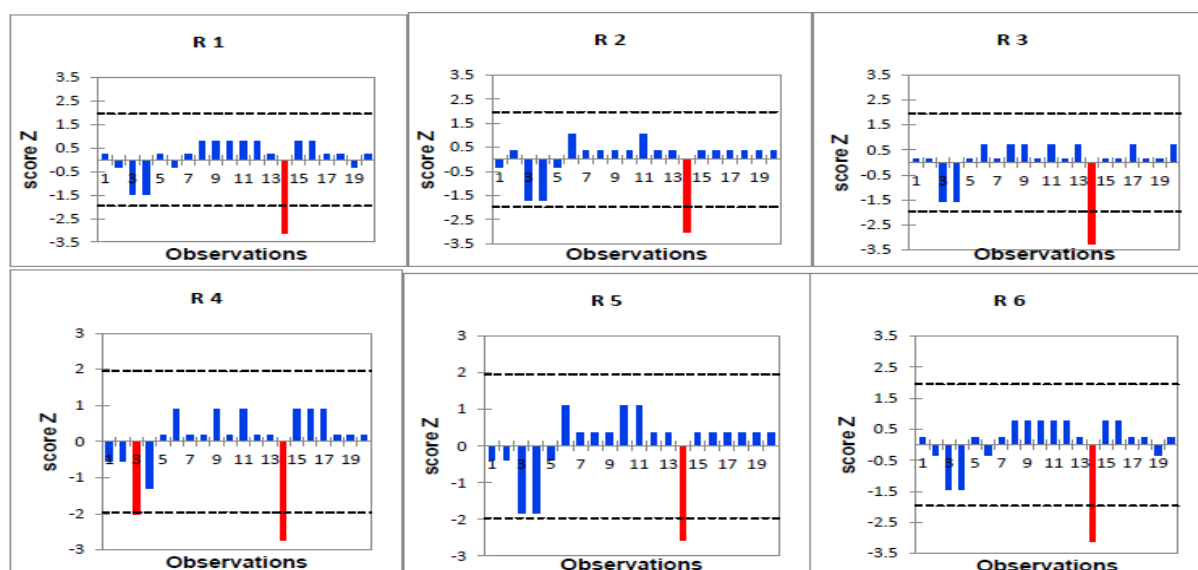
- Test de Dixon du paramètre Urée Cobas Integra niveau 1.



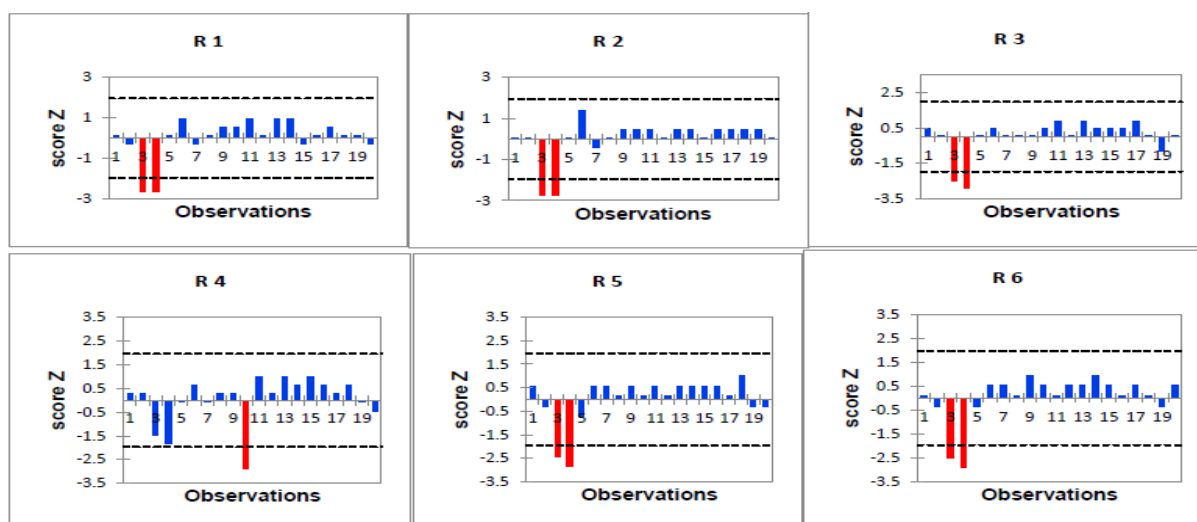
- Test de Dixon du paramètre Urée Cobas Integra niveau 2.



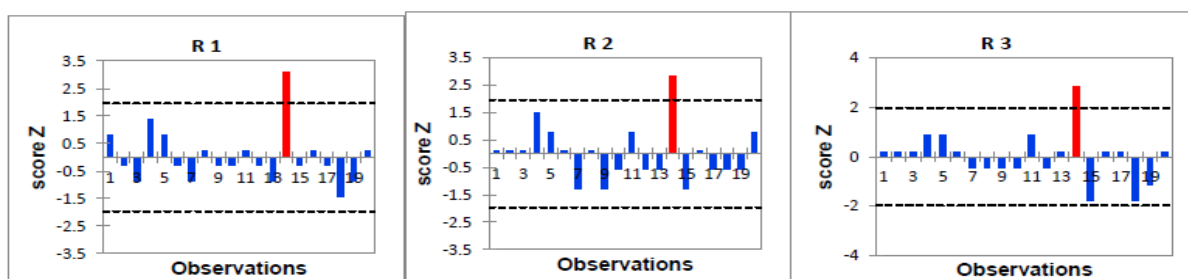
- Test de Dixon du paramètre Créatinine Cobas Integra niveau 1.



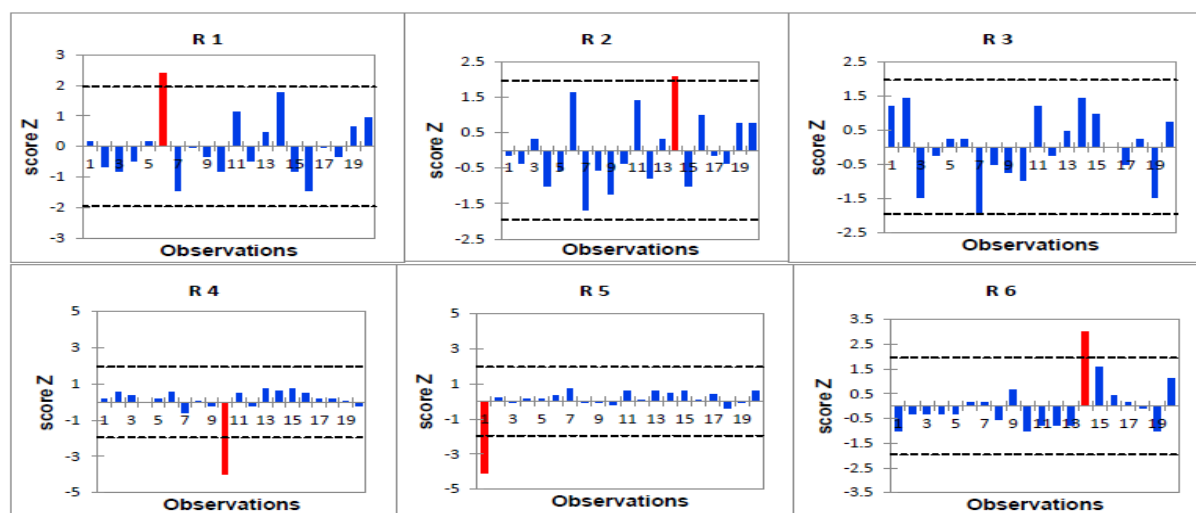
- Test de Dixon du paramètre Créatinine Cobas Integra niveau 2.



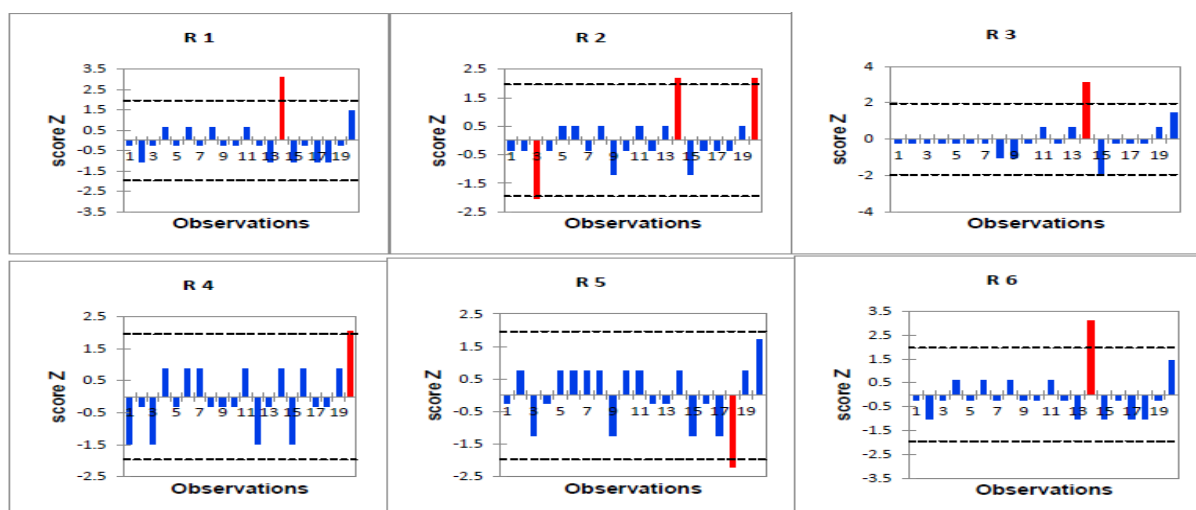
- Test de Dixon du paramètre ASAT Cobas Integra niveau 1.



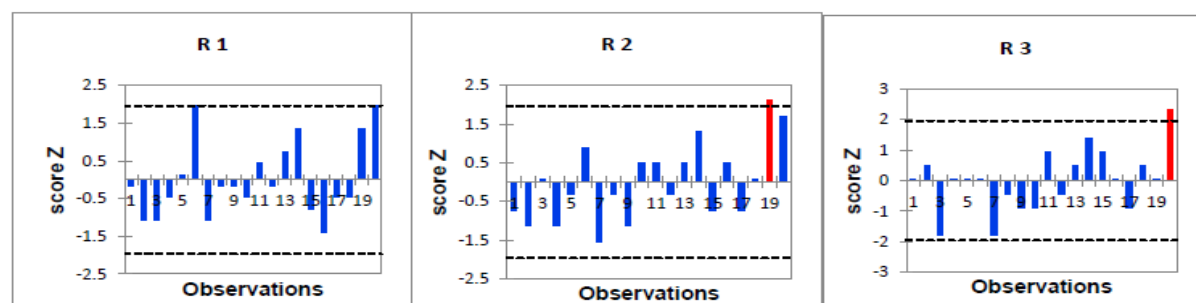
- Test de Dixon du paramètre ASAT Cobas Integra niveau 2.



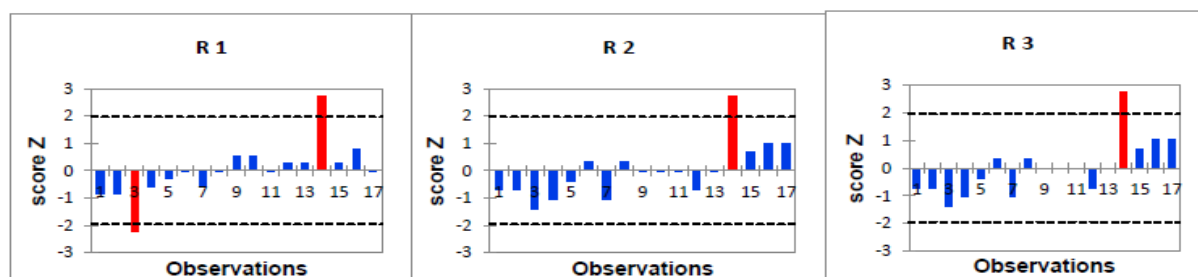
- Test de Dixon du paramètre ALAT Cobas Integra niveau 1.



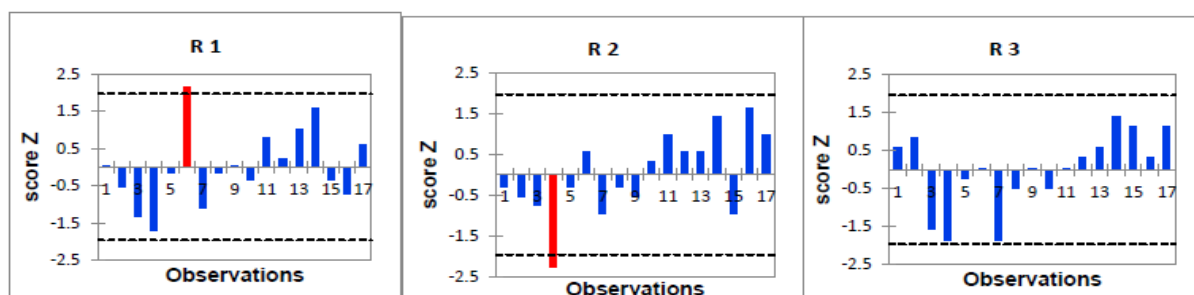
- Test de Dixon du paramètre ALAT Cobas Integra niveau 2.



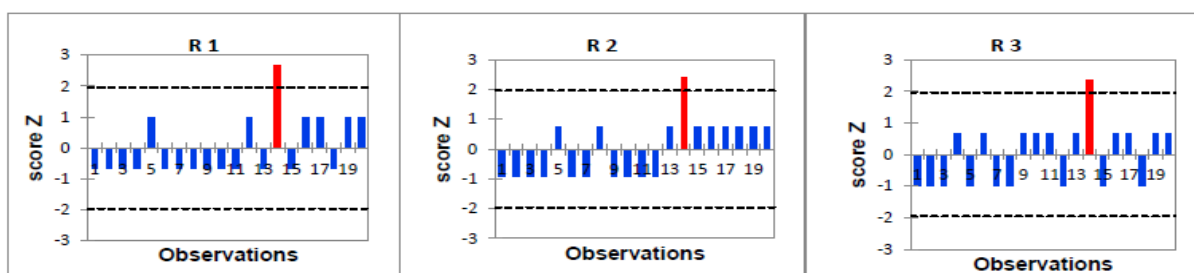
- Test de Dixon du paramètre GGT Cobas Integra niveau 1.



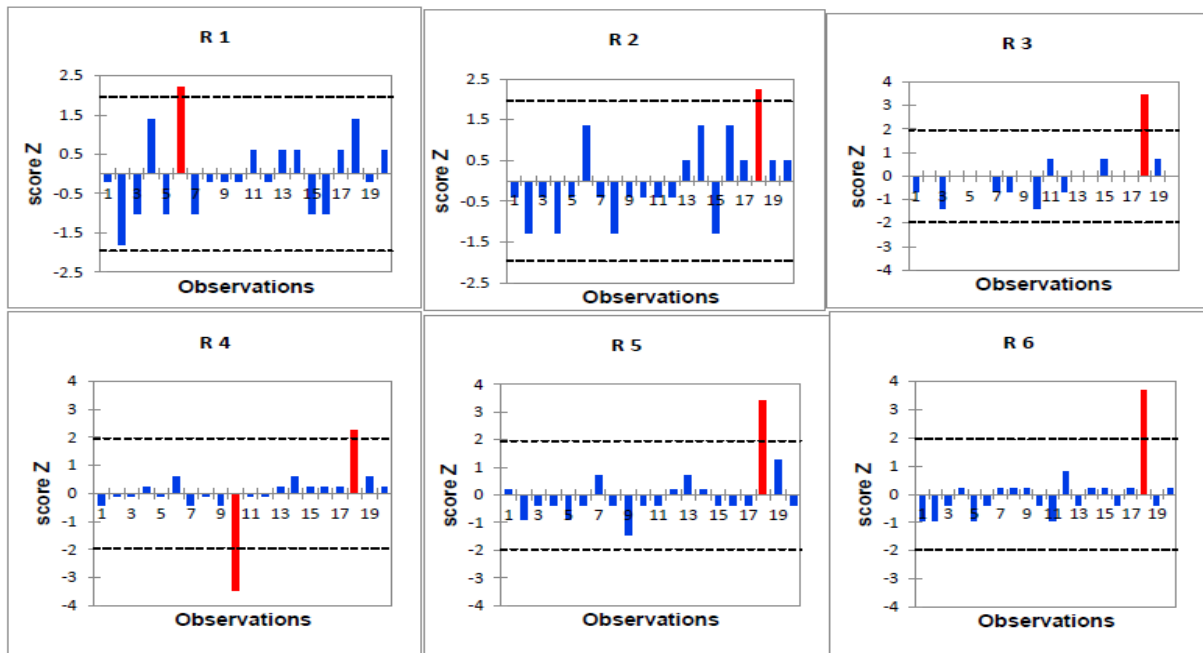
- Test de Dixon du paramètre GGT Cobas Integra niveau 2.



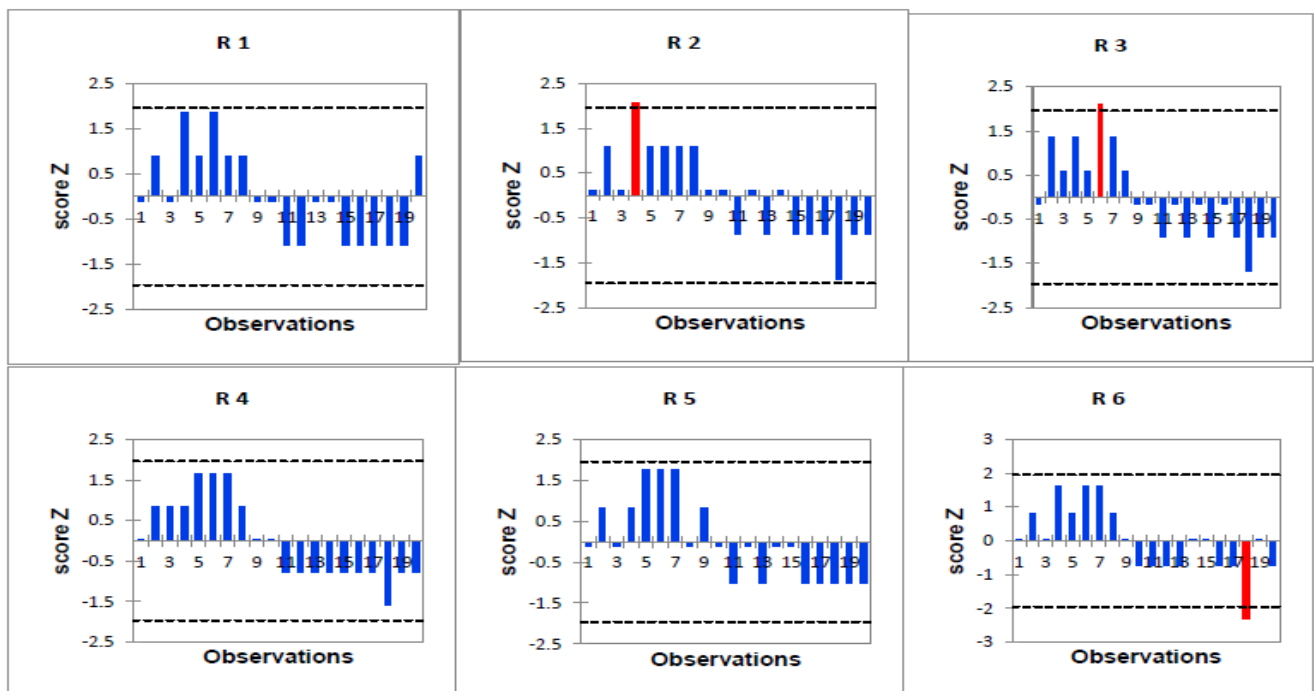
- Test de Dixon du paramètre BILI T Cobas Integra niveau 1.



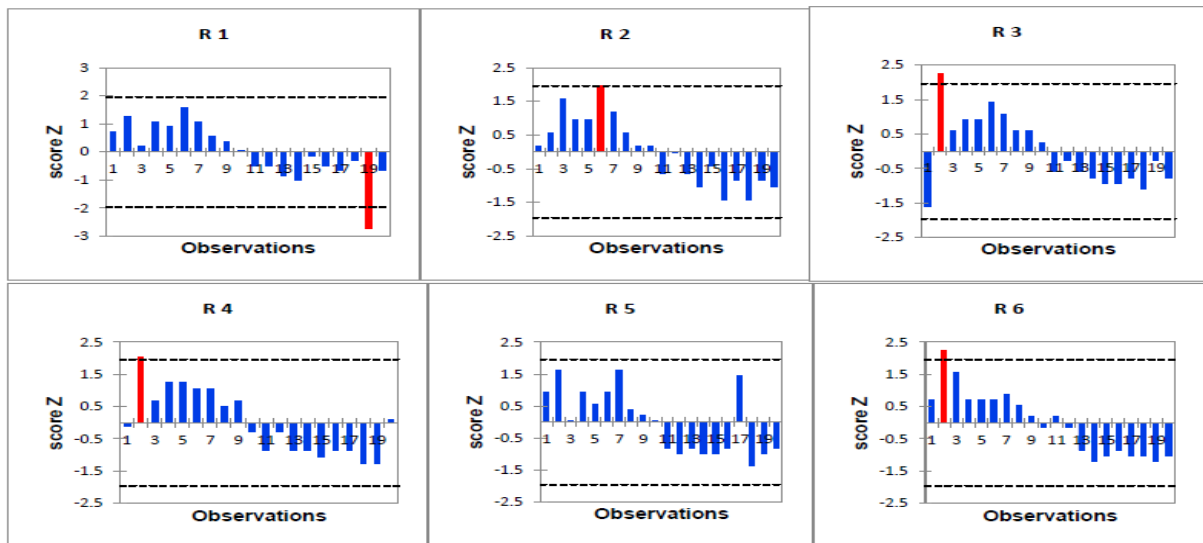
- Test de Dixon du paramètre BILI T Cobas Integra niveau 2.



- Test de Dixon du paramètre BILI T Xpand niveau 1.



- Test de Dixon du paramètre BILI T Xpand niveau 2.



Annexe VI :

- Limites d'acceptabilité proposées par la SFBC.

Tableau 3. Limites d'acceptabilité proposées

1	2	3	4	5			6	7			8			9			10			11						12	
Analyte	Unité	Domaine de mesure (indicatif)	Valeurs usuelles (indicatives) (adultes)	Niveaux			Intervalle %	Répétabilité CV %			Reproductibilité CV %			Justesse %			Inexactitude %			Comparaison de techniques							
				Bas	Moyen	Élevé		Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé		
Dosages plasmatiques																											
Acide urique	μmol/l	10-1 000	150-500	150	300	450	15	2,7	2,4	2,1	3,6	3,2	2,8	7,1	6,2	5,3	8,0	7,0	6,0	23	41	53	21	37	48		
Ammonium	μmol/l	1-1 000	10-50	50	100	200	20	5,3	4,5	3,8	7,0	6,0	5,0	7,1	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	15	25	42	7	13	25		
Bicarbonates	mmol/dl	5-50	20-29	10	20	30	15	7,5	6,0	4,5	10,0	8,0	6,0	6,6	6	5,3	12	10,0	8,0	4,2	6,8	7,6	1,3	2,4	3,2		
Bilirubine	μmol/l	5-400	5-17	15	50	150	15	5,1	4,2	3,2	6,8	5,6	4,2	13,4	10,6	11,2	15,0	12,0	12,0	4,3	11,9	26,7	4,0	10,6	33,7		
Calcium ionisé	mmol/dl	0,20-5,00	1,05-1,30	0,60	1,00	1,50	10	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7	2,3	2,3	2,3	0,04	0,07	0,10	0,03	0,05	0,07		
Calcium total	mmol/dl	0,50-5,00	2,25-2,60	1,80	2,40	3,40	4	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7	2,3	2,3	2,3	0,12	0,16	0,23	0,06	0,08	0,11		
Chlorure	mmol/dl	50-200	96-108	80	105	120	4	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,9	1,9	1,9	2,5	2,5	2,5	5,4	7,1	8,1	3,1	4,0	4,6		
Cholestérol	mmol/dl	0,5-10,0	3,2-6,5	3,0	5,0	8,0	10	3,0	3,0	3,0	4,0	4,0	4,0	5,7	5,7	5,7	7,0	7,0	7,0	0,51	0,85	1,36	0,34	0,57	0,92		
Chol. HDL	mmol/dl	0,2-5,0	1,0-2,0	0,8	1,4	2,2	10	4,5	4,5	4,5	6,0	6,0	6,0	8	8	8	10,0	10,0	10,0	0,20	0,36	0,56	0,13	0,22	0,35		
Créatinine	μmol/l	10-1 000	60-110	50	140	590	10	4,5	3,4	1,8	6,0	4,5	2,4	8	7,8	7,6	10,0	9,0	8,0	13	27	60	8	22	90		
Fer	μmol/l	0,5-100,0	90-300	5,0	20,0	40,0	15	6,0	3,8	3,0	8,0	5,0	4,0	12,7	8,7	6,9	15,0	10,0	8,0	1,7	4,2	6,8	1,3	3,5	5,5		
Femline	μg/l	2-1 500	10-350	20	200	800	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	8,3	6	6	13,0	10,0	10,0	8,5	68,0	272,0	3,3	24,0	96,0		
Folates	μg/l	0-20	2-9	1	4	15	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	11	8,9	8,9	15,0	12,0	12,0	0,42	1,35	5,00	0,30	0,70	2,70		
Fructosamines	μmol/l	10-1 000	200-265	200	400	600	10	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	8,7	7,5	6,2	10,0	9,0	8,0	42	85	127	35	60	75		
Glucose	mmol/dl	0,5-50,0	4,0-5,8	2,0	6,0	16,0	10	2,4	1,8	1,2	3,2	2,4	1,6	5,1	4,4	3,7	6,0	5,0	4,0	0,3	0,6	1,1	0,2	0,5	1,2		
Hb A1c	%	10-15,0	3,5-6,5	4,0	7,0	10,0	10	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	6,2	6,2	6,2	8,0	8,0	8,0	0,8	1,5	2,1	0,5	0,9	1,2		
Lactate	mmol/dl	0,2-15,0	0,4-2,0	1,0	3,0	8,0	20	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	6,7	6,7	6,7	10,0	10,0	10,0	0,21	0,64	1,70	0,17	0,52	1,39		
Magnésium	mmol/dl	0,10-4,00	0,70-1,00	0,50	0,90	1,60	10	3,0	2,4	2,4	4,0	3,2	3,2	4,5	5,1	5,1	6,0	6,0	6,0	0,08	0,12	0,22	0,04	0,09	0,16		
Phosphates	mmol/dl	0,20-5,00	0,60-1,50	0,50	1,50	3,00	10	3,0	2,5	1,8	4,0	3,3	2,4	3,9	4,5	5,1	5,6	5,6	5,6	0,08	0,21	0,31	0,04	0,14	0,30		
Potassium	mmol/dl	0,5-10,0	3,5-5,0	2,0	4,0	6,0	8	1,5	1,2	1,2	2,0	1,6	1,6	2,9	3,1	3,1	3,5	3,5	3,5	0,17	0,27	0,41	0,11	0,25	0,37		
Protéines tot.	g/l	20-120	60-76	40	65	90	6	2,4	1,8	1,8	3,2	2,4	2,4	3,8	3,8	3,2	5,0	4,5	4,0	5,4	6,6	9,2	3,1	4,9	5,8		
Sodium	mmol/dl	50-180	135-145	120	140	160	3	1,0	0,8	0,7	1,3	1,1	0,9	1,5	1,4	1,3	2,0	1,8	1,6	6,6	6,5	6,1	3,6	4,0	4,2		
Triglycérides	mmol/dl	0,20-15,00	0,40-1,80	0,50	1,50	3,00	15	4,2	3,6	3,6	5,6	4,8	4,8	8,3	6,4	6,4	10,0	8,0	8,0	0,12	0,31	0,61	0,08	0,19	0,38		
Urée	mmol/dl	0,5-50,0	2,5-7,5	2,5	10,0	25,0	15	4,5	3,0	1,9	6,0	4,0	2,5	10,4	6,9	4,3	12,0	8,0	5,0	0,6	1,7	2,7	0,5	1,4	2,2		
Dosages urinaires																											
Acide urique	mmol/dl	0,1-5,0	1,5-4,5	0,5	1,5	4,0	15	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	10,4	8,7	6,9	12,0	10,0	8,0	0,1	0,3	0,7	0,1	0,3	0,6		
Calcium	mmol/dl	0,1-5,0	1,5-7,5	1,0	2,5	4,0	10	3,0	3,0	3,0	4,0	4,0	4,0	10	10	10	8,0	7,0	6,0	0,2	0,4	0,7	0,2	0,5	0,8		
Chlorure	mmol/dl	10-175	26-130	30	80	140	10	3,8	3,0	2,3	5,0	4,0	3,0	8,7	4,5	4	10,0	6,0	5,0	6	14	18	5	7	11		
Créatinine	mmol/dl	0,5-25	8-18	1	8	20	10	4,5	3,8	3,8	6,0	5,0	5,0	8	6,2	6,2	10,0	8,0	8,0	0	2	4	0	1	3		
Glucose	mmol/dl	0,5-70,0	< 0,1	1,0	10,0	30,0	10	4,5	3,8	3,8	6,0	5,0	5,0	5,3	4,9	6,2	8,0	7,0	8,0	0,3	2,1	6,4	0,1	1,0	3,7		
Magnésium	mmol/dl	0,5-10,0	0,5-5,0	0,5	2,0	6,0	10	4,5	4,5	4,5	6,0	6,0	6,0	8	8	8	10,0	10,0	10,0	0,1	0,5	1,5	0,1	0,3	1,0		
Microalbumine [1]	mg/l	< 2-500	< 10	20	50	100	10	6,0	4,5	4,5	8,0	6,0	6,0	8,9	8	8	12,0	10,0	10,0	7	13	26	4	8	16		
Phosphates	mmol/dl	0,9-40,0	10,0-30,0	2,0	10,0	20,0	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	10,4	8	6,2	12,0	10,0	8,0	0,5	2,6	4,2	0,4	1,6	2,5		
Potassium	mmol/dl	2-300	25-130	20	100	200	10	3,8	3,8	3,0	5,0	5,0	4,0	4,9	4,9	4,5	7,0	7,0	6,0	4	21	34	2	10	18		
Protéines	g/l	0,10-2,00	< 0,15	0,20	0,60	1,20	10	6,8	5,3	3,8	9,0	7,0	5,0	17,9	13,3	8,7	20,0	15,0	10,0	0,08	0,18	0,25	0,07	0,16	0,21		
Sodium	mmol/dl	5-300	20-200	20	100	200	10	3,8	3,8	3,0	5,0	5,0	4,0	4,9	4,9	4,5	7,0	7,0	6,0	4	21	34	2	10	18		
Urée	mmol/dl	10-600	100-500	10	150	350	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	3	38	74	2	20	44		
Enzymes																											
5'nucléotidase	UI	0-50	0-5	10	20	50	15	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	3	5	11	2	3	6		
α-amylase	UI	0-500	< 80	50	150	400	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	13	38	85	8	20	50		
ALAT 37°C	UI	0-800	10-65	20	50	200	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	42	3	7	25		
ASAT 37°C	UI	0-800	10-45	20	50	200	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	42	3	7	25		
CK 37°C	UI	0-500	30-160	50	100	400	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	13	26	85	8	13	50		
GGT 37°C	UI	0-300	10-65	20	50	390	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	83	3	7	49		
LDH 37°C	UI	0-1 200	210-450	150	300	900	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	38	76	191	24	40	112		
Uipase (turbidimétrie)	UI	...	0-700	50-190	80	200	400	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	20	8,01	85	13	27	50

- Valeurs de variation biologique proposées par RICOS.

		BIOLOGICAL VARIATION		DESIRABLE SPECIFICATIONS			
ANALYTE		CV _w	CV _b	Imp (%)	Bias (%)	TE _a (%) p<0.05	TE _a (%) p<0.01
S	* Bilirubin, total	21.8	28.4	10.9	9.0	26.9	34.3
S	Creatinine	6.0	14.7	3.0	4.0	8.9	11.0
S	* Glucose	5.6	7.5	2.8	2.3	7.0	8.9
S	* Urea	8.6	17.5	4.3	4.9	12.0	14.9
S	* Alanine aminotransferase	19.4	41.6	9.7	11.5	27.5	34.1
S	* Aspartate aminotransferase	12.3	23.1	6.2	6.5	16.7	20.9

- Erreur Total Admissible (ETA) selon les différentes références.

ANALYTE	LAB GTA 006		Suisse		France		Europe du Nord	États-Unis	Randox
	Vassault et al.* [1]	Ricos et al.** [2]	Qualib	CSCQ	Afssaps (CQN)*	Probioqual*	Labquality	CLIA 1988	RIQAS
Électrolytes									
Bicarbonates	20,0	-	-	20,0	16,0	16,0	-	-	10,0
Calcium	4,6	2,4	12,0	4,0	5,0	4,0	3,0	10,0	3,7
Chlorures	5,0	1,5	9,0	3,0	5,0	4,0	2,0	5,0	3,0
Fer	20,0	30,7	20,0	8,0	20,0	10,0	12,0	20,0	10,3
Lithium	16,0	-	-	6,0	16,0	10,0	-	-	7,0
Magnésium	12,0	4,8	20,0	4,0	12,0	10,0	6,0	25,0	6,9
Phosphates	11,2	10,2	15,0	6,0	11,2	7,0	6,0	-	5,9
Potassium	7,0	5,8	9,0	3,0	7,0	4,0	4,0	12,5	2,6
Sodium	3,6	0,9	9,0	2,0	3,6	2,5	2,0	2,9	1,6
Substrats									
Acide urique	14,0	11,9	15,0	10,0	14,0	9,0	8,0	17,0	7,0
Bilirubine totale	24,0	31,1	20,0	20,0	24,0	12,0	12,0	20,0	10,5
Bilirubine conjuguée	-	44,5	-	25,0	24,0	20,0	-	-	25,0
Cholestérol total	14,0	9,0	10,0	7,0	10,0	6,0	5,0	10,0	5,0
Cholestérol HDL	20,0	11,1	30,0	12,0	20,0	12,0	10,0	30,0	12,0
Créatinine	18,0	6,9	20,0	15,0	18,0	10,0	8,0	15,0	7,0
Glucose	10,0	6,9	10,0	7,0	10,0	6,0	6,0	10,0	4,5
Lactates	20,0	-	-	15,0	16,0	12,0	-	-	-
Triglycérides	16,0	27,9	20,0	15,0	15,0	12,0	15,0	25,0	10,0
Urée	16,0	15,7	20,0	7,0	15,0	8,0	10,0	9,0	5,2
Enzymes									
ALAT	18,0	32,1	21,0	15,0	16,0	12,0	12,0	20,0	10,9
ASAT	18,0	15,2	21,0	15,0	16,0	12,0	12,0	20,0	10,0
Amylase totale	18,0	14,6	30,0	20,0	16,0	15,0	12,0	30,0	10,0
CK totale	18,0	30,3	30,0	20,0	18,0	15,0	12,0	30,0	11,4
GGT	18,0	22,2	21,0	15,0	18,0	12,0	12,0	-	10,0
LDH	18,0	11,4	21,0	15,0	18,0	12,0	12,0	20,0	10,0
Lipase	20,0	29,1	-	25,0	18,0	15,0	-	-	16,0
PAL	18,0	11,7	21,0	15,0	16,0	12,0	-	30,0	10,0
Protéines									
Protéines totales	9,0	3,4	15,0	3,0	9,0	5,0	5,0	10,0	3,5
CRP	20,0	56,6	21,0	20,0	20,0	12,0	15,0	-	22,1
IgA	18,0	13,5	25,0	20,0	18,0	12,0	15,0	-	10,5
IgG	20,0	8,0	25,0	20,0	20,0	12,0	8,0	-	8,4
IgM	18,0	16,8	25,0	20,0	18,0	12,0	15,0	-	15,8

Annexe VII

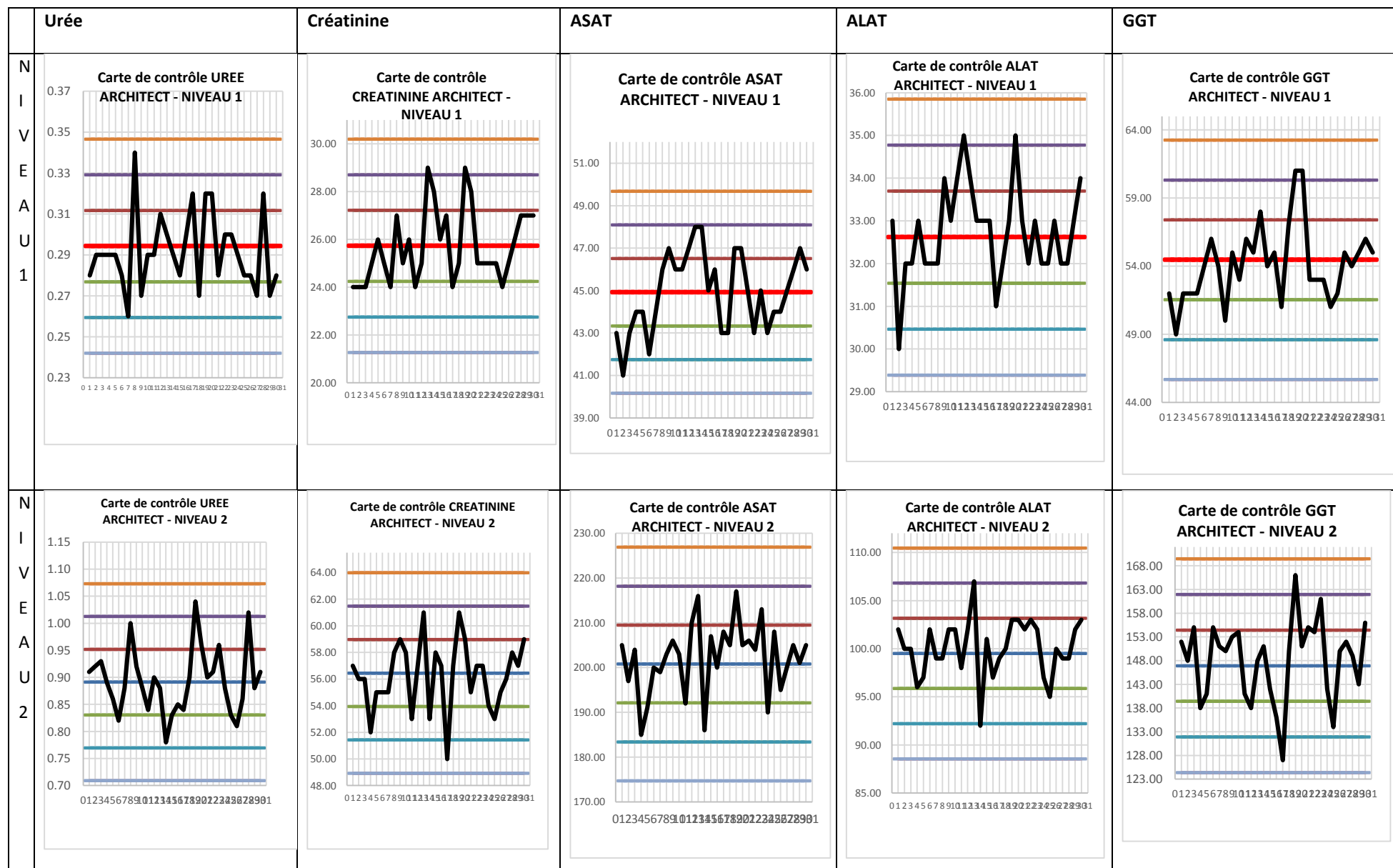
Tableau récapitulatif des pourcentages de respect des règles Westgard.

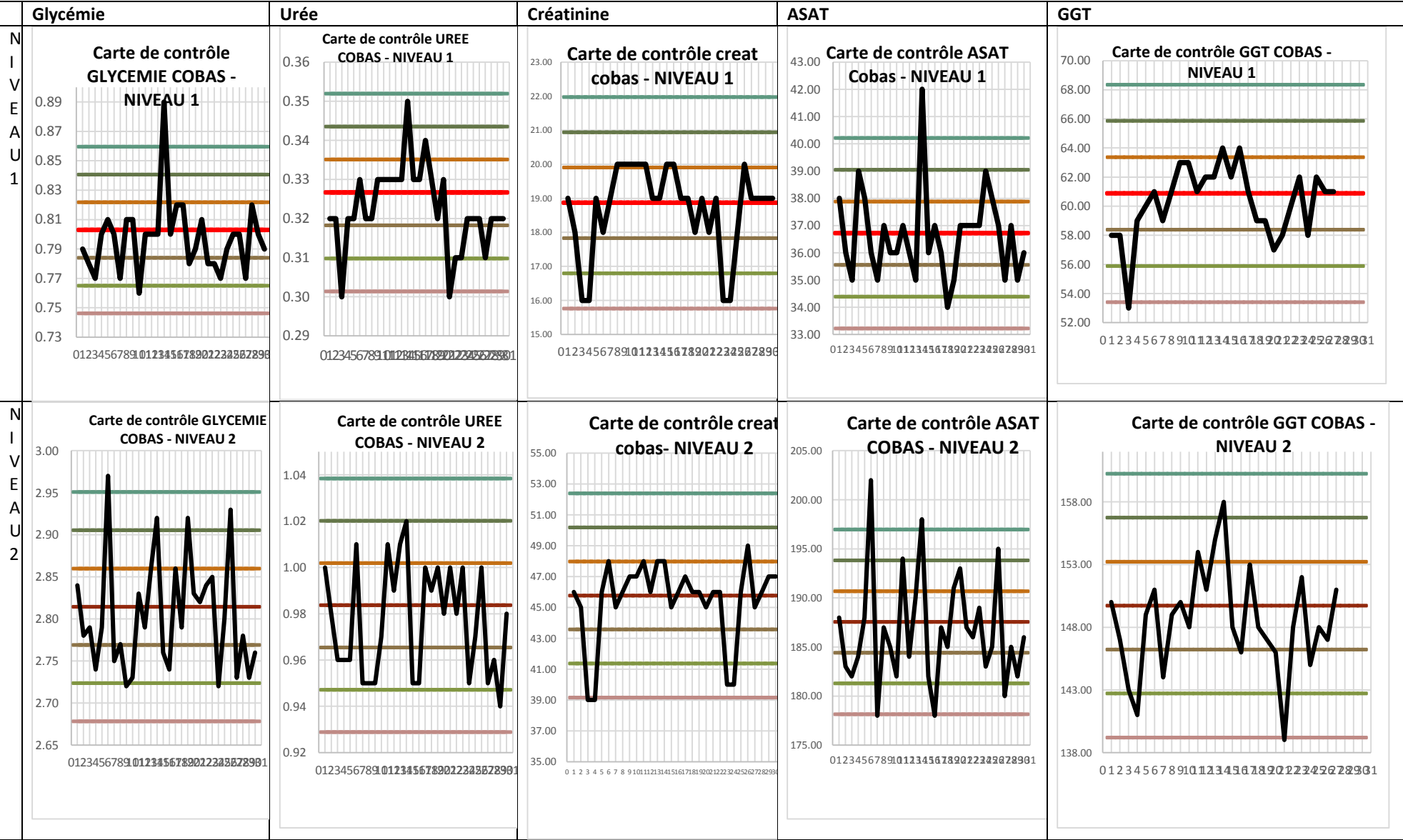
REGLES WESTGARD		
PARAMETRE	AUTOMATE	% RESPECT
GLUCOSE	ARCHITECT	100%
	COBAS	90%
UREE	ARCHITECT	100%
	COBAS	93.33%
CREATININE	ARCHITECT	100%
	COBAS	83.33%
ASAT	ARCHITECT	93.33%
	COBAS	76.67%
ALAT	ARCHITECT	96.67%
	COBAS	90%
GGT	ARCHITECT	96.67%
	COBAS	93.33%
BILI TOTAL	ARCHITECT	96.67%
	COBAS	83.33%
	XPAND	100%

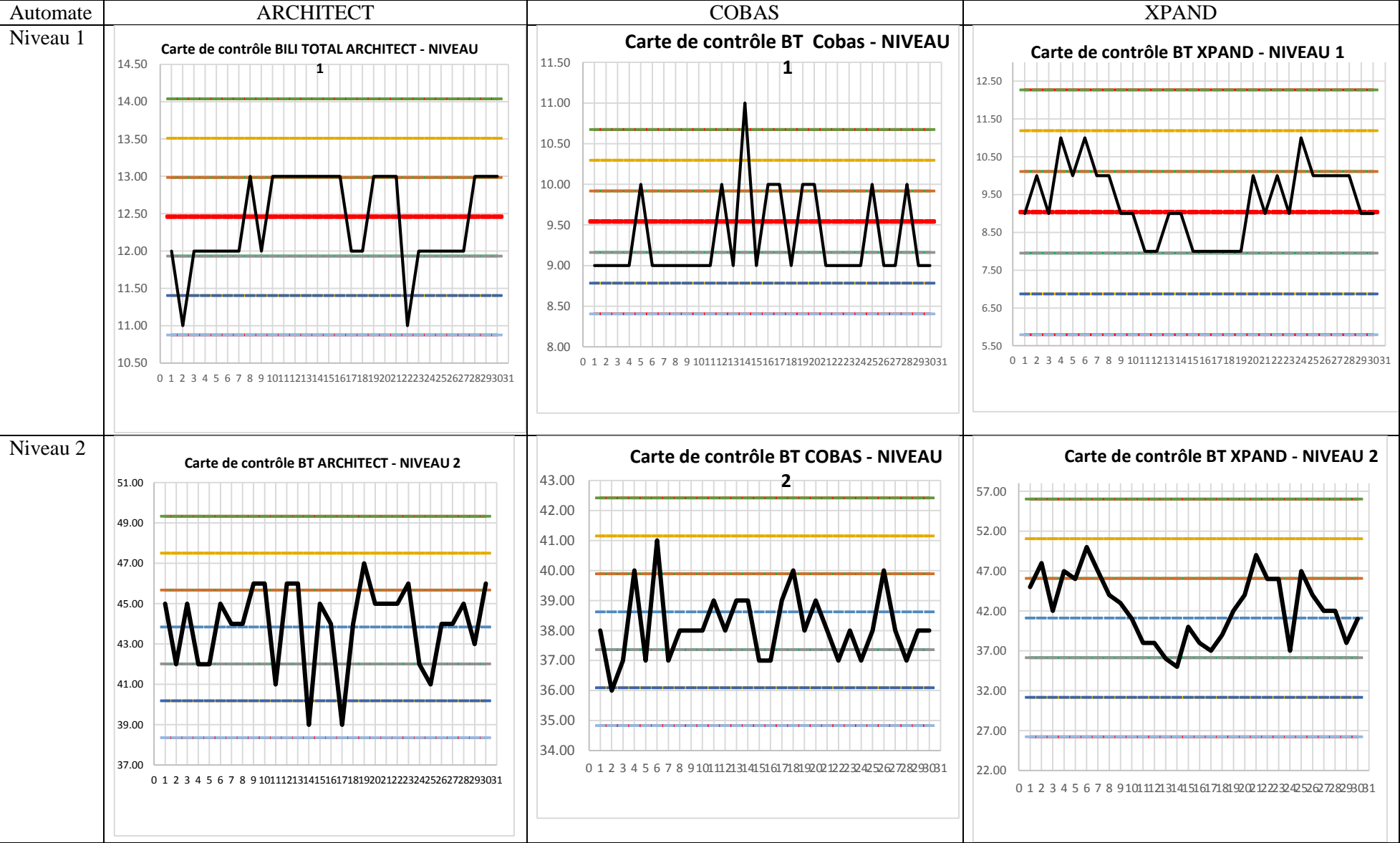
Tableau récapitulatif des pourcentages Z Score entre automates.

Z SCORE ENTRE AUTOMATES										
		ARCHITECT			COBAS			XPOND		
		En dehors INTERVALLE	NOMBRE	% REJET	En dehors INTERVALLE	NOMBRE	% REJET	En dehors INTERVALLE	NOMBRE	% REJET
GLYCEMIE	NIVEAU 1	[-1; 1]	9	30.00	[-1; 1]	10	33.33			
		[-2; 2]	0	0.00	[-2; 2]	2	6.67			
	NIVEAU 2	[-1; 1]	9	30.00	[-1; 1]	14	46.67			
		[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	4	13.33			
UREE	NIVEAU 1	[-1; 1]	10	33.33	[-1; 1]	7	23.33			
		[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	3	10.00			
	NIVEAU 2	[-1; 1]	7	23.33	[-1; 1]	16	53.33			
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	1	3.33			
CREATININE	NIVEAU 1	[-1; 1]	11	36.67	[-1; 1]	12	40.00			
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	4	13.33			
	NIVEAU 2	[-1; 1]	7	23.33	[-1; 1]	5	16.67			
		[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	4	13.33			
ASAT	NIVEAU 1	[-1; 1]	15	50.00	[-1; 1]	13	43.33			
		[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	1	3.33			
	NIVEAU 2	[-1; 1]	8	26.67	[-1; 1]	17	56.67			
		[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	6	20.00			
ALAT	NIVEAU 1	[-1; 1]	8	26.67	[-1; 1]	9	30.00			
		[-2; 2]	3	10.00	[-2; 2]	2	6.67			
	NIVEAU 2	[-1; 1]	4	13.33	[-1; 1]	15	50.00			
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	9	30.00			
GGT	NIVEAU 1	[-1; 1]	7	23.33	[-1; 1]	8	26.67			
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	1	3.33			
	NIVEAU 2	[-1; 1]	8	26.67	[-1; 1]	9	30.00			
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	3	10.00			
BT	NIVEAU 1	[-1; 1]	2	6.67	[-1; 1]	30	100.00	[-1; 1]	3	10.00
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	0	0.00
	NIVEAU 2	[-1; 1]	11	36.67	[-1; 1]	13	43.33	[-1; 1]	9	30.00
		[-2; 2]	2	6.67	[-2; 2]	1	3.33	[-2; 2]	0	0.00

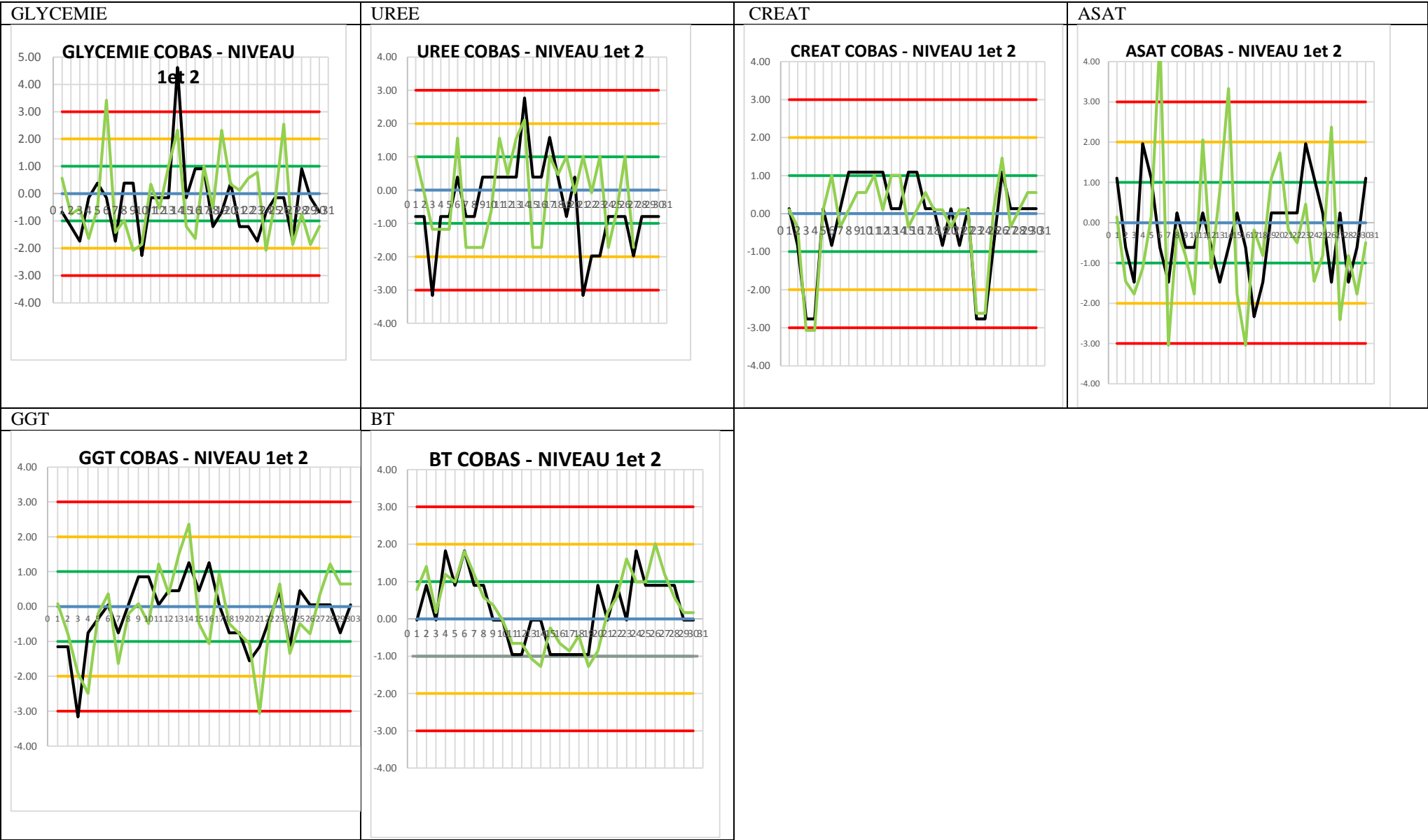
Annexe VIII : Cartes de contrôles levey jenning niveau 1 et 2

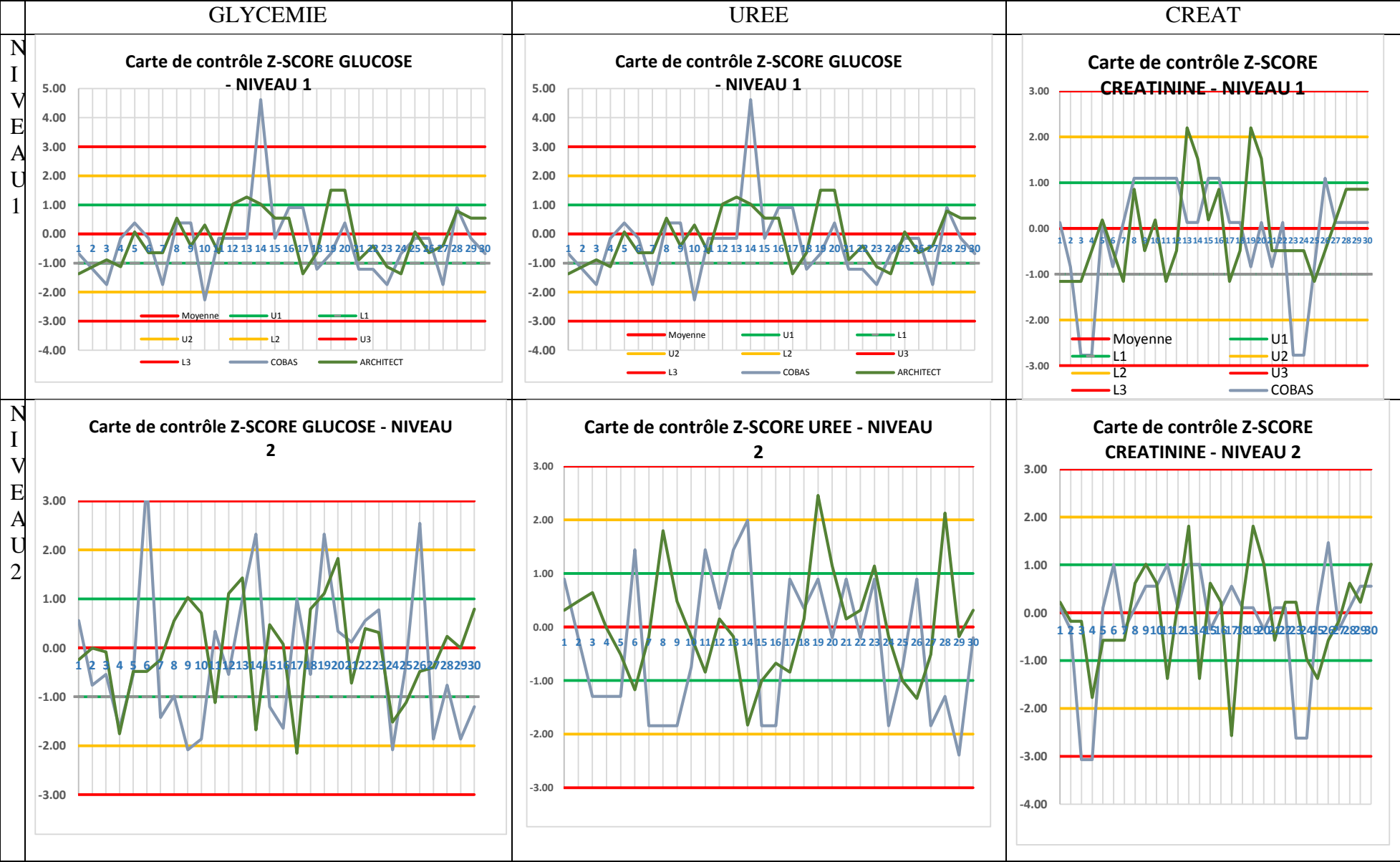


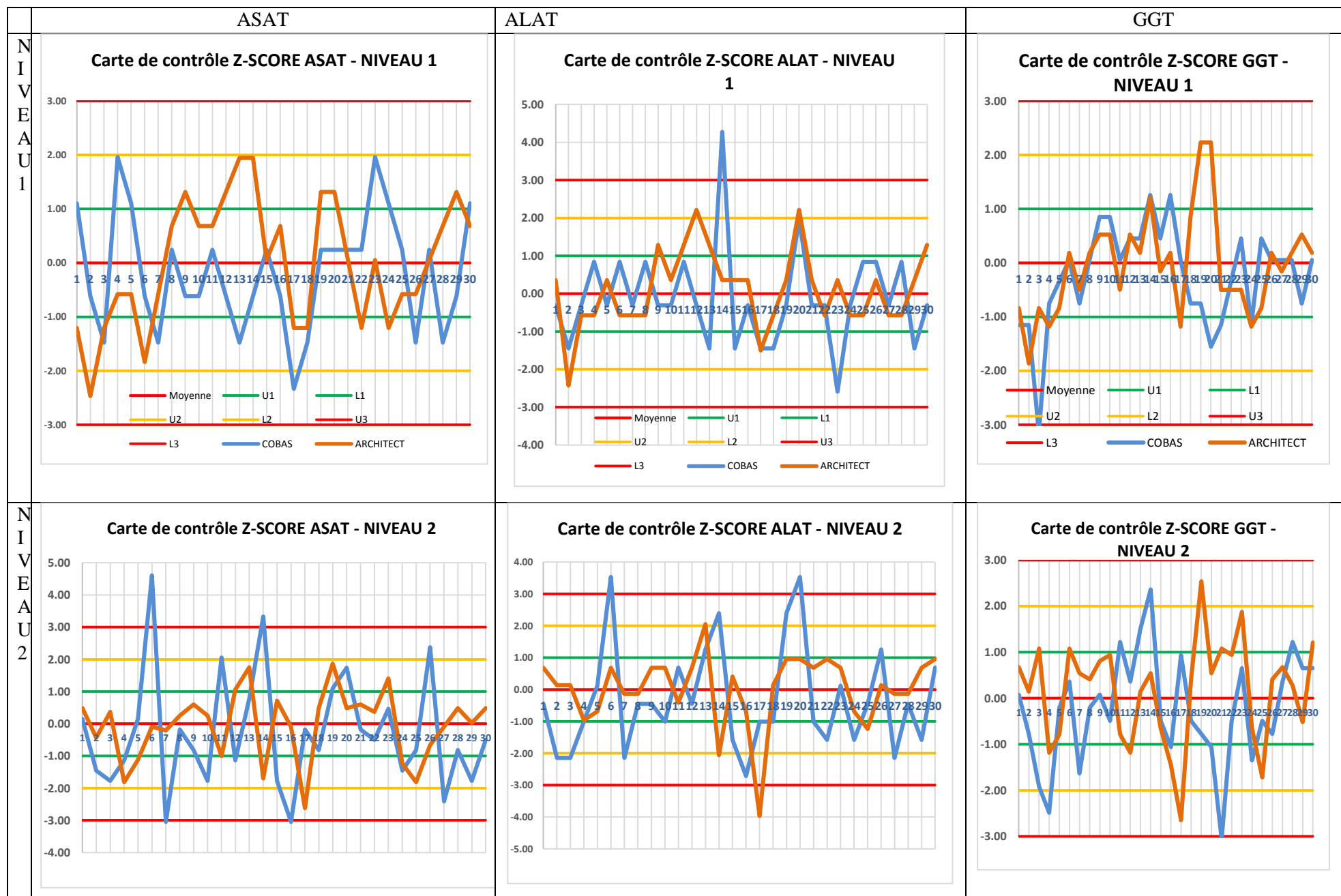




Annexe IX : Cartes Z Score

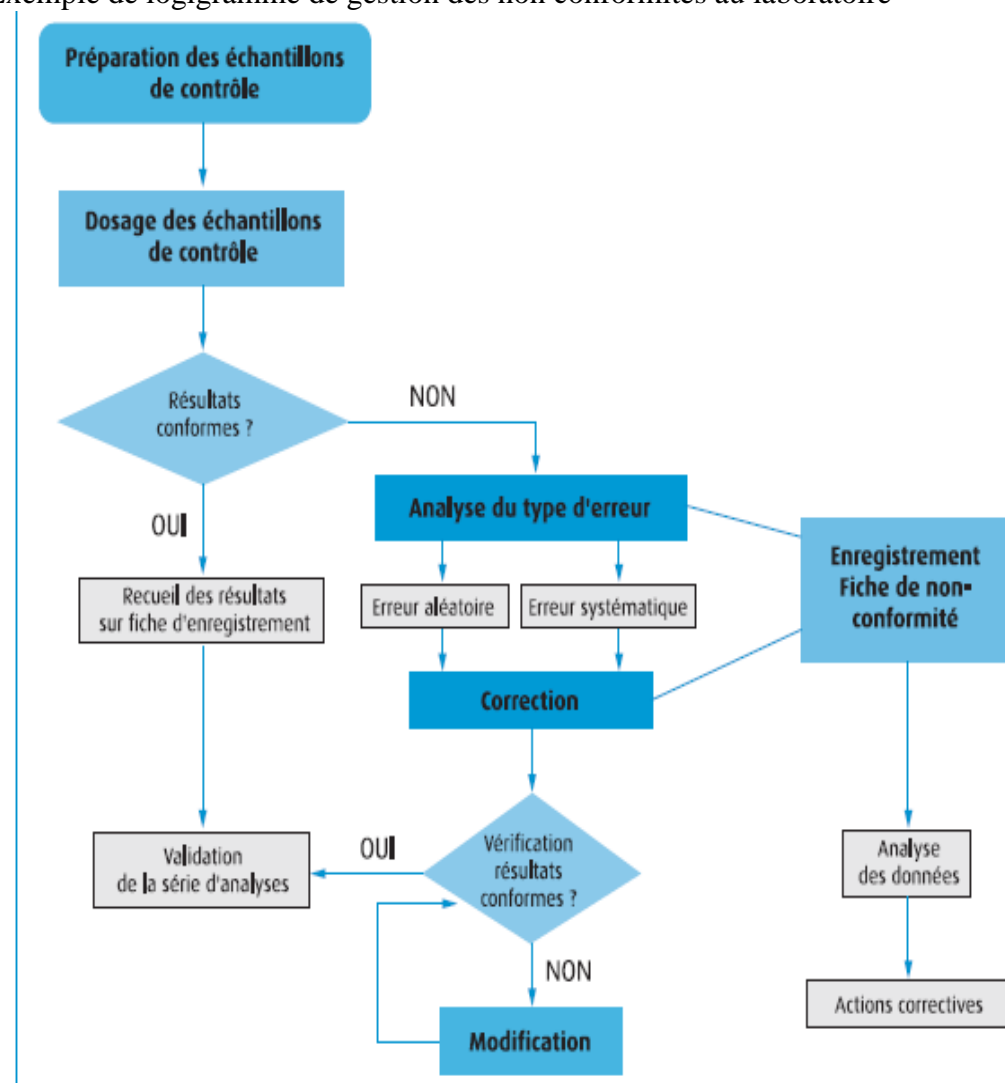






Annexe X

Exemple de logigramme de gestion des non conformités au laboratoire



Annexe XI

Fiches techniques



ARCHITECT® / AEROSET®

GLUCOSE

This package insert contains information to run the Glucose assay on the ARCHITECT cSystems™ and the AEROSET System.

NOTE: Changes Highlighted

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling			
	Calibrators 1 and 2		Catalog number/List number
	Concentration		Serial number
	Authorized Representative in the European Community		Consult instructions for use
	Ingredients		Manufacturer
	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Batch code/Lot number		Use by/Expiration date
	Reagent 1		



ABBOTT
Abbott Park, IL 60064, USA
EC REP
ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65255 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580



GLUCOSE
REF 3L82-20 and 3L82-40
30-3941/R4

NAME
GLUCOSE

INTENDED USE

The Glucose assay is used for the quantitation of glucose in human serum, plasma, urine, or cerebrospinal fluid (CSF).

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Blood glucose determinations are the most frequently performed clinical chemistry laboratory procedures, commonly used as an aid in the diagnosis and treatment of diabetes. Elevated glucose levels (hyperglycemia) may also occur with pancreatic neoplasm, hyperthyroidism, and adrenal cortical hyperfunction as well as other disorders. Decreased glucose levels (hypoglycemia) may result from excessive insulin therapy or various liver diseases.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

Glucose is phosphorylated by hexokinase (HK) in the presence of adenosine triphosphate (ATP) and magnesium ions to produce glucose-6-phosphate (G-6-P) and adenosine diphosphate (ADP). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) specifically oxidizes G-6-P to 6-phosphogluconate with the concurrent reduction of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) to nicotinamide adenine dinucleotide reduced (NADH). One micromole of NADH is produced for each micromole of glucose consumed. The NADH produced absorbs light at 340 nm and can be detected spectrophotometrically as an increased absorbance.

Methodology: Hexokinase/G-6-PDH

REAGENTS

Reagent Kit

Glucose is supplied as a liquid, ready-to-use, single reagent kit which contains:

REF 3L82-20, RT1 10 x 55 mL
Estimated tests per kit: 9,000*

REF 3L82-40, RT1 10 x 90 mL
Estimated tests per kit: 15,000*

* Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
RT1 NAD	5.0 mg/mL
G-6-PDH	3,000 U/L
Hexokinase	15,000 U/L
ATP · 2Na	9.0 mg/mL

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 30 days if the reagent is uncapped and onboard.

Indications of Deterioration

Deterioration should be suspected if there are visible signs of leakage, extreme turbidity, microbial growth, or if quality control results are outside of the acceptable range defined by your laboratory.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.¹ Biosafety Level 2² or other appropriate biosafety practices^{3,4} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum, plasma, urine, and CSF are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier), sodium heparin, sodium fluoride/potassium oxalate, and EDTA. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

- Urine:** Preserve 24 hour samples by adding 5 mL glacial acetic acid to the container before starting the collection.⁵

- CSF:** Process immediately to avoid falsely low results.⁶

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Glucose in whole blood stored at room temperature is metabolized at a rate of approximately 5% per hour.⁷

Temperature	Maximum Storage			Bibliographic Reference
	Serum/Plasma*	Urine	CSF	
20 to 25°C	1 day	2 hours	3 days	8
2 to 8°C	7 days	2 hours	> 1 month	8, 9
-20°C	1 day	2 days	no recommendation	8

* Stabilized with sodium fluoride/potassium oxalate.

Guder et al.⁸ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time intervals cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

REF 3L82-20 or 3L82-40 Glucose Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- REF 1E65 Multiconstituent Calibrator, CAL 1-2 3 x 5 mL
- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSET System have automatic dilution features; refer to Section 2 of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with glucose values exceeding 800 mg/dL (44 mmol/L) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Urine and CSF: Specimens with glucose values exceeding 800 mg/dL (44 mmol/L) are flagged and may be diluted using the Manual Dilution Procedure, or an automatic dilution may be configured. Refer to Section 2 of the instrument-specific operations manual for additional information.

PROCEDURE (Continued)

Serum/Plasma Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a 1:5 dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution. For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 30 days (720 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

For information on calibrator standardization, refer to the Multiconstituent Calibrator package insert.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent or calibrator lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- **ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C**
- **AEROSSET System Operations Manual—Appendix A**

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

The American Diabetes Association recommends use of a fasting glucose concentration of 99 mg/dL (5.5 mmol/L) as the upper limit of "normal".^{10,11} Population reference ranges in various texts and publications may differ.

Serum/Plasma¹²

Fasting	Range (mg/dL)	Range (mmol/L)
Cord	45 to 96	2.50 to 5.33
Premature	20 to 60	1.11 to 3.33
Neonate	30 to 60	1.67 to 3.33
Newborn, 1 day	40 to 60	2.22 to 3.33
Newborn, > 1 day	50 to 80	2.78 to 4.44
Child	60 to 100	3.33 to 5.55
Adult	70 to 105	3.89 to 5.83
> 60 years	80 to 115	4.44 to 6.38
> 70 years	83 to 110	4.61 to 6.10

EXPECTED VALUES (Continued)

Urine¹²

	Range	Range
Random	1 to 15 mg/dL	0.1 to 0.8 mmol/L
24 hour	< 0.5 g/day	< 2.8 mmol/day

Cerebrospinal Fluid¹²

	Range (mg/dL)	Range (mmol/L)
Infant, Child	60 to 80	3.33 to 4.44
Adult	40 to 70	2.22 to 3.89

To convert results from mg/dL to mmol/L, multiply mg/dL by 0.0555.

To convert results from g/day to mmol/day, multiply g/day by 5.55.

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

24 Hour Urinary Excretion

To convert results from mg/dL to g/day (24 hour urinary excretion)

$$\begin{aligned}\text{Where: } V &= 24 \text{ hour urine volume (mL)} \\ c &= \text{analyte concentration (mg/dL)} \\ 24 \text{ hour excretion} &= [(V \times c) \div 100,000] \text{ g/day}\end{aligned}$$

To convert results from mmol/L to mmol/day (24 hour urinary excretion)

$$\begin{aligned}\text{Where: } V &= 24 \text{ hour urine volume (mL)} \\ c &= \text{analyte concentration (mmol/L)} \\ 24 \text{ hour excretion} &= [(V \times c) \div 1000] \text{ mmol/day}\end{aligned}$$

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Glucose serum is linear from 5 to 800 mg/dL (0.28 to 44.40 mmol/L). Glucose urine/CSF is linear from 1 to 800 mg/dL (0.06 to 44.40 mmol/L).

Limit of Detection (LOD)

The LOD for Glucose serum is 2.5 mg/dL (0.139 mmol/L). The LOD for Glucose urine/CSF is 1.0 mg/dL (0.056 mmol/L). The LOD is the lowest amount of analyte in a sample that can be detected with 95% probability.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for Glucose in serum and plasma specimens is 5.0 mg/dL (0.278 mmol/L). The LOQ for Glucose in urine/CSF specimens is 1.0 mg/dL (0.056 mmol/L). The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference effects were assessed by Dose Response method at the medical decision levels of the analyte.

Medical Decision Level 1				
Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (mg/dL)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	83.1	99.89
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	83.1	100.11
Hemoglobin	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	78.2	95.59
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	78.2	91.74
Intralipid	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	81.0	98.21
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	81.0	97.84

Medical Decision Level 2				
Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (mg/dL)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	126.3	100.66
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	126.3	101.14
Hemoglobin	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	118.3	98.29
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	118.3	96.03
Intralipid	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	119.1	99.70
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	119.1	99.58

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

For the urine application, protein up to 50 mg/dL, sodium oxalate up to 60 mg/dL, ascorbate up to 200 mg/dL, acetic acid (8.5 N) up to 6.25 mL/dL, boric acid up to 250 mg/dL, hydrochloric acid (6 N) up to 2.5 mL/dL, nitric acid (6 N) up to 5.0 mL/dL, sodium fluoride up to 400 mg/dL, and sodium carbonate up to 1.25 g/dL demonstrated less than 10% interference.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹³

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS (Continued)

Precision

The imprecision of the Glucose assay is ≤ 5% Total CV for serum and CSF and ≤ 6% Total CV for urine. Representative data from studies using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP5-A¹⁴ are summarized below.

Serum

Control	Level 1	Level 2
N	80	80
Mean (mg/dL)	79.6	281.3
Within Run	SD	1.58
	%CV	1.98
Between Run	SD	0.67
	%CV	0.84
Between Day	SD	0.00
	%CV	0.00
Total	SD	1.71
	%CV	2.15

Urine

Control	Level 1	Level 2
N	50	50
Mean (mg/dL)	29.9	305.9
Within Run	SD	0.30
	%CV	0.99
Between Run	SD	0.40
	%CV	1.33
Between Day	SD	0.00
	%CV	0.00
Total	SD	0.49
	%CV	1.66

CSF

Control	Level 1	Level 2
N	50	50
Mean (mg/dL)	60.4	29.0
Within Run	SD	0.57
	%CV	0.95
Between Run	SD	0.74
	%CV	1.23
Between Day	SD	0.00
	%CV	0.00
Total	SD	0.94
	%CV	1.55

Accuracy

The bias for Glucose serum is ≤ 6% or ± 1 mg/dL, whichever is greater, and the Total Error for serum is ≤ 16%. Representative data from studies using NIST traceable standards and comparing the results with NIST certified concentrations are summarized below.

N	12
Concentration	80.70
% Bias	2.70
Total Error Serum	4.82

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A2.¹⁵

Serum, urine, and CSF results from the Glucose assay on an ARCHITECT cSystem were compared with those from a commercially available hexokinase/G-6-PDH methodology.

Serum, urine, and CSF results from the Glucose assay on an ARCHITECT cSystem were compared with those from the Glucose assay on the AEROSSET System.

Method Comparison (Continued)

Serum	ARCHITECT vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	102	102
Y - Intercept	-4.54	0.85
Correlation Coefficient	0.9993	0.9996
Slope	1.06	0.97
Range (mg/dL)	13.3 to 663.9	14.4 to 734.2

Urine	ARCHITECT vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	41	41
Y - Intercept	-2.67	-1.36
Correlation Coefficient	0.9998	0.9999
Slope	1.04	0.96
Range (mg/dL)	2.1 to 717.4	2.0 to 772.3

CSF	ARCHITECT vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	52	52
Y - Intercept	-3.89	0.22
Correlation Coefficient	0.9997	0.9998
Slope	1.04	0.95
Range (mg/dL)	10.5 to 697.7	11.2 to 770.4

BIBLIOGRAPHY

1. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens*.
2. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; January 2007.
3. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. Geneva: World Health Organization; 2004.
4. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
5. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:959–60.
6. Tietz NW, editor. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995:268–72.
7. Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation*, 3rd ed. St Louis, MO: CV Mosby; 1996:835.
8. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of analytes—preanalytical variables. Annex In: Samples: *From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 1996:Annex 16–7, 38–9, 44–5.
9. US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed (USP 23/NF 18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc; 1994:11.
10. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care*. 2007;30(1):42–7.
11. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48(3):436–72.
12. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:2190.
13. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACCP Press; 1995:3:274–3:294.
14. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1999.
15. Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (EP9-A2)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.

TRADEMARKS

AEROSSET and ARCHITECT are registered trademarks of Abbott Laboratories.

cSystem is a trademark of Abbott Laboratories.

All other trademarks, brands, product names, and trade names are the property of their respective companies.

■ Fiche technique Urée ARCHTECT ci4100



ARCHITECT® / AEROSSET®

UREA NITROGEN

This package insert contains information to run the Urea Nitrogen assay on the ARCHITECT c Systems™ and the AEROSSET System.

NOTE: Changes Highlighted

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling			
CAL 1-2	Calibrators 1 and 2	REF	Catalog number/List number
CONC	Concentration	SN	Serial number
EC/REP	Authorized Representative in the European Community		Consult instructions for use
INGRED	Ingredients		Manufacturer
IVD	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
LOT	Batch code/Lot number		Use by/Expiration date
R1	Reagent 1		
R2	Reagent 2		



September 2006
©2002, 2006 Abbott Laboratories

NAME

UREA NITROGEN

INTENDED USE

The Urea Nitrogen assay is used for the quantitation of urea nitrogen in human serum, plasma, or urine.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Measurements obtained by this test are used in the diagnosis of certain renal and metabolic diseases. The determination of serum urea nitrogen is a widely used test for the evaluation of kidney function. The test is frequently requested in conjunction with the serum creatinine test for the differential diagnosis of prerenal (cardiac decompensation, water depletion, increased protein catabolism), renal (glomerulonephritis, chronic nephritis, polycystic kidney, nephrosclerosis, tubular necrosis), and postrenal (obstructions of the urinary tract) hyperuremia.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

The Urea Nitrogen assay is a modification of a totally enzymatic procedure first described by Talke and Schubert.¹ The test is performed as a kinetic assay in which the initial rate of the reaction is linear for a limited period of time. Urea in the sample is hydrolyzed by urease to ammonia and carbon dioxide. The second reaction, catalyzed by glutamate dehydrogenase (GLD) converts ammonia and α-ketoglutarate to glutamate and water with the concurrent oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) to nicotinamide adenine dinucleotide (NAD). Two moles of NADH are oxidized for each mole of urea present. The initial rate of decrease in absorbance at 340 nm is proportional to the urea concentration in the sample.

Methodology: Urease

REAGENTS

Reagent Kit

Urea Nitrogen is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

REF 7D75-20

R1 10 x 66 mL
R2 10 x 66 mL

Estimated tests per kit: 17,222*

REF 7D75-30

R1 5 x 35 mL
R2 5 x 35 mL

Estimated tests per kit: 4,389*

*Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
R1 NADH	2.95 mmol/L
Sodium Azide	< 0.1%
R2 α-Ketoglutaric Acid	99.8 mmol/L
Urease (jack bean)	23.5 KU/L
GLD (beef liver)	63.5 KU/L
Adenosine Diphosphate	7.6 mmol/L
Sodium Azide	< 0.2%

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 25 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- R1** and **R2** contain sodium azide. For a specific listing, refer to the REAGENTS section. Contact with acids liberates very toxic gas. This material and its container must be disposed of in a safe way. **NOTE:** Refer to Section 8 of the instrument-specific operations manual for proper handling and disposal of reagents containing sodium azide.

WARNINGS AND PRECAUTIONS (Continued)

- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.³ Biosafety Level 2⁴ or other appropriate biosafety practices^{5,6} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

For product not classified as dangerous per European Directive 1999/45/EC as amended, safety data sheet available for professional user on request.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum, plasma, and urine are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Separate serum from red blood cells or gel as soon after collection as possible.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. Separate plasma from red blood cells or gel as soon after collection as possible.

- Urine:** 24 hour timed urine specimens are preferred.²

Refer to specimen collection tube manufacturer's instructions for processing and handling requirements.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Temperature	Serum/Plasma	Maximum Storage Urine*	Bibliographic Reference
20 to 25°C	7 days	2 days	7
2 to 8°C	7 days	7 days	7, 8
-20°C	1 year	1 month	7

* Urine samples can be preserved with thymol to avoid bacterial action.²

Guder et al.⁷ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time intervals cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

REF 7D75 Urea Nitrogen Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- REF 1E65** Multiconstituent Calibrator, **CAL 1-2** 3 x 5 mL
- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT c Systems and the AEROSSET System have automatic dilution features; refer to Section 2 of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with urea nitrogen values exceeding 125 mg/dL (44.6 mmol/L urea) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Urine: Urine samples are automatically diluted 1:20 by the system using the Standard dilution option, then the system automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor. This dilution extends urine urea nitrogen linearity to 1,991 mg/dL (710.8 mmol/L urea). Samples exceeding this concentration are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Serum/Plasma Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a 1:5 dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor.

PROCEDURE (Continued)

Urine Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 7 days (168 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

For information on calibrator standardization, refer to the Multiconstituent Calibrator package insert.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent or calibrator lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- **ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C**
- **AEROSSET System Operations Manual—Appendix A**

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum/Plasma²

Age	Urea Nitrogen Range (mg/dL)	Urea Range (mmol/L)
Children		
1 to 3 years	5.1 to 16.8	1.8 to 6.0
4 to 13 years	7.0 to 16.8	2.5 to 6.0
14 to 19 years	8.4 to 21.0	3.0 to 7.5
Adult, Male		
< 50 years	8.9 to 20.6	3.2 to 7.4
> 50 years	8.4 to 25.7	3.0 to 9.2
Adult, Female		
< 50 years	7.0 to 18.7	2.5 to 6.7
> 50 years	9.8 to 20.1	3.5 to 7.2

Values in the cited reference were converted from urea (mg/dL) to urea nitrogen (mg/dL), and subsequently converted to SI units for urea (mmol/L).

EXPECTED VALUES (Continued)

Mass Conversion of Urea Nitrogen to Urea

mg/dL urea nitrogen \times 2.14 = mg/dL urea
mg/dL urea \div 100 = g/L urea

SI Unit Conversion of Urea

g/L urea \div 60.0 g/mol = mol/L urea
mol/L urea \times 1000 = mmol/L urea

To convert results from mg/dL urea nitrogen to mmol/L urea, multiply mg/dL by 0.357.

Urine¹⁶

	Urea Nitrogen Range (g/day)	Urea Range (mmol/day)
All	12 to 20	428 to 714

To convert results from g/day urea nitrogen to mmol/day urea, multiply g/day by 35.7.

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

24 Hour Urinary Excretion

To convert results from mg/dL to g/day urea nitrogen (24 hour urinary excretion)

Where:

V = 24 hour urine volume (mL)

c = analyte concentration (mg/dL)

24 hour excretion = [(V \times c) \div 100,000] g/day urea nitrogen

To convert results from mmol/L to mmol/day urea (24 hour urinary excretion)

Where:

V = 24 hour urine volume (mL)

c = analyte concentration (mmol/L)

24 hour excretion = [(V \times c) \div 1000] mmol/day urea

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Urea nitrogen serum is linear up to 125 mg/dL (44.6 mmol/L urea). Urea nitrogen urine is linear up to 1,991 mg/dL (710.8 mmol/L urea). Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.¹¹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for urea nitrogen serum is 0.7 mg/dL (0.25 mmol/L urea). The LOD for urea nitrogen urine is 15.0 mg/dL (5.4 mmol/L urea). The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample \pm 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT c System and an AEROSSET System produced an LOD for the Urea Nitrogen assay (serum) of 0.6 mg/dL (0.22 mmol/L) and 11.3 mg/dL (4.04 mmol/L) for the Urea Nitrogen assay (urine).

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for urea nitrogen serum is 1.4 mg/dL (0.50 mmol/L urea). The LOQ for urea nitrogen urine is 40.0 mg/dL (14.28 mmol/L urea). The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances¹²

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹³ Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (mg/dL)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 μ mol/L)	4	20.8	99.5
	60 mg/dL (1,026 μ mol/L)	4	20.8	98.2
Hemoglobin	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	19.8	96.5
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	19.8	97.4
Intralipid	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	20.8	99.8
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	20.8	99.0

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

For the urine application, protein up to 50 mg/dL, glucose up to 1,000 mg/dL, sodium oxalate up to 60 mg/dL, ascorbate up to 200 mg/dL, acetic acid (8.5 N) up to 6.25 mL/dL, boric acid up to 250 mg/dL, hydrochloric acid (6 N) up to 2.5 mL/dL, nitric acid (6 N) up to 5.0 mL/dL, sodium fluoride up to 400 mg/dL, and sodium carbonate up to 1.25 g/dL demonstrated less than 10% interference.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(Continued)

Precision

The imprecision of the Urea Nitrogen serum assay is \leq 4.5% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-T2¹⁴ are summarized below.

Serum

Control	Level 1	Level 2
N	80	80
Mean (mg/dL)	15.5	48.0
Within Run	SD 0.20 %CV 1.3	0.45 0.9
Between Run	SD 0.07 %CV 0.5	0.24 0.5
Between Day	SD 0.17 %CV 1.1	0.83 1.7
Total	SD 0.27 %CV 1.8	0.97 2.0

The imprecision of the Urea Nitrogen urine assay is \leq 4.5% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP10-T2¹⁵ are summarized below.

Urine

Control	Level 1	Level 2
N	50	50
Mean (mg/dL)	504.8	896.4
Within Run	SD 13.69 %CV 2.7	22.87 2.6
Between Run	SD 8.92 %CV 1.8	15.77 1.8
Between Day	SD 9.73 %CV 1.9	0.00 0.0
Total	SD 19.02 %CV 3.8	27.78 3.1

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.¹⁶

Serum and urine results from the Urea Nitrogen assay on the AEROSSET System were compared with those from a commercially available urease methodology.

Serum and urine results from the Urea Nitrogen assay on an ARCHITECT c System were compared with the Urea Nitrogen assay on an AEROSSET System.

Serum	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	80	102
Y - Intercept	0.904	0.236
Correlation Coefficient	0.997	0.999
Slope	1.038	1.019
Range (mg/dL)*	10.52 to 173.58	2.64 to 120.55
*AEROSSET Range		

Urine	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	80	89
Y - Intercept	9.993	-0.613
Correlation Coefficient	0.992	0.997
Slope	0.983	0.898
Range (mg/dL)*	53.5 to 1,242.6	54.5 to 1,989.17
*AEROSSET Range		

BIBLIOGRAPHY

1. Talke H, Schubert GE. *Klinische Wochenschrift* 1965;43:174.
2. Tietz NW, editor. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995:622-4.
3. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030, *Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens*.
4. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. HHS Publication (CDC), 4th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, May 1999.
5. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. Geneva: World Health Organization, 2004.
6. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
7. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of analytes—preanalytical variables. Annex In: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 1996:Annex 22-3, 42-3.
8. US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed. (USP 23/NF 18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc, 1994:11.
9. Thomas L. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. Frankfurt/Main, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH; 1998:374-7.
10. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:2209.
11. Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
12. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3-599-3-609.
13. Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
14. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices—Second Edition; Tentative Guideline (EP5-T2)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1992.
15. Garber CC, Clark LW, Garrett PE, et al. *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods—Second Edition; Tentative Guideline (EP10-T2)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993.
16. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

AEROSSET and ARCHITECT are registered trademarks of Abbott Laboratories.

cSystem is a trademark of Abbott Laboratories.

All other trademarks, brands, product names, and trade names are the property of their respective companies.



ARCHITECT / AEROSET

CREATININE

This package insert contains information to run the Creatinine assay on the ARCHITECT cSystems and the AEROSET System.

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling			
[CAL1-2]	Calibrators 1 and 2	[R2]	Reagent 2
[CONC]	Concentration	[REF]	Catalog number/List number
[CONT]	Contents	[SN]	Serial number
[EC/REP]	Authorized Representative in the European Community		Consult instructions for use
[INGRED]	Ingredients		Manufacturer
[IVD]	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
[LOT]	Batch code/Lot number		Use by/Expiration date
[R1]	Reagent 1		

CREATININE
[REF] 3L81-22 and 3L81-32
304331/R1

NAME
CREATININE

INTENDED USE

The Creatinine assay is used for the quantitation of creatinine in human serum, plasma, or urine.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Creatinine is eliminated from blood by glomerular filtration. Reduced renal function results in an increased serum creatinine concentration. Measurement of serum creatinine is used to diagnose and monitor acute and chronic renal disease, estimate glomerular filtration rate (GFR), or assess the status of renal dialysis patients. Urine creatinine analysis is used to calculate creatinine clearance, confirm completeness of 24-hour collections, or serve as a reference quantity for other analytes, such as in calculation of the albumin/creatinine ratio.¹

In 1886 Jaffe developed an assay for creatinine based upon the reaction between creatinine and sodium picrate.² In 1904 Folin³ used this reaction for the quantitative determination of creatinine in urine. Kinetic procedures based on the observed reaction rates of various substances, including creatinine, with alkaline picrate have been proposed by Fabry⁴ and Soldin.⁵ This improved Jaffe chemistry is a kinetic procedure which does not require deproteinization of the sample and is formulated to reduce the interference of serum proteins.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

At an alkaline pH, creatinine in the sample reacts with picrate to form a creatinine-picric acid complex. The rate of increase in absorbance at 500 nm due to the formation of this complex is directly proportional to the concentration of creatinine in the sample.

Methodology: Kinetic Alkaline Picrate

REAGENTS

Reagent Kit

Creatinine is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

[REF] 3L81-22

[R1] 5 x 55 mL

[R2] 5 x 17 mL

Estimated tests per kit: 1,875*

[REF] 3L81-32

[R1] 10 x 55 mL

[R2] 10 x 32 mL

Estimated tests per kit: 7,500*

* Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
[R1] Sodium Hydroxide	0.8 mol/L
[R2] Picric Acid	24 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 15 to 30°C.

Reagent stability is 5 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.

WARNINGS AND PRECAUTIONS (Continued)

Precautions for Users (Continued)

4. **DANGER. [R1]** Contains sodium hydroxide.



Hazard	
H314	Causes severe skin burns and eye damage.
Prevention	
P260	Do not breathe mist / vapors / spray.
P264	Wash hands thoroughly after handling.
P280	Wear protective gloves / protective clothing / eye protection.
Response	
P301+P330+P331	IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting.
P303+P361+P353	IF ON SKIN (or hair): Remove / Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water / shower.
P304+P340	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P310	Immediately call a POISON CENTER or doctor / physician.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.
Storage	
P405	Store locked up.

5. This material and its container must be disposed of in a safe way.
6. **[R2]** contains picric acid, which is a flammable solid when wet as a paste (i.e., not less than 10% water), and explosive when dry. Prevent from forming crystals. Keep containers tightly sealed. Do not allow to dry out!
7. **CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.⁶ Biosafety Level 2⁷ or other appropriate biosafety practices^{8,9} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum, plasma, and urine are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions. Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.
- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier), EDTA, and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.
- Urine:** Collect with no preservative. Random specimens or specimens timed over intervals shorter than 24 hours are acceptable for analysis.
- 24-Hour Urine:** May be collected with preservatives. The preferred preservatives are boric acid and hydrochloric acid.¹⁰ Reference ranges are provided for 24-hour excretion.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING (Continued)

Specimen Storage

Serum, Plasma, and Urine

Temperature	Maximum Storage		Bibliographic Reference
	Serum/Plasma	Urine	
20 to 25°C	7 days	2 days	11
2 to 8°C	7 days	6 days	11, 12
-20°C	3 months	6 months	11

Guder et al.¹¹ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time intervals cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 3LB1 Creatinine Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- **[REF]** 1E65 Multiconstituent Calibrator, **[CAL1-2]** 3 x 5 mL
- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT c Systems and the AEROSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and Plasma: Specimens with creatinine values exceeding 37.00 mg/dL (3,270.8 µmol/L) are flagged and may be diluted using the configured Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Urine: Urine samples are automatically diluted 1:20 by the system using the Standard dilution option, then the system automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor. This dilution extends urine Creatinine linearity to 740.00 mg/dL (65.42 mmol/L). Samples exceeding this concentration are flagged and may be diluted with the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using an Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for 5 days (120 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

For information on calibrator standardization, refer to the Multiconstituent Calibrator package insert.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent or calibrator lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- **ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C**
- **AEROSET System Operations Manual—Appendix A**

To convert results:

- from mg/dL to µmol/L, multiply mg/dL by 88.4.¹³
- from mg/dL to mmol/L, multiply mg/dL by 0.0884.
- from mg/kg/day to µmol/kg/day, multiply mg/kg/day by 8.84.

$$\text{Creatinine Clearance} = \frac{(\text{urine creatinine concentration}) \times (\text{urine volume})}{(\text{serum creatinine concentration}) \times (\text{urine collection time})} \times \frac{1.73}{\text{BSA}^*}$$

* BSA = body surface area in square meters

NOTE: Urine and serum creatinine concentrations must be expressed in the same units, urine volume must be expressed in mL, and urine collection time must be expressed in minutes or seconds.

Estimated GFR (eGFR) can be calculated using the four-parameter equation from the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study. In the United States, the National Kidney Disease Education Program (NKDEP) provides guidelines for calculating and reporting eGFR.¹⁴ Guidelines may vary in other countries.

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

For the AEROSET System ONLY

[REF] 3LB1 Creatinine must be configured on a separate line from the following reagent:

- **[REF]** 7D60 Total Bilirubin

EXPECTED VALUES

Reference Range

The serum/plasma reference ranges are from an Abbott Laboratories study of normal healthy adults, age 18 or older (120 males and 120 females). The urine reference ranges are based on the data of Junge et al.¹⁵

Serum/Plasma

	Range (mg/dL)	Range (µmol/L)
Adult, Male	0.72 to 1.25	63.6 to 110.5
Adult, Female	0.57 to 1.11	50.4 to 98.1

Urine¹⁵

	Adult Male	Adult Female
Concentration* Range	63 to 166 mg/dL (5.6 to 14.7 mmol/L)	47 to 110 mg/dL (4.2 to 9.7 mmol/L)
24-Hour Excretion ¹⁵	12.1 to 28.9 mg/kg/day (107 to 256 µmol/kg/day)	10.7 to 26.0 mg/kg/day (95 to 230 µmol/kg/day)
Creatinine Clearance ¹⁵	Adult Male: 66 to 163 mL/min/1.73 m ² BSA (1.10 to 2.72 mL/sec/1.73 m ² BSA) Adult Female: 66 to 165 mL/min/1.73 m ² BSA (1.10 to 2.75 mL/sec/1.73 m ² BSA)	710 to 1,650 mg/day (6.3 to 14.6 mmol/day)

* Concentration is based on a daily urine output of 1.5 L.

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

NKDEP guidelines recommend that eGFR values greater than 60 mL/min/1.73 m² are reported as eGFR > 60 mL/min/1.73 m². Values less than or equal to 60 mL/min/1.73 m² are reported as the eGFR value rounded to the nearest whole number.¹⁴

If serum creatinine results are determined in µmol/L, divide the creatinine concentration by 88.4 prior to calculation of the eGFR value.¹⁴

24-Hour Urinary Excretion, adjusted per kg body weight

To convert results from mg/dL to mg/kg/day (24-hour urinary excretion)

Where:

$$\begin{aligned} V &= 24\text{-hour urine volume (mL)} \\ c &= \text{analyte concentration (mg/dL)} \\ W &= \text{body weight in kg} \end{aligned}$$

$$24\text{-hour excretion} = [(V \times c) \div (W \times 100)] \text{ mg/kg/day}$$

To convert results from mmol/L to µmol/kg/day (24-hour urinary excretion)

Where:

$$\begin{aligned} V &= 24\text{-hour urine volume (mL)} \\ c &= \text{analyte concentration (mmol/L)} \\ W &= \text{body weight in kg} \end{aligned}$$

$$24\text{-hour excretion} = [(V \times c) \div W] \text{ µmol/kg/day}$$

24-Hour Urinary Excretion, not adjusted per kg body weight

To convert results from mg/dL to mg/day (24-hour urinary excretion)

Where:

$$\begin{aligned} V &= 24\text{-hour urine volume (mL)} \\ c &= \text{analyte concentration (mg/dL)} \end{aligned}$$

$$24\text{-hour excretion} = [(V \times c) \div 100] \text{ mg/day}$$

To convert results from mmol/L to mmol/day (24-hour urinary excretion)

Where:

$$\begin{aligned} V &= 24\text{-hour urine volume (mL)} \\ c &= \text{analyte concentration (mmol/L)} \end{aligned}$$

$$24\text{-hour excretion} = [(V \times c) \div 1000] \text{ mmol/day}$$

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Creatinine serum is linear from 0.20 to 37.00 mg/dL (17.7 to 3,270.8 µmol/L) within ± 10% or ± 0.1 mg/dL, whichever is greater with 95% confidence. Creatinine urine is linear from 5.00 to 740.00 mg/dL (0.44 to 65.42 mmol/L) within ± 10% or ± 5 mg/dL, whichever is greater with 95% confidence. Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-A.¹⁶

Limit of Detection (LOD)

The LOD for Creatinine serum is 0.05 mg/dL (4.5 µmol/L). The LOD for Creatinine urine is 4.00 mg/dL (0.35 mmol/L). LOD is the lowest amount of analyte in a sample that can be detected with 95% probability.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for Creatinine serum is 0.10 mg/dL (8.8 µmol/L). The LOQ for Creatinine urine is 5.00 mg/dL (0.44 mmol/L). The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using an acceptance criteria of ≤ 10% of the target value. Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Medical Decision Level 1				
Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (mg/dL)	Observed* (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	1.55	98
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	1.55	72
Hemoglobin	1,000 mg/dL (10 g/L)	4	1.40	105
	2,000 mg/dL (20 g/L)	4	1.40	109
Intralipid	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	1.43	99
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	1.43	98
Ascorbate	1.5 mg/dL (85 µmol/L)	4	1.52	99
	3.0 mg/dL (170 µmol/L)	4	1.52	99
Glucose	300 mg/dL (16.5 mmol/L)	4	1.52	107
	600 mg/dL (33 mmol/L)	4	1.52	116
Protein	10.6 g/dL (106 g/L)	4	1.54	108
	14.3 g/dL (143 g/L)	4	1.54	115

*Percentages have been rounded to whole numbers.

Medical Decision Level 2				
Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (mg/dL)	Observed* (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	5.33	95
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	5.33	75
Hemoglobin	1,000 mg/dL (10 g/L)	4	4.70	102
	2,000 mg/dL (20 g/L)	4	4.70	103
Intralipid	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	4.62	99
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	4.62	99
Ascorbate	1.5 mg/dL (85 µmol/L)	4	5.23	100
	3.0 mg/dL (170 µmol/L)	4	5.23	100
Glucose	300 mg/dL (16.5 mmol/L)	4	5.00	101
	600 mg/dL (33 mmol/L)	4	5.00	103
Protein	10.8 g/dL (108 g/L)	4	5.57	99
	14.7 g/dL (147 g/L)	4	5.57	99

*Percentages have been rounded to whole numbers.

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolyate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools. Ascorbate solutions at the above concentrations were prepared by addition of ascorbic acid to human serum pools. Glucose solutions at the above concentrations were prepared by addition of glucose to human serum pools. Protein solutions at the above concentrations were prepared by addition of gamma globulin to human serum pools.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS (Continued)

Interfering Substances (Continued)

For the urine application, acetic acid (8.5 N) up to 6.25 mL/dL, ascorbate up to 200 mg/dL, boric acid up to 250 mg/dL, glucose up to 1,000 mg/dL, hydrochloric acid (6 N) up to 2.5 mL/dL, nitric acid (6 N) up to 5.0 mL/dL, protein up to 50 mg/dL, sodium carbonate up to 1.25 g/dL, sodium fluoride up to 400 mg/dL, and sodium oxalate up to 60 mg/dL demonstrated less than 10% interference.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹⁷

Precision

Serum

The imprecision of the Creatinine serum assay is $\leq 6\%$ Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A2¹⁸ are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (mg/dL)		1.20	4.66
Within Run	SD	0.01	0.03
	%CV	0.76	0.57
Between Run	SD	0.01	0.04
	%CV	0.81	0.80
Between Day	SD	0.06	0.14
	%CV	4.83	3.02
Total	SD	0.06	0.15
	%CV	4.95	3.18

Urine

The imprecision of the Creatinine urine assay is $\leq 6\%$ Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP10-A2¹⁹ are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		50	50
Mean (mg/dL)		61.95	145.48
Within Run	SD	0.57	1.79
	%CV	0.92	1.23
Between Run	SD	0.61	0.45
	%CV	0.98	0.31
Between Day	SD	0.00	0.00
	%CV	0.00	0.00
Total	SD	0.83	1.85
	%CV	1.34	1.27

Accuracy

The bias for Creatinine serum or plasma is $\leq 10\%$ or ± 0.1 mg/dL, whichever is greater, and the Total Error is $\leq 22\%$. Representative data from studies using IDMS traceable NIST SRM 967 are summarized below.

	SRM 967 Level 1 (Target 0.753 mg/dL)	SRM 967 Level 2 (Target 3.916 mg/dL)
N	11	11
Concentration (mg/dL)	0.747	3.810
Bias (mg/dL)	-0.006	-0.106
%Bias	-0.84	-2.70
Total Error (%)*	10.74	9.06

*Total Error = %Bias + 2 x %CV

Total error was calculated using the absolute %Bias from the target SRM 967 values and total imprecision (%CV) determined at creatinine concentrations within 1 mg/dL of the SRM 967 target values.

Total Error Level 1 = $0.84\% + 2 \times 4.95\% = 10.74\%$.

Total Error Level 2 = $2.70\% + 2 \times 3.18\% = 9.06\%$.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS (Continued)

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A2²⁰ with Passing-Bablok Regression. Serum and urine results from the Creatinine assay on an ARCHITECT cSystem and the AEROSSET System were compared with those from a commercially available alkaline picrate methodology.

Serum and urine results from the Creatinine assay on an ARCHITECT cSystem were compared with those from the Creatinine assay on the AEROSSET System.

Serum

	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	130	129	129
Y - Intercept	-0.07	-0.07	0.01
Correlation Coefficient	0.9978	0.9979	1.0000
Slope	0.98	1.00	1.02
Range (mg/dL)	0.30 to 34.04	0.30 to 32.46	0.45 to 35.00

Urine

	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	58	58	58
Y - Intercept	-0.43	0.36	1.23
Correlation Coefficient	0.9992	0.9990	0.9992
Slope	1.01	0.97	0.96
Range (mg/dL)	7.32 to 591.08	7.32 to 591.08	5.81 to 594.82

Serum and urine results from [REF](#) 3L81 Creatinine assay were compared with those from [REF](#) 8L24 Creatinine (Enzymatic) assay on an ARCHITECT cSystem.

Serum

	REF 3L81 vs. REF 8L24
N	129
Y - Intercept	0.05
Correlation Coefficient	0.9997
Slope	1.00
Range (mg/dL)	0.43 to 36.79

Urine

	REF 3L81 vs. REF 8L24
N	58
Y - Intercept	2.20
Correlation Coefficient	0.9998
Slope	0.94
Range (mg/dL)	6.62 to 618.71



ASPARTATE AMINOTRANSFERASE
[REF] 7D81-20
30-4089/R6

ARCHITECT® / AEROSET®

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE

This package insert contains information to run the Aspartate Aminotransferase assay on the ARCHITECT c Systems™ and the AEROSET System.

NOTE: Changes Highlighted

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling

[CONC]	Concentration	[REF]	Catalog number/List number
[EC/REP]	Authorized Representative in the European Community	[SN]	Serial number
[INGRED]	Ingredients	[i]	Consult instructions for use
[IVD]	In vitro diagnostic medical device	[M]	Manufacturer
[LOT]	Batch code / Lot number	[T]	Temperature limitation
[R1]	Reagent 1	[E]	Use by/Expiration date
[R2]	Reagent 2		



ABBOTT LABORATORIES
Abbott Park, IL 60064, USA

[EC/REP] ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580



December 2008
©2002, 2008 Abbott Laboratories

NAME

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE

INTENDED USE

The Aspartate Aminotransferase (AST) assay is used for the quantitation of aspartate aminotransferase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Aspartate aminotransferase (AST), also referred to as glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), is one of a group of enzymes which catalyzes the interconversion of amino acids and α -keto acids by transfer of amino groups. Both AST and alanine aminotransferase (ALT) are normally found in most body fluids, but not in urine except in instances of kidney lesions. The greatest concentrations of AST are found in heart, liver, muscle, and kidney tissues. Damage to these tissues can greatly elevate serum AST levels. Following myocardial infarction, AST in serum begins to increase within 6 to 8 hours of onset of pain, reaching a peak within 18 to 24 hours and falling to normal by the fourth or fifth day. Serum values may increase to 10 to 15 times normal levels and the increase is roughly proportional to the degree of tissue damage.^{1,2}

PRINCIPLES OF PROCEDURE

AST present in the sample catalyzes the transfer of the amino group from L-aspartate to α -ketoglutarate, forming oxaloacetate and L-glutamate. Oxaloacetate in the presence of NADH and malate dehydrogenase (MDH) is reduced to L-malate. In this reaction, NADH is oxidized to NAD. The reaction is monitored by measuring the rate of decrease in absorbance at 340 nm due to the oxidation of NADH to NAD.

Methodology: NADH (without P-5'-P)

REAGENTS

Reagent Kit

[REF] 7D81 AST is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

[R1]	10 x 70 mL
[R2]	10 x 21 mL

Estimated tests per kit: 3,621

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
[R1] β -NADH	0.16 mg/mL
Malate Dehydrogenase	0.64 U/mL
Lactate Dehydrogenase	0.64 U/mL
L-Aspartate	232 mmol/L
[R2] α -Ketoglutarate	51.3 mmol/L
L-Aspartate	100 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 30 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.³ Biosafety Level 2⁴ or other appropriate biosafety practices^{5,6} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

For reagents not classified as dangerous per European Directive 1999/45/EC as amended, safety data sheet available for professional user on request.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.
Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.
- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Do not use ammonium heparin.⁷ Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Serum and plasma

Temperature	Maximum Storage	Bibliographic Reference
20 to 25°C	4 days	8
2 to 8°C	7 days	8, 9
-20°C	12 weeks	8

Guder et al.⁸ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time interval cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 7D81 AST Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with AST values exceeding 913 U/L (4,202 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the enzyme activity value by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the enzyme activity value by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 30 days (720 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

A calibration factor must be entered. Refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert for the specific factor.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** window, **Calibration** view.
 - AEROSSET System—**Assay Configuration** screen, **Calibration** page.
- For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- ARCHITECT System Operations Manual—*Appendix C*
- AEROSSET System Operations Manual—*Appendix A*

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum/Plasma¹⁰

	Range (U/L)
Adult	5 to 34

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

AST is linear up to 913 U/L.

Flex Rate Linearity is 4,202 U/L. To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 4,202 on the appropriate screen.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** screen, **Results** view.
 - AEROSSET System—**Assay Configuration** screen, **Outline** page.
- Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.¹¹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for AST is 2 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem and the AEROSSET System produced an LOD for AST is 0.9 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for AST serum is 2.2 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹² Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	72.2	95.8
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	72.2	91.9
Hemoglobin	62 mg/dL (0.62 g/L)	4	64.5	105.7
	125 mg/dL (1.25 g/L)	4	64.5	111.6
Intralipid	550 mg/dL (5.5 g/L)	4	69.0	95.4
	625 mg/dL (6.25 g/L)	4	69.0	103.9

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹³

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(Continued)

Precision

The imprecision of the AST assay is ≤ 4.6% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A¹⁴ are summarized below.

Control	Level 1	Level 2
N	80	80
Mean (U/L)	32.4	174.2
Within Run	SD	0.36
	%CV	1.1
Between Run	SD	0.24
	%CV	0.8
Between Day	SD	0.53
	%CV	1.6
Total	SD	0.68
	%CV	2.1

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.¹⁵

Serum results from the AST assay on the AEROSSET System were compared with those from a commercially available NADH oxidation methodology.

Serum results from the AST assay on an ARCHITECT cSystem were compared with the AST assay on the AEROSSET System.

	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	78	89
Y - Intercept	-1.815	7.726
Correlation Coefficient	0.999	1.000
Slope	0.893	0.943
Range (U/L)*	4.3 to 317.4 U/L	13.2 to 2,972.2 U/L

*AEROSSET Range

BIBLIOGRAPHY

- Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:790–1.
- Friedman RB, Young DS. *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*. Washington, DC: AACCPress; 1989:3-38–3-41.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- Sewell DL, Bove KE, Callinan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:795.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of analytes—preanalytical variables. Annex In: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 1996:Annex 8–9.
- US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed (USP 23/NF 18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc; 1994:11.
- Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation*, 3rd ed. St Louis, MO: CV Mosby; 1996:523.
- Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACCPress; 1995:3-68–3-79.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSSET, ARCHITECT, c8000, and c16000 are registered trademarks of Abbott Laboratories.

c4000 and cSystem are trademarks of Abbott Laboratories.

All other trademarks, brands, product names, and trade names are the property of their respective companies.

ALANINE AMINOTRANSFERASE

This package insert contains information to run the Alanine Aminotransferase assay on the ARCHITECT cSystems™ and the AEROSSET System.

NOTE: Changes Highlighted

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling

CONC	Concentration	REF	Catalog number/List number
EC REP	Authorized Representative in the European Community	SN	Serial number
INGRED	Ingredients	1	Consult instructions for use
IVD	In vitro diagnostic medical device	Manufacturer	
LOT	Batch code/Lot number	Temperature limitation	
R1	Reagent 1	Use by/Expiration date	
R2	Reagent 2		

NAME

ALANINE AMINOTRANSFERASE

INTENDED USE

The Alanine Aminotransferase (ALT) assay is used for the quantitation of alanine aminotransferase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Alanine Aminotransferase (ALT), also referred to as glutamate pyruvate transaminase (GPT), is an enzyme involved in amino acid metabolism. It is found in many tissues, but the highest levels are found in liver and kidney tissues. Tissue destruction leads to the release of the intracellular enzyme into the circulating blood. Markedly elevated serum ALT levels may be found in a variety of diseases which involve the liver, such as hepatitis, mononucleosis, and cirrhosis. These very high levels of ALT are not usually observed in other disease processes, e.g., myocardial infarction; thus, ALT is regarded as a reasonably specific indicator of liver disease.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

ALT present in the sample catalyzes the transfer of the amino group from L-alanine to α-ketoglutarate, forming pyruvate and L-glutamate. Pyruvate in the presence of NADH and lactate dehydrogenase (LD) is reduced to L-lactate. In this reaction NADH is oxidized to NAD. The reaction is monitored by measuring the rate of decrease in absorbance at 340 nm due to the oxidation of NADH to NAD.

Methodology: NADH (without P-5-P)

REAGENTS

Reagent Kit

REF 7D56 ALT is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

R1	10 x 70 mL
R2	10 x 21 mL

Estimated tests per kit: 3,621

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
R1 β-NADH	0.16 mg/mL
Lactate Dehydrogenase	2.57 U/mL
L-Alanine	392 mmol/L
R2 α-Ketoglutarate	77 mmol/L
L-Alanine	1,000 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 27 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.¹ Biosafety Level 2² or other appropriate biosafety practices^{3,4} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

For product not classified as dangerous per European Directive 1999/45/EC as amended, safety data sheet available for professional user on request.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

CAUTION: Erythrocytes contain approximately 3 to 5 times more ALT than does serum.⁵

Hemolysis in serum or plasma can increase test results.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results. Erythrocytes contain about 3 to 5 times more ALT than serum.⁵

- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Refer to table below for acceptable anticoagulants. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Analyte Recovery

Analyte recovery in serum/plasma specimens was determined as a mean %Recovery of serum collected in glass tubes.

Anticoagulant	%Recovery
Lithium Heparin (with or without gel barrier)	100.3
Sodium Heparin	100.1
EDTA	97.1
Sodium Citrate	80.2
Plastic Tube/Serum	99.9
SST Gel Tube/Serum	100.8

Do not use ammonium heparin.⁸

Specimen Storage

Serum and plasma: It is recommended that specimens be assayed on the day of collection.^{7,8} Separated specimens are stable for 3 days at 30°C, 7 days at 2 to 8°C, or 60 days at -40°C or colder.^{5,9-17} When samples were stored at -20°C for 8 days, an 11% reduction in ALT activity was observed; a 20% reduction in ALT activity was observed when specimens were stored at -20°C for 1 month.¹⁸

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

REF 7D56 ALT Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to Section 5 of the instrument-specific operations manual.

PROCEDURE (Continued)

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSSET System have automatic dilution features; refer to Section 2 of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with ALT values exceeding 942 U/L (4,113 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted with either the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a 1:5 dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution. For detailed information on ordering dilutions, refer to Section 5 of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 27 days (648 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

A calibration factor must be entered. Refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert for the specific factor.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** window, **Calibration** view
 - AEROSSET System—**Assay Configuration** screen, **Calibration** page
- For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to Section 6 of the instrument-specific operations manual.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C
- AEROSSET System Operations Manual—Appendix A

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum^{19,20}/Plasma

	Range (U/L)
Adult	0 to 55

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

ALT is linear up to 942 U/L.

Flex Rate Linearity is 4,113 U/L. To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 4,113 on the appropriate screen.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** screen, **Results** view
 - AEROSSET System—**Assay Configuration** screen, **Outline** page
- Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.²¹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for ALT is 2.0 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem and the AEROSSET System produced an LOD for ALT of 1.3 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for ALT is 5.1 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.²² Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	53.1	95.3
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	53.1	88.1
Hemoglobin	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	47.4	107.9
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	47.4	111.0
Intralipid	550 mg/dL (5.5 g/L)	4	50.6	97.2
	625 mg/dL (6.25 g/L)	4	50.6	96.8

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.²³

Precision

The imprecision of the ALT assay is ≤ 5.2% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A²⁴ are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (U/L)		29.9	82.8
Within Run	SD	0.44	0.39
	%CV	1.5	0.5
Between Run	SD	0.38	0.54
	%CV	1.3	0.7
Between Day	SD	1.43	1.51
	%CV	4.8	1.8
Total	SD	1.55	1.65
	%CV	5.2	2.0

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS (Continued)

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.²⁵

Serum results from the ALT assay on the AEROSSET System were compared with those from a commercially available NADH oxidation methodology.

Serum results from the ALT assay on an ARCHITECT cSystems were compared with the ALT assay on the AEROSSET System.

	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	74	83
Y - Intercept	-4.356	-3.683
Correlation Coefficient	0.989	1.000
Slope	0.870	0.940
Range (U/L)*	4.8 to 130.0	7.0 to 3,935.2

*AEROSSET Range

BIBLIOGRAPHY

1. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
2. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
3. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
4. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
5. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. Hagerstown, MD: Harper and Row; 1974:888.
6. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:795–7.
7. Williams K, Williams A, Kline L, et al. Stability of serum alanine aminotransferase activity. *Transfusion* 1987;27(5):431–3.
8. Cuccherini B, Nussbaum S, Seeff L, et al. Stability of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities. *J Lab Clin Med* 1983;102(3):370–6.
9. Ruby SG, Reiber NE, Lonser RE. Preanalytical variation in alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1988;34(4):744–5.
10. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum and whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:231–8.
11. Dale JC, Pruett SK. Phlebotomy—a minimalist approach. *Mayo Clin Proc* 1993;68(3):249–55.
12. Young D. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC: AACG Press; 1997:3–12.
13. Elfath D, Cooney J, McDaniel R, et al. Effect of frozen storage of serum on the level of 22 chemistry analytes. *Clin Chem* 1991;37:931.
14. Faulkner AM, Lukes-Hall AM, White GW. Evaluation of the Grenier plasma separator blood tube. *Ann Clin Biochem* 1990;27:386–7.
15. Wilding P, Zilva JA, Wilde CE. Transport of specimens for clinical chemistry analysis. *Ann Clin Biochem* 1977;14:301–6.
16. Schwartz MK. Interferences in diagnostic biochemical procedures. *Adv Clin Chem* 1973;16:10.
17. Mosley JW, Goodwin RF. Stability of serum glutamic pyruvic transaminase activity on storage. *Am J Clin Pathol* 1965;44:591–5.
18. Donnelly JG, Soldin SJ, Nealon DA, et al. Stability of twenty-five analytes in human serum at 22°C, 4°C, and -20°C. *Pediatr Pathol Lab Med* 1995;15:869–74.
19. Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. St Louis, MO: CV Mosby; 1989:895–8.
20. Sherman KE, Dodd RY, et al. Alanine aminotransferase levels among volunteer blood donors: geographic variation and risk factors. *J Infect Dis* 1982;145(3):383–6.
21. Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
22. Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
23. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACG Press; 1995:3-6-3-16.
24. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
25. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSSET, ARCHITECT, c8000, and c16000 are registered trademarks of Abbott Laboratories.

c4000 and cSystem are trademarks of Abbott Laboratories.

All other trademarks, brands, product names, and trade names are the property of their respective companies.



GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE

REF 7D65-21
30-4281/R2

ARCHITECT / AEROSSET

GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE

This package insert contains information to run the Gamma-Glutamyl Transferase assay on the ARCHITECT c Systems and the AEROSSET System.

NOTE: Changes Highlighted

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling

CONC	Concentration	REF	Catalog number/List number
EC REP	Authorized Representative in the European Community	SN	Serial number
INGRED	Ingredients	i	Consult instructions for use
IVD	In vitro diagnostic medical device	M	Manufacturer
LOT	Batch code/Lot number	T	Temperature limitation
RT	Reagent 1	U	Use by/Expiration date
R2	Reagent 2		



ABBOTT LABORATORIES
Abbott Park, IL 60064, USA

EC REP ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580



March 2009
©2008, 2009 Abbott Laboratories

NAME

GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE

INTENDED USE

The Gamma-Glutamyl Transferase (GGT) assay is used for the quantitation of gamma-glutamyl transferase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Gamma-glutamyl transferase was first identified in kidney tissue. Even though renal tissue has the highest level of GGT, the enzyme present in serum appears to originate primarily from the hepatobiliary system, and GGT is elevated in many forms of liver disease. Elevations in GGT levels are seen earlier and are more pronounced than those with other liver enzymes in cases of obstructive jaundice and metastatic neoplasms. It may reach 5 to 30 times normal levels in intra- or post-hepatic biliary obstruction. Only moderate elevations in the enzyme level (2 to 5 times normal) are observed with infectious hepatitis; therefore, GGT measurements are less useful diagnostically than transaminase determinations with this condition.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

GGT catalyzes the transfer of the gamma-glutamyl group from the donor substrate (L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide) to the glycylglycine acceptor to yield 3-carboxy-4-nitroaniline. The rate of the absorbance increase at 412 nm (416 nm for α 4000 and α 16000) is directly proportional to the GGT in the sample. The GGT procedure is a modification of the method described by Theodorsen et al.¹

Methodology: L-Gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide Substrate

REAGENTS

Reagent Kit

REF 7D65 Gamma-Glutamyl Transferase is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

R1	5 x 46 mL
R2	5 x 15 mL

Estimated tests per kit: 1,500

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
R1 Glycylglycine	191 mmol/L
R2 L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide, ammonium salt	30.6 mmol/L
Sodium Azide	0.1%

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 27 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- This product contains sodium azide; for a specific listing, refer to the REAGENTS section of this package insert. Contact with acids liberates very toxic gas. This material and its container must be disposed of in a safe way.
NOTE: Refer to Section 8 of the instrument-specific operations manual for proper handling and disposal of reagents containing sodium azide.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.² Biosafety Level 2³ or other appropriate biosafety practices^{4,5} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.
- Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.
- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Serum and plasma

Temperature	Maximum Storage	Bibliographic Reference
20 to 25°C	7 days	6
2 to 8°C	7 days	6, 7
-20°C	> 1 year	6

Guder et al.⁶ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time interval cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 7D65 Gamma-Glutamyl Transferase Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with GGT values exceeding 1,543 U/L (9,256 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the enzyme activity value by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the enzyme activity value by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 27 days (648 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

A calibration factor must be entered.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** window, **Calibration** view
- AEROSET System—**Assay Configuration** screen, **Calibration** page

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- ARCHITECT System Operations Manual—*Appendix C*
- AEROSET System Operations Manual—*Appendix A*

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum/Plasma⁹

	Range (U/L)
Male	12 to 64
Female	9 to 36

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

GGT is linear up to 1,543 U/L (1,417 U/L using IFCC factor).

Flex Rate Linearity is 9,256 U/L (8,500 U/L using IFCC factor). To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 9,256 on the appropriate screen.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** screen, **Results** view
 - AEROSET System—**Assay Configuration** screen, **Outline** page
- Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.⁹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for GGT is 2.5 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem and the AEROSET System produced an LOD for GGT of 1.0 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for GGT is 3.3 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹⁰ Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	15 mg/dL (257 µmol/L)	4	47.5	92.5
	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	47.5	88.1
Hemoglobin	250 mg/dL (2.5 g/L)	4	42.6	91.6
	500 mg/dL (5.0 g/L)	4	42.6	82.6
Intralipid	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	45.1	99.8
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	45.1	103.2

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolytate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹¹

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(Continued)

Precision

The imprecision of the GGT assay is ≤ 4.8% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A¹² are summarized below.

		Control	Level 1	Level 2
N		80	80	
Mean (U/L)		46.2	201.0	
Within Run	SD	1.07	1.41	
	%CV	2.3	0.7	
Between Run	SD	0.60	0.78	
	%CV	1.3	0.4	
Between Day	SD	0.59	1.90	
	%CV	1.3	1.0	
Total	SD	1.36	2.49	
	%CV	2.9	1.2	

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.¹³

Serum results from the GGT assay on the AEROSET System were compared with those from a commercially available gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide substrate methodology.

Serum results from the GGT assay on an ARCHITECT cSystem were compared with the GGT assay on the AEROSET System.

	AEROSET vs. Comparative Device	ARCHITECT vs. AEROSET
N	80	87
Y - Intercept	-0.680	-0.90
Correlation Coefficient	0.997	1.000
Slope	1.271	1.13
Range (U/L)*	13.8 to 1,240.8	11.8 to 7,582.1

*AEROSET Range

BIBLIOGRAPHY

- Theodorsen L, Stromme JH. Gamma-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide: the substrate of choice for routine determinations of gamma-glutamyl-transferase activity in serum? *Clin Chim Acta* 1976;72:205.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 2001:30–1.
- US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed (USP 23/NF 18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc; 1994:11.
- Thomas L. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. Frankfurt/Main, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH; 1998:80–6.
- Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3-296–3-300.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSET, ARCHITECT, c8000, and c16000 are registered trademarks of Abbott Laboratories.

c4000 and cSystem are trademarks of Abbott Laboratories.

All other trademarks, brands, product names, and trade names are the property of their respective companies.



ARCHITECT® / AEROSET®

TOTAL BILIRUBIN

This package insert contains information to run the Total Bilirubin assay on the ARCHITECT cSystems™ and the AEROSET System.

NOTE: Changes Highlighted

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
1-800-465-2675 (French speaking customers)
International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling			
	Calibrators 1 and 2		Catalog number/List number
	Concentration		Serial number
	Authorized Representative in the European Community		Consult instructions for use
	Ingredients		Manufacturer
	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Batch code/Lot number		Use by/Expiration date
	Reagent 1		Do not shake/agitate
	Reagent 2		Protect from light



ABBOTT LABORATORIES
Abbott Park, IL 60094, USA



ABBOTT
Max-Planck-Platz 2
55235 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580



TOTAL BILIRUBIN
REF 6L45-20 and 6L45-40
30-3972/R4

NAME

TOTAL BILIRUBIN

INTENDED USE

The Total Bilirubin assay is used for the quantitative analysis of total bilirubin in human serum or plasma of adults and neonates.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Red blood cells at the end of their circulating lives are broken down in the reticuloendothelial system, mainly the spleen. The resulting heme is converted to bilirubin upon removal of iron. This process accounts for about 80% of the 500 µmol (292 mg) of bilirubin formed daily. Other sources of bilirubin include the breakdown of myoglobin and cytochromes and the catabolism of immature red blood cells in the bone marrow.

Once formed, bilirubin is transported to the liver bound to albumin. This fraction of bilirubin is referred to as indirect or unconjugated bilirubin. In the liver, bilirubin is conjugated to glucuronic acid (mono- and diglucuronides) by the enzyme uridine diphosphate glucuronyl transferase to form conjugated bilirubin. Conjugated bilirubin or direct bilirubin is excreted via the biliary system into the intestine, where it is metabolized by bacteria to a group of products known collectively as stercobilinogen. Elimination is almost complete and serum levels are normally negligible.

Total bilirubin is the sum of the unconjugated and conjugated fractions. Total bilirubin is elevated in hepatitis, cirrhosis, hemolytic disorders, several inherited enzyme deficiencies, and conditions causing hepatic obstruction.

Neonatal bilirubin quantitation is used to monitor diseases causing jaundice in the newborn, chiefly erythroblastosis fetalis (also called hemolytic disease of the newborn or HDN). HDN is caused by maternal alloimmunization to RhD, antibodies involving additional blood groups, and ABO incompatibility.¹

The average full-term newborn infant has a peak serum bilirubin concentration of 5 to 6 mg/dL (86 to 103 µmol/L). Physiologic jaundice is seen at serum bilirubin concentrations from 7 to 17 mg/dL (120 to 291 µmol/L). Serum bilirubin concentrations greater than 17 mg/dL may be pathologic. The primary concern is the potential for bilirubin encephalopathy or kernicterus. The term "kernicterus" was introduced in the early 1900s to refer to the yellow staining of the basal ganglia observed in infants who died with severe jaundice.²

Additional causes of neonatal jaundice are hematoma/hemorrhage, hypothyroidism, Crigler-Najjar syndrome, obstructive jaundice, galactosemia, sepsis, syphilis, toxoplasmosis, cytomegalovirus, rubella, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) deficiency, pyruvate kinase deficiency, and spherocytosis.^{1,2}

PRINCIPLES OF PROCEDURE

Traditional methods of measuring bilirubin are based on the reaction of bilirubin with a diazo reagent to form the colored compound azobilirubin. The diazo reaction can be accelerated by the addition of various chemicals. For example, Malloy-Evelyn³ used methanol, Jendrassik-Gröf⁴ used caffeine, and Walters-Gerarde⁵ used dimethyl sulfoxide (DMSO). Modifications of these methods included the addition of surfactants as solubilizing agents.⁶

Total (conjugated and unconjugated) bilirubin couples with a diazo reagent in the presence of a surfactant to form azobilirubin. The diazo reaction is accelerated by the addition of surfactant as a solubilizing agent. The increase in absorbance at 548 nm due to azobilirubin is directly proportional to the total bilirubin concentration.

Methodology: Diazonium Salt

REAGENTS

Reagent Kit

REF 6L45 Total Bilirubin is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

REF 6L45-20

R1 10 x 53 mL

R2 10 x 17 mL

Estimated tests per kit: 2,750*

REF 6L45-40

R1 8 x 93 mL

R2 8 x 28 mL

Estimated tests per kit: 3,840*

* Calculations are based on the minimum reagent fill volume per kit.

REAGENTS (Continued)

Reagent Kit (Continued)

Reactive Ingredients	Concentration
R1 Surfactants	4.51%
HCl	8.204 g/L
R2 2, 4-dichloroaniline	0.81 g/L
HCl	5.563 g/L
Sodium Nitrite	0.345 g/L
Surfactant	2.00%

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

NOTE: Do not invert reagent cartridges prior to use. Reagents are susceptible to the formation of foam and bubbles.

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles or foam to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C and protected from light. Store Total Bilirubin reagents in the box.

Reagent stability is 21 days if the reagent is uncapped and onboard.

Indications of Deterioration

Deterioration should be suspected if there are visible signs of leakage, extreme turbidity, microbial growth, or if quality control results are outside of the acceptable range defined by your laboratory.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- R1 and R2 contain hydrochloric acid and are classified per applicable European Community (EC) Directives as: Corrosive (C). The following are the appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases:



R34	Causes burns.
S26	In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
S35	This material and its container must be disposed of in a safe way.
S36/37/39	Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection.
S45	In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).

- CAUTION: This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.⁷ Biosafety Level 2⁸ or other appropriate biosafety practices^{9,10} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

- **Serum:** Use serum collected by standard venipuncture or capillary collection techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Separate serum from red blood cells or gel as soon after collection as possible.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- **Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture or capillary collection techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier), sodium heparin, and EDTA. The use of tubes containing sodium fluoride/potassium oxalate is not recommended due to the potential for hemolysis with this anticoagulant. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. Separate plasma from red blood cells or gel as soon after collection as possible.

Refer to the specimen collection tube manufacturer's instructions for processing and handling requirements.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Serum and plasma: Specimens should be protected from bright light as bilirubin is photolabile.¹¹ Bilirubin is stable in serum and plasma as follows:

Temperature	Maximum Storage	Bibliographic Reference
20 to 25°C	1 day	12
2 to 8°C	7 days	12, 13
-20°C	6 months	14
-80°C	6 months	14

Limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C and/or -80°C for specimen storage. The temperature ranges may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 6L45-20 or 6L45-40 Total Bilirubin Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- [REF] 1E66 Bilirubin Calibrator, [CAL12] 3 x 5 mL
- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and AEROSSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with total bilirubin values exceeding 25.0 mg/dL (427.5 µmol/L) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

PROCEDURE (Continued)

Specimen Dilution Procedures (Continued)

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a 1:5 or a 1:10 dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 14 days (336 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

For information on calibrator standardization, refer to the Bilirubin Calibrator package insert.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent or calibrator lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- **ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C**
- **AEROSSET System Operations Manual—Appendix A**

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

For the AEROSSET System ONLY

[REF] 6L45 Total Bilirubin must be configured on a separate line from the following reagents:

- [REF] 6L35 MULTIGENT® Amikacin
- [REF] 6L31 MULTIGENT Quinidine
- [REF] 6E44 MULTIGENT Vancomycin

EXPECTED VALUES

Reference Range

	Range (mg/dL)	Range (µmol/L)
Adult (serum and plasma) ¹⁵	0.2 to 1.2	3.4 to 20.5

A study was conducted with a similar methodology (Total Bilirubin [REF] 8G62-20) using 135 serum samples from volunteers ranging in age from 25 to 66 years. Data were analyzed as described in Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS C28-A.¹⁶ From this study, 95% of all results were within 0.2 to 1.2 mg/dL with results ranging from 0.2 to 1.8 mg/dL.

A confirmation study was conducted with [REF] 6L45 Total Bilirubin using 25 serum and plasma samples from adult volunteers. Data were analyzed as described in CLSI protocol NCCLS C28-A2.¹⁷ From this study, all results were within the range of 0.2 to 0.9 mg/dL, confirming the adult reference interval of 0.2 to 1.2 mg/dL.

	Range (mg/dL)	Range (µmol/L)
Premature (serum) ¹⁸		
< 24 hours	< 8.0	< 136.8
< 48 hours	< 12.0	< 205.2
3 to 5 days	< 15.0	< 256.5
7 days	< 15.0	< 256.5
Full-term Newborn (serum) ¹⁸		
< 24 hours	< 6.0	< 102.6
< 48 hours	< 10.0	< 171.0
3 to 5 days	< 12.0	< 205.2
7 days	< 10.0	< 171.0

For additional information on neonatal bilirubin values, refer to the American Academy of Pediatrics recommendation in *Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation*.¹⁹

To convert results from mg/dL to µmol/L, multiply mg/dL by 17.1.

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Linearity for Total Bilirubin is 0.1 to 25.0 mg/dL (1.71 to 427.5 µmol/L). Linearity was verified using a modified CLSI protocol NCCLS EP6-A.²⁰

Limit of Detection (LOD)

The LOD for Total Bilirubin is 0.05 mg/dL (0.86 µmol/L). LOD is the lowest amount of analyte in a sample that can be detected with 95% probability.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for Total Bilirubin is ≤ 0.1 mg/dL (≤ 1.71 µmol/L). The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances²¹

Potential interference in the Total Bilirubin assay from 1,000 mg/dL hemoglobin, 500 mg/dL Intralipid, or 0.125 mmol/L Indican (indoxyl sulfate) is ≤ 10% or ± 0.3 mg/dL, whichever is greater.

Interference effects were assessed by Dose Response method, at the medical decision levels of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (mg/dL)	Observed* (mg/dL)	(%)
Hemoglobin	1,000 mg/dL (10 g/L)	7	1.1	0.9	86
	2,000 mg/dL (20 g/L)	7	1.1	0.9	80
	1,000 mg/dL (10 g/L)	7	16.4	15.7	96
	2,000 mg/dL (20 g/L)	7	16.4	15.5	95
Intralipid	1,000 mg/dL (10 g/L)	7	1.0	1.2	115
	2,000 mg/dL (20 g/L)	7	1.0	1.4	136
	1,000 mg/dL (10 g/L)	7	16.6	16.6	100
	2,000 mg/dL (20 g/L)	7	16.6	16.8	101

* Percentages have been rounded to whole numbers.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS (Continued)

Interfering Substances²¹ (Continued)

Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to solutions of human serum albumin. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to solutions of human serum albumin.

Taki et al. reported indoxyl sulfate concentrations up to 8.62 mg/dL (0.40 mmol/L), with an average of 3.52 mg/dL (0.17 mmol/L), in 224 hemodialysis (HD) patients.²² Indoxyl sulfate falsely increases bilirubin results when assayed by this methodology; however, the use of an earlier read time has been shown to reduce Indican interference.²³ Testing at Abbott Laboratories (Main Read Time 20-22) demonstrated that addition of 0.18 mmol/L 3-indoxyl sulfate potassium salt, at a targeted total bilirubin of 1.2 mg/dL, increased the total bilirubin concentration by 0.3 mg/dL.

Precision

The imprecision of the Total Bilirubin assay is ≤ 5% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A2²⁴ are summarized below.

Control	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4
N	80	80	80	80
Mean (mg/dL)	0.81	4.07	6.03	16.09
Within Run	SD	0.01	0.02	0.03
	%CV	1.0	0.5	0.6
Between Run	SD	0.01	0.04	0.04
	%CV	0.7	0.9	0.6
Between Day	SD	0.01	0.08	0.10
	%CV	1.2	1.9	1.6
Total	SD	0.01	0.09	0.11
	%CV	1.7	2.1	1.8

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A2.²⁵

Results from the Total Bilirubin assay on an ARCHITECT cSystem and the AEROSSET System were compared with those from a commercially available liquid 2,5-dichloro-phenyldiazonium tetrafluoroborate methodology.

Results from the Total Bilirubin assay on an ARCHITECT cSystem were compared with those from the Total Bilirubin assay on the AEROSSET System.

Adult

Serum and Plasma	ARCHITECT vs. Comparative Method	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	137	137	137
Y - Intercept	0.20	0.22	-0.02
Correlation Coefficient	0.999	0.999	1.000
Slope	0.95	0.96	0.99
Range (mg/dL)	0.2 to 24.4	0.2 to 24.4	0.3 to 22.8

Neonatal

Serum*	ARCHITECT vs. Comparative Method	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	52	52	52
Y - Intercept	0.06	0.22	-0.13
Correlation Coefficient	0.992	0.993	0.996
Slope	0.98	0.96	1.02
Range (mg/dL)	4.7 to 15.9	4.7 to 15.9	4.8 to 15.8

* Neonatal serum samples were from patients ≤ 5 days old.

Glucose HK Gen.3 Glucose HK 3^e génération

Références des réactifs

COBAS INTEGRA	800 tests	Réf. 04404483 190
Glucose HK Gen.3		System-ID 07 6831 6
Calibrator f.a.s.	12 × 3 ml	Réf. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (pour les USA)	12 × 3 ml	Réf. 10759350 360
		System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 × 5 ml	Réf. 10171743 122
		System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 ml	Réf. 10171778 122
		System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149435 122
		System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149443 122
		System-ID 07 8000 6

● Cassette utilisable sur les analyseurs suivants :

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Codes d'application

COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3).
Test GLUC3, test ID 0-031 (sérum, plasma) ;
test GLUC3U, test ID 0-141 (urine) ;
test GLUC3C, test ID 0-051 (LCR).

Domaine d'utilisation

Test *in vitro* pour la détermination quantitative du glucose dans les échantillons de sérum, de plasma, d'urine et de liquide céphalo-rachidien (LCR) humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3}

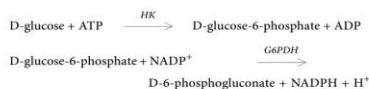
Le glucose est le principal sucre contenu dans le sang périphérique. L'oxydation du glucose constitue la source principale d'énergie des cellules de l'organisme. Le glucose d'origine alimentaire est converti soit en glycogène pour être stocké dans le foie, soit en acide gras pour être stocké dans les tissus adipeux. La concentration du glucose dans le sang est maintenue dans des limites étroites par de nombreuses hormones, les plus importantes étant synthétisées par le pancréas.

La cause la plus fréquente d'une hyperglycémie est le diabète sucré qui est dû à un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline. Un certain nombre de facteurs secondaires contribuent également à l'augmentation du taux de glucose dans le sang. Parmi ceux-ci figurent les pancréatites, les dysfonctions thyroïdiennes, les insuffisances rénales et les maladies hépatiques. Les hypoglycémies sont moins fréquentes. Certaines conditions (insulinome, hypopituitarisme ou hypoglycémie provoquée par l'insuline) peuvent induire une diminution des taux de glucose sanguins.

La détermination du glucose s'utilise dans le diagnostic et le traitement des troubles du métabolisme des glucides tels que le diabète et l'hypoglycémie idiopathique. La détermination du glucose dans l'urine est un outil de dépistage et de surveillance du diabète sucré, une aide au diagnostic lors de glucosurie et dans la détection de néphropathies tubulaires. Le dosage du glucose dans le liquide céphalo-rachidien est utilisé dans l'évaluation des méningites, des atteintes néoplasiques des méninges et autres troubles neurologiques.

Principe

Méthode de référence enzymatique à l'hexokinase.^{4,5}
Le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate par l'action de l'ATP et de l'hexokinase (HK). Ensuite, une seconde enzyme, la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate par le NADP⁺ pour former du NADPH.



La concentration de NADPH formé est directement proportionnelle à la concentration de glucose. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

Composants	Concentrations		
	R1	R2 = SR	Test
MES	5,0	0,70	mmol/l
ATP	≥4,5	≥0,63	mmol/l
Mg ²⁺	24	4,0	3,5 mmol/l
NADP	≥7,0	≥0,98	mmol/l
HEPES		200	10 mmol/l
HK (de levure)		≥300	≥15 µkat/l (≥ 0,9 kU/l)
G6PDH (d'origine microbienne)		≥300	≥15 µkat/l (≥ 0,9 kU/l)
pH	6,0	8,0	7,6

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde figurant dans le Recueil de méthodologies, Chapitre 1, Introduction.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8°C : voir la date de péremption sur le réactif.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus
Sur l'analyseur, entre 10 et 15°C : 8 semaines
Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800
Sur l'analyseur, à 8°C : 8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum.

Plasma recueilli sur héparinate de lithium, EDTA dipotassique/tripotassique et fluorure.

Sérum, plasma

Recueillir le sang sur les sujets à jeun par ponction veineuse à l'aide de tubes de prélèvement sous vide. La stabilité du glucose dans les échantillons dépend de la température de stockage, de la contamination bactérienne et de la glycolyse. Les échantillons de plasma ou de sérum sans conservateur doivent être séparés des cellules ou du caillot dans la demi-heure qui suit le prélèvement. Dans le sang non centrifugé à température ambiante, la diminution moyenne du glucose dans le sérum est d'environ 7% par heure (0,28 à 0,56 mmol/l ou 5 à 10 mg/dl). Cette diminution est due à la glycolyse. Il est possible d'inhiber la glycolyse en prélevant les échantillons sur des tubes au fluorure.¹

Stabilité (sans hémolyse) :² 8 heures entre 20 et 25°C
72 heures entre 4 et 8°C

Stabilité dans le plasma recueilli sur fluorure :² 24 heures entre 20 et 25°C

Urine

Recueillir l'urine dans un flacon brun. Pour les urines de 24 heures, 5 ml d'acide acétique glacial peuvent être ajoutés comme conservateur dans le flacon avant le recueil. Si les échantillons d'urine sont recueillis sans conservateur, la diminution de la concentration en glucose peut atteindre 40% après 24 heures de conservation à température ambiante.¹ Les échantillons doivent, de ce fait, être conservés dans la glace tout au long du recueil.¹

LCR

Le liquide céphalo-rachidien peut être contaminé par des bactéries et contient souvent d'autres éléments cellulaires. Les échantillons de LCR doivent donc être dosés immédiatement ou conservé à 4°C ou -20°C.^{3,5}

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement de tous les fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Applications pour le sérum, le plasma, l'urine et le LCR

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde A/B	340/652 nm
Calc. premier/dernier	33/69
Unité	mmol/l

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	28 µl	125 µl
Echantillon	2 µl	16 µl
SR	10 µl	20 µl
Volume total	201 µl	

Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde A/B	340/652 nm
Calc. premier/dernier	44/98
Unité	mmol/l

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	28 µl	125 µl
Echantillon	2 µl	16 µl
SR	10 µl	20 µl
Volume total	201 µl	

Calibration

Calibrateur	Calibrateur f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Mode de calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à la DI-SM.^a
a) Dilution isotopique-spectrométrie de masse

Contrôle de qualité

Sérum, plasma	
domaine de référence	Precinorm U ou Precinorm U plus
limites pathologiques	Precipath U ou Precipath U plus
Urine	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles urinaires quantitatifs.
LCR	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles LCR quantitatifs.
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section Références des réactifs. D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.

Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour l'analyseur COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Facteur de conversion : mmol/l x 18,02 = mg/dl

Limites d'utilisation - Interférences^a

Critère d'acceptabilité : recouvrement \pm 10% par rapport à la valeur initiale.

Sérum, plasma

Ictère	Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 (concentrations approximatives en bilirubine conjuguée et non conjuguée : 60 mg/dL ou 1026 μ mol/L) ^b .
Hémolyse	Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 1200 (concentration approximative d'hémoglobine : 1200 mg/dl ou 744 μ mol/L) ^b .
Lipémie	Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 1900. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides ^b .
Autres	Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés. Aux concentrations thérapeutiques, la tétracycline peut donner des résultats faussement bas dans les échantillons d'urine.

^b Mesuré à des concentrations en glucose allant jusqu'à 3,5 mmol/l
Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure

0,12-40 mmol/l (2,16-720 mg/dl)

Domaine de mesure plus étendu (calculé)

Facteur de postdilution : 10 recommandé

0,12-400 mmol/l (2,16-7 200 mg/dl)

Limite inférieure de détection

0,12 mmol/l (2,16 mg/dl)

La limite de détection correspond à la plus faible concentration en analyte mesurable pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard 0 + 3s, précision intra-série : n = 21).

Valeurs de référence

Plasma^c

A jeun 3,88-6,38 mmol/l (70-115 mg/dl)

Urine^d

1^{ère} urine du matin 0,3-1,1 mmol/l (6-20 mg/dl)

Urine de 24 h 0,3-0,96 mmol/l (6-17 mg/dl)

(pour une moyenne de 1350 ml d'urine/24 h)

Valeurs de références selon Tietz³

Sérum, plasma

Adultes	4,11-5,89 mmol/l	(74-106 mg/dl)
60 à 90 ans	4,56-6,38 mmol/l	(82-115 mg/dl)
> 90 ans	4,16-6,72 mmol/l	(75-121 mg/dl)
Enfants	3,33-5,55 mmol/l	(60-100 mg/dl)
Nouveau-nés (1 jour)	2,22-3,33 mmol/l	(40-60 mg/dl)
Nouveau-nés (> 1 jour)	2,78-4,44 mmol/l	(50-80 mg/dl)
Urine		
Urine de 24 h	< 2,78 mmol/24 h	(< 0,5 g/24 h)
Urine recueillie en cours de miction	0,06-0,83 mmol/l	(1-15 mg/dl)
LCR		
Enfants	3,33-4,44 mmol/l	(60-80 mg/dl)
Adultes	2,22-3,89 mmol/l	(40-70 mg/dl)

Le taux de glucose dans le LCR doit représenter environ 60% du taux de glucose dans le plasma et doit, pour une interprétation clinique correcte, toujours être comparé au taux de glucose déterminé dans un échantillon de plasma analysé en parallèle.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Performances analytiques pour le sérum et le plasma (GLUC3)

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 21, inter-série n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

Echant.	Précision intra-série			Précision inter-série		
	\bar{x}	\bar{x}	CV	\bar{x}	\bar{x}	CV
	mmol/l	mg/dl	%	mmol/l	mg/dl	%
Taux I	4,48	80,7	0,41	4,44	80,0	1,09
Taux II	12,48	225	0,47	12,46	225	0,90

Comparaison de méthodes

Les taux de glucose dans le sérum humain obtenus sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 avec le test COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3) ont été comparés avec ceux obtenus par GC ID-MS. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques.

Analyseur COBAS INTEGRA 800 n = 56

Passing/Bablok⁹

y = 0,974x + 0,13 mmol/l

r = 0,951

s (md 95) = 0,22

Régression linéaire

y = 0,974x + 0,12 mmol/l

r = 1,00

Sy.x = 0,11

Les concentrations obtenues étaient situées entre 3,63 et 31,06 mmol/l (65,4 et 560 mg/dl).

Les taux de glucose dans le sérum humain obtenus sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 avec le test COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3) ont été comparés avec ceux obtenus avec la cassette COBAS INTEGRA Glucose HK liquid (GLUCL) sur un analyseur COBAS INTEGRA 800. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques.

Analyseur COBAS INTEGRA 800 n = 59

Passing/Bablok⁹

y = 0,971x + 0,19 mmol/l

r = 0,986

s (md 95) = 0,10

Régression linéaire

y = 0,969x + 0,21 mmol/l

r = 1,00

Sy.x = 0,05

Les concentrations obtenues étaient situées entre 3,61 et 11,33 mmol/l (65,1 et 204 mg/dl).

Performances analytiques dans l'urine (GLU3U)

Précision

Reproductibility was determined using human samples in an internal protocol (within-run n = 21, between-run n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

Echantillon	Précision intra-série			Précision inter-série		
	\bar{x}	\bar{x}	CV	\bar{x}	\bar{x}	CV
	mmol/l	mg/dl	%	mmol/l	mg/dl	%
Taux I	0,83	15,0	1,35	0,84	15,1	0,75
Taux II	2,42	43,6	0,64	2,43	43,8	0,83

Comparaison de méthodes

Les taux de glucose dans l'urine humaine obtenus sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 avec le test COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3) ont été comparés avec ceux obtenus par GC ID-MS. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques.

Analyseur COBAS INTEGRA 800 n = 64

Passing/Bablok⁹

y = 0,998x + 0,01 mmol/l

r = 0,951

s (md 95) = 0,28

Régression linéaire

y = 0,979x + 0,05 mmol/l

r = 1,00

Sy.x = 0,12

Les concentrations obtenues étaient situées entre 0,03 et 38,49 mmol/l (0,5 et 694 mg/dl).

Performances analytiques dans le LCR (GLUC3C)

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains selon un protocole interne (précision intra-série : n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

Echantillon	Précision intra-série		
	\bar{x}	\bar{x}	CV
	mmol/l	mg/dl	%
Taux I	3,20	57,7	1,13
Taux II	9,31	168	1,49

Comparaison de méthodes

Les taux de glucose dans le LCR humain obtenus sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 avec le test COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3) ont été comparés à ceux obtenus avec la cassette précédente COBAS INTEGRA Glucose HK New Formulation (GLUC2). La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques.

Analyseur COBAS INTEGRA 800 n = 79

Passing/Bablok⁹

y = 0,999x + 0,01 mmol/l

r = 0,931

s (md 95) = 0,16

Régression linéaire

y = 0,996x - 0,00 mmol/l

r = 0,996

Sy.x = 0,08

Les concentrations obtenues étaient situées entre 1,25 et 11,27 mmol/l (22,5 et 203 mg/dl).

Bibliographie

- Sacks DB. Carbohydrates. Dans: Tietz NW, éd. Fundamentals of Clinical Chemistry. 4^e édition. Philadelphia: WB Saunders 1996:351-374.
- Knudson PE, Weinstock RS. Carbohydrates. Dans: Henry JB, éd. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20^e édition. Philadelphia: WB Saunders 2001:211-223.
- Sacks DB. Carbohydrates. Dans: Burtis CA, Ashwood ER (éditeurs). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3^e édition. Philadelphia: WB Saunders 1999:750-785.
- Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. Dans: Bergmeyer. Methods of Enzymatic Analysis, 3^e édition. Volume VI, Metabolites 1: Carbohydrates. 1984:163-172.
- Tietz NW, éd. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3^e édition. Philadelphia: WB Saunders 1995:268-273.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
- Thomas L, éditeur. Labor und Diagnose, 4^e édition Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1992.
- Krieg M et al. Vergleichende quantitative Analytik klinisch-chemischer Kenngrößen im 24-Stunden-Urin und Morgenurin. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:863-869.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

©2006 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Urea/BUN Urée/BUN

Références des réactifs

COBAS INTEGRA Urea/BUN	500 tests	Réf. 04460715 190 System-ID 07 6303 9
Calibrator f.a.s.	12 × 3 mL	Réf. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (pour les USA)	12 × 3 mL	Réf. 10759350 360
Precinorm U	20 × 5 mL	System-ID 07 3718 6 Réf. 10171743 122 System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 mL	Réf. 10171778 122 System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 mL	Réf. 12149435 122 System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 mL	Réf. 12149443 122 System-ID 07 8000 6
COBAS INTEGRA Cleaner Cassette	150 tests	Réf. 20764337 322 System-ID 07 6433 7

● cobas c pack utilisable sur les analyseurs suivants :

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Codes d'application

COBAS INTEGRA Urea/BUN (UREAL).
Test UREL, test ID 0-003 (sérum et plasma) ;
test URELU, test ID 0-004 (urine).

Domaine d'utilisation

Test *in vitro* pour la détermination quantitative de l'urée et de l'azote uréique (BUN = Blood Urea Nitrogen) dans le sérum, le plasma et l'urine sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques¹

L'urée est le principal produit final du métabolisme azoté des protéines. Elle est synthétisée par le cycle de l'urée dans le foie à partir de l'ammoniac qui est produit par la désamination des acides aminés. L'urée est principalement excrétée par les reins mais des quantités minimes sont également excrétées dans la sueur et dégradées au niveau intestinal sous l'action de bactéries.

La détermination de l'azote uréique sanguin est la méthode la plus largement utilisée pour l'exploration de la fonction rénale. Utilisée conjointement aux déterminations de créatinine sérique, elle peut être une aide pour le diagnostic différentiel de trois types d'azotémies : prérénale, rénale et post rénale.

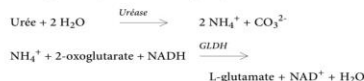
On observe une augmentation de la concentration d'azote uréique dans le sang lors de dialyse non adéquate, de choc, de volume sanguin diminué (causes prérénales), de néphrite chronique, de néphrosclérose, de nécrose tubulaire, de glomérulonéphrite (causes rénales) et d'obstruction des voies urinaires (causes post-rénales). Des augmentations transitoires peuvent également être observées lors de périodes où l'apport protéique est élevé. Des taux inattendus apparaissent lors de troubles hépatiques.

Principe

Test cinétique utilisant l'uréase et la glutamate déshydrogénase.^{2,3,4,5}

Sous l'action de l'uréase, l'urée est hydrolysée en ammoniac et carbonate. Lors d'une seconde réaction, le 2-oxoglutarate réagit

avec l'ammoniac en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de la coenzyme NADH pour former du L-glutamate. Dans cette réaction, deux moles de NADH sont oxydées en NAD⁺ pour chaque mole d'urée hydrolysée.



La vitesse de diminution du NADH est directement proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. Elle est déterminée en mesurant l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

Composants	Concentrations		
	R	Test	
TRIS	220	45	mmol/L
2-Oxoglutarate	73	15	mmol/L
NADH	2,5	0,5	mmol/L
ADP	5,2	1,1	mmol/L
Uréase (de <i>Canavalia ensiformis</i>)	≥300	≥61	μkat/L (≥3,7 kU/L)
GLDH (de bovin)	≥80	≥16	μkat/L (≥1,0 kU/L)
Azide de sodium	0,09	0,02	%
pH	8,6	8,6	

Le réactif contient des stabilisateurs non réactifs.

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquées dans le Recueil de méthodologies, Chapitre 1, Introduction, et en particulier le point 6 (azide de sodium).

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8°C : voir date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15°C : 8 semaines

Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800

Sur l'analyseur, à 8°C : 8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés. Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum

Plasma

Plasma recueilli sur héparinate de lithium, EDTA ou fluorure. Ne pas utiliser d'héparinate d'ammonium.

Urine

Une croissance bactérienne dans l'échantillon ainsi qu'une concentration d'azote atmosphérique élevée et une contamination par des ions ammonium peuvent conduire à l'obtention de résultats faussement élevés.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Stabilité dans le *sérum/plasma* :⁶ 7 jours entre 20 et 25°C

7 jours entre 4 et 8°C

1 an entre -15 et -20°C

Stabilité dans l'*urine* :⁶

2 jours entre 20 et 25°C

7 jours entre 4 et 8°C

1 mois entre -15 et -20°C

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire

COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Réf. 20764337, System-ID 07 6433 7. Il est recommandé de programmer des cycles de lavage supplémentaires pour l'analyse simultanée de certains tests sur les analyseurs COBAS INTEGRA. Pour plus d'informations sur les combinaisons de tests nécessitant des cycles de lavage supplémentaires, se référer au Chapitre 1, Introduction, Partie III.

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application dans le sérum, le plasma et l'urine

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Longueur d'onde A/B	340/409 nm
Calc. premier/dernier	23/28
Unité	mmol/L
Sérum, plasma	
Mode réactionnel	R-S

Urine

Mode réactionnel	D-R-S
Facteur de prédilution	50

Paramètres de pipetage

Sérum, plasma, urine	Diluant (H ₂ O)	
R	50 μL	95 μL
Echantillon	2 μL	98 μL
Volume total	245 μL	

Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Longueur d'onde A/B	340/409 nm
Calc. premier/dernier	27/36
Unité	mmol/L

Sérum, plasma

Mode réactionnel

R-S

Urine

Mode réactionnel

D-R-S

Facteur de prédilution

50

Paramètres de pipetage

Sérum, plasma, urine	Diluant (H ₂ O)	
R	50 μL	150 μL
Echantillon	2 μL	43 μL
Volume total	245 μL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau déionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque cassette, toutes les 4 semaines et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport au SRM 909b.

Contrôle de qualité

Sérum, plasma	Precinorm U ou Precinorm U plus
Urine	Precipath U ou Precipath U plus
	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles urinaires quantitatifs.
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour l'analyseur COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Facteurs de conversion :

mmol d'urée/L \times 6,006 = mg d'urée/dL
 mg d'urée/dL \times 0,167 = mmol d'urée/L
 mg d'urée/dL \times 0,467 = mg d'azote uréique/dL
 mmol d'urée/L = mmol d'azote uréique/L
 mg d'azote uréique/dL \times 0,357 = mmol d'urée/L
 mmol d'azote uréique/L \times 2,801 = mg d'azote uréique/dL

Limites d'utilisation - interférences⁷

Critère d'acceptabilité : recouvrement \pm 10% par rapport à la valeur initiale.

Sérum, plasma

Ictère Pas d'interférence significative.
 Hémolyse Pas d'interférence significative. Les échantillons hémolytiques peuvent être à l'origine d'un message signalant une absorbance trop élevée. Sélectionner le redosage automatique après dilution de l'échantillon.

Lipémie Pas d'interférence significative. Les échantillons lipémiques peuvent être à l'origine d'un message signalant une absorbance trop élevée. Sélectionner le redosage automatique après dilution de l'échantillon.

Anticoagulants Ne pas utiliser d'héparinate d'ammonium.
 Autres Les ions ammonium peuvent induire des résultats faussement élevés.

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure**Sérum, plasma**

0,5-40 mmol/L (urée : 3,0-240 mg/dL ;
 azote uréique : 1,4-112 mg/dL)

Domaine de mesure plus étendu (calculé)

Facteur de postdilution : 10 recommandé
 0,5-400 mmol/L (urée : 3,0-2 400 mg/dL ;
 azote uréique : 1,4-1 120 mg/dL)

Limite inférieure de détection

0,5 mmol/L (3,0 mg/dL)

La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3DS, précision intra-série : n = 30).

Urine

25,0-2000 mmol/L (urée : 0,15-12 g/dL ;
 azote uréique : 70-5600 mg/dL)

Domaine de mesure plus étendu (calculé)

Facteur de postdilution : 3 recommandé
 25,0-6000 mmol/L (urée : 0,15-36 g/dL ;
 azote uréique : 70-16 810 mg/dL)

Limite inférieure de détection

25,0 mmol/L (0,15 g/dL)

La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3DS, précision intra-série : n = 30).

Valeurs de référence**Urée⁸****Sérum, plasma**

Adultes (\leq 65 ans) < 8,3 mmol/L (< 50 mg/dL)
 Adultes (> 65 ans) < 11,9 mmol/L (< 71 mg/dL)

Urine

Urine de 24 h < 580 mmol/24 h (< 35 g/24 h)
 1^{ère} urine du matin 150-500 mmol/L (0,9-3,0 g/dL)

Azote uréique (BUN) :**Sérum, plasma⁹**

Adultes (18 à 60 ans) 6-20 mg/dL
 Adultes (60 à 90 ans) 8-23 mg/dL
 Nourrissons (< 1 an) 4-19 mg/dL
 Nourrissons/enfants 5-18 mg/dL

Urine

Urine de 24 h¹⁰ 800-1666 mg/dL (12-20 g/24 h)^a

a) calculé à partir d'un volume moyen d'urine de 1,2 à 1,5 L/24 h.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques pour le sérum et le plasma

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 20, inter-série n = 20). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Taux 1	Taux 2
Moyenne	4,1 mmol/L (24,6 mg/dL)	31,0 mmol/L (186 mg/dL)
CV intra-série	2,3%	0,89%
CV inter-série	3,9%	2,8%

Comparaison de méthodes

Les concentrations en urée dans le sérum et le plasma humains obtenues avec la cassette COBAS INTEGRA Urea/BUN sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 ont été comparées avec celles déterminées à l'aide d'un test de détermination de l'urée du commerce sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 et un analyseur de chimie clinique d'un autre fabricant. Les échantillons ont été déterminés en double. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques. Les concentrations obtenues étaient situées entre 1,1 et 38,1 mmol/L (6,61 et 229 mg/dL).

	Analyseur COBAS INTEGRA 700	Autre analyseur
n	(n) 236	236
Coeff. de	(r) 0,999	0,999
corrélation	(r _s) 0,999	0,999
Régr. linéaire	y = 1,00x + 0,1 mmol/L	y = 0,98x + 0,2 mmol/L
Passing/Bablok ¹¹	y = 1,00x + 0,0 mmol/L	y = 1,00x + 0,0 mmol/L

Performances analytiques pour l'urine

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 20, inter-série n = 20). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Taux 1	Taux 2
Moyenne	421 mmol/L (2,53 g/dL)	679 mmol/L (4,08 g/dL)
CV intra-série	1,3%	1,2%
CV inter-série	1,8%	1,8%

Comparaison de méthodes

Les concentrations en urée dans l'urine humaine obtenues sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 avec la cassette COBAS INTEGRA Urea/BUN ont été comparées à celles obtenues avec un test de détermination de l'urée du commerce sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700. Les concentrations obtenues étaient situées entre 56,6 et 796 mmol/L (0,340 et 4,78 g/dL).

	Analyseur COBAS INTEGRA 700
n	(n) 120
Coeff. de	(r) 0,999
corrélation	(r _s) 0,998
Régr. linéaire	y = 1,0x + 1,3 mmol/L
Passing/Bablok ¹¹	y = 1,0x + 3,5 mmol/L

Bibliographie

1. Rock RC, Walker WG, Jennings CD. Nitrogen metabolites and renal function. Dans: Tietz NW, éd. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3^e édition. Philadelphie: WB Saunders 1987:669-704.
2. Richterich R, Colombo JP. Klinische Chemie. 4^e édition. Bâle: Karger S 1978:319-324.
3. Talke H, Schubert GA. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochenschr 1965;43:174.
4. Tiffany TO, Jansen JM, Burtis CA, Overton JB, Scott CD. Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate, by use of a GeMSAEC Fast Analyzer. Clin Chem 1972;18:829-840.
5. Sampson EJ, Baird MA, Burtis CA, Smith EM, Witte DL, Bayse DD. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980;26:816-826.
6. Guder WG, Narayanan S, Wissner H, Zawta B. List of Analytes; Pre-Analytical Variables. Brochure dans: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
8. Heil W, Koberstein R, Zawta B. Reference Ranges for Adults and Children. Pre-Analytical Considerations. 8^e édition 2004 (publication de Roche Diagnostics).
9. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders Co 1995:622-626.
10. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphie, PA: WB Saunders Co 1976:991.
11. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.
 ©2006 Roche Diagnostics

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Creatinine Jaffé Gen.2

Compensated Method for Serum and Plasma

Créatinine Jaffé 2^e génération

Méthode compensée pour le sérum et le plasma

Références des réactifs

COBAS INTEGRA	700 tests	Réf. 04810716 190
Creatinine Jaffé Gen.2		System-ID 07 6928 2
Calibrator f.a.s.	12 × 3 mL	Réf. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (pour les USA)	12 x 3 mL	Réf. 10759350 360
		System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 × 5 mL	Réf. 10171743 122
		System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 mL	Réf. 10171778 122
		System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 mL	Réf. 12149435 122
		System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 mL	Réf. 12149443 122
		System-ID 07 8000 6

● Cassette utilisable sur les analyseurs suivants :

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Codes d'application

COBAS INTEGRA Creatinine Jaffé Gen.2 (CREJ2)
Test CREJ2 (méthode compensée) : test ID 0-445 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus ; test ID 0-245 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 700/800

Domaine d'utilisation

Test *in vitro* pour la détermination quantitative de la créatinine dans le sérum et le plasma humain sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques²

La créatinine sérique est un produit de dégradation provenant de la déshydratation spontanée de la créatine de l'organisme. La majeure partie de la créatine se trouve dans les tissus musculaires sous forme de créatine-phosphate et joue le rôle de réservoir de stockage de haute énergie pour la conversion en adénosine- triphosphate. Le taux de formation de créatinine est pratiquement constant : 1 à 2% de la créatine se convertit en créatinine par 24 heures. Les taux de créatinine et d'urée sériques augmentent chez les patients présentant un dysfonctionnement rénal et particulièrement lorsque la filtration glomérulaire est diminuée. Lors des premières phases d'une atteinte rénale, l'élévation du taux d'urée dans le sérum précède généralement celle de la créatinine. Cependant, des facteurs tels que le régime alimentaire, le degré d'hydratation et le métabolisme protéique ont une influence sur le taux d'urée sérique. En revanche, les taux de créatinine sérique ont tendance à rester constants et ne sont pas affectés par les facteurs influençant les taux d'urée sérique. Par conséquent, la créatinine sérique est un examen de dépistage de la fonction rénale beaucoup plus fiable que l'urée sérique. Pour mesurer la filtration glomérulaire, un test de clairance de la créatinine est beaucoup plus sensible. Il nécessite un recueil des urines sur une période bien déterminée (généralement 24 heures) ainsi qu'un échantillon de sang.

Principe

Réaction de Jaffé cinétique tamponnée sans déprotéinisation. Stabilité dans le sérum et le plasma ^{3,4,5}
Dans une solution alcaline, la créatinine réagit avec le picrate pour former un produit jaune-rouge.

créatinine + acide picrique $\xrightarrow{\text{pH alcalin}}$ complexe jaune-rouge

La vitesse de formation de colorant (intensité de la couleur) est directement proportionnelle à la concentration de créatinine de l'échantillon. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 512 nm. Les échantillons de sérum et de plasma contiennent des protéines qui réagissent de manière non spécifique dans la réaction de Jaffé. Une correction de -18 µmol/L (-0,2 mg/dL) sur les résultats obtenus est automatiquement effectuée par l'analyseur.

Réactifs - composition et concentrations

Composants	Concentrations		
	R1	R2 = SR	Test
Hydroxyde de potassium	900		80 mmol/L
Phosphate	135		12 mmol/L
Acide picrique		38	4,4 mmol/L
pH	≥ 13,5	6,5	13

Le réactif R2 contient un tampon non réactif.

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde figurant dans le Recueil de méthodologies, Chapitre 1, Introduction.

Ce coffret contient parmi ses constituants les substances suivantes classées selon la directive 88/379/CEE :
Contact tél. : tous pays : +49-621-7590 ; USA : +1-800-428-2336



C

	Le réactif R1 contient de l'hydroxyde de potassium 5% v/v.
	Corrosif
R 1	Explosif à l'état sec.
R 4	Forme des composés métalliques explosifs très sensibles.
R 34	Provoque des brûlures.
S 24/25	Eviter le contact avec la peau et les yeux.
S 26	En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

S 35	Ce produit et son flacon doivent être éliminés conformément au norme de sécurité.
S 37	Porter des gants appropriés.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 15 et 25°C : voir la date de péremption sur le réactif.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus
Sur l'analyseur, entre 10 et 15°C : 8 semaines
Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800
Sur l'analyseur, à 8°C : 8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons⁶

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum, non lipémique : prélever le sérum sur des tubes standard. Plasma, non lipémique, recueilli sur héparinate de lithium ou EDTA.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement de tous les fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Stabilité dans le sérum/plasma : 7 jours entre 20 et 25°C
7 jours entre 4 et 8°C
3 mois à -20°C

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Applications dans le sérum et le plasma

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde A/B	512/583 nm
Calc. premier/dernier	40/49
Mode réactionnel	R1-S-SR
Unité	µmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	13 µL	71 µL
Echantillon	10 µL	20 µL
SR	17 µL	16 µL
Volume total	147 µL	

Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde A/B	512/583 nm
Calc. premier/dernier	55/70
Mode réactionnel	R1-S-SR
Unité	µmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	13 µL	41 µL
Echantillon	10 µL	30 µL
SR	17 µL	36 µL
Volume total	147 µL	

Calibration

Calibrateur
Calibrator f.a.s.
Utiliser de l'eau déionisée pour le calibrateur zéro.
Régression linéaire
Duplication recommandée
Fréquence des calibrations
Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus :
A chaque cassette, tous les 7 jours et si le contrôle de qualité l'exige
Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800 :
A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à la DI/SM.⁴

Pour les USA, la méthode a été standardisée par rapport au matériel de référence primaire (SRM[®] 914).

a) Dilution isotopique/spectrométrie de masse
b) Standard Reference Material

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U ou Precinorm U plus
Limites pathologiques	Precipath U ou Precipath U plus
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section Références des réactifs. D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour l'analyseur COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Facteur de conversion : µmol/L × 0,0113 = mg/dL

Limites d'utilisation - interférences⁷

Critère d'acceptabilité : recouvrement dans les limites du seuil de décision pour adultes (90 µmol/L dans le sérum) ± 10% de la valeur initiale.

Hémolyse	Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus : Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 800 (concentration approximative d'hémoglobine : 800 mg/dL ou 497 µmol/L).
	Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800 : Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 400 (concentration approximative d'hémoglobine : 400 mg/dL ou 248 µmol/L).
Ictère	La méthode de Jaffé ne doit pas être utilisée pour le dosage de la créatinine dans les échantillons hémolysés de nouveau-nés, d'enfants et d'adultes dont le taux d'HbF est ≥ 60 mg/dL (analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus) ou ≥ 30 mg/dL (analyseurs COBAS INTEGRA 700/800).
	Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/700/800 : Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 5 (concentrations approximatives en bilirubine conjuguée et non conjuguée : 5 mg/dL ou 85 µmol/L).

Lipémie (Intralipid)	Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/700/800 : Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 250. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.
	Les antibiotiques à base de céphalosporine conduisent à des résultats faussement positifs ^{8,9} .

Autres	Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.
	Dans de rares cas, des concentrations < 0,2 mg/dL (< 18 µmol/L) ou des résultats négatifs ont été rapportés chez les enfants de moins de 3 ans et les personnes âgées. Dans de tels cas, l'échantillon doit être analysé avec le test Creatinine plus. L'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) à partir de la formule de Schwartz peut conduire à une surestimation. ¹⁰ Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Dans de rares cas, des concentrations < 0,2 mg/dL (< 18 µmol/L) ou des résultats négatifs ont été rapportés chez les enfants de moins de 3 ans et les personnes âgées. Dans de tels cas, l'échantillon doit être analysé avec le test Creatinine plus. L'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) à partir de la formule de Schwartz peut conduire à une surestimation.¹⁰ Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure

36^e-1300 µmol/L (0,4-15 mg/dL)

Domaine de mesure plus étendu (calculé)

Facteur de postdilution : 10 recommandé

36-13 000 µmol/L (0,4-150 mg/dL)

Compensation : -18 µmol/L (-0,2 mg/dL)

Limite inférieure de détection

18 µmol/L (0,2 mg/dL)

La limite inférieure de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est calculée sur la base d'études de précision effectuées avec des échantillons de sérum humain (inter-série, n = 10).

c) Valeur cumulative de la limite technique (18 µmol/L) et déviation de l'étape de compensation (18 µmol/L)

Valeurs de référence**Adultes¹¹**

Femmes	44-80 µmol/L	(0,50-0,90 mg/dL)
Hommes	62-106 µmol/L	(0,70-1,20 mg/dL)

Enfants¹²

Nouveau-nés (prématurés)	25-91 µmol/L	(0,29-1,04 mg/dL)
Nouveau-nés (à terme)	21-75 µmol/L	(0,24-0,85 mg/dL)
2 à 12 mois	15-37 µmol/L	(0,17-0,42 mg/dL)
1 à < 3 ans	21-36 µmol/L	(0,24-0,41 mg/dL)
3 à < 5 ans	27-42 µmol/L	(0,31-0,47 mg/dL)
5 à < 7 ans	28-52 µmol/L	(0,32-0,59 mg/dL)
7 à < 9 ans	35-53 µmol/L	(0,40-0,60 mg/dL)
9 à < 11 ans	34-65 µmol/L	(0,39-0,73 mg/dL)
11 à < 13 ans	46-70 µmol/L	(0,53-0,79 mg/dL)
13 à < 15 ans	50-77 µmol/L	(0,57-0,87 mg/dL)

Clairance de la créatinine pour les adultes^{13,14} 71-151 mL/min
Pour la clairance de la créatinine pour les enfants, voir les résultats d'une étude prospective sous la référence bibliographique 10.¹⁰

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques pour le sérum et le plasma

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 21, inter-série n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Taux 1	Taux 2
Moyenne	66,0 µmol/L (0,75 mg/dL)	330 µmol/L (3,73 mg/dL)
CV intra-série	3,1%	1,4%
Moyenne	65,6 µmol/L (0,74 mg/dL)	323 µmol/L (3,65 mg/dL)
CV inter-série	2,8%	1,3%

Comparaison de méthodes

Les concentrations de créatinine dans le sérum et le plasma humains obtenues avec le réactif COBAS INTEGRA Creatinine Jaffé (méthode compensée) sur un analyseur COBAS INTEGRA 700 ont été comparées à celles obtenues avec des réactifs pour la détermination de la créatinine du commerce sur un analyseur COBAS INTEGRA 700 (méthode Créatinine plus).

Analyseur COBAS INTEGRA 700	n = 90
Method: enzymatique	
Passing/Bablok	Régression linéaire
y = 1,03x - 2,58 µmol/L	y = 1,03x - 1,81 µmol/L
r = 0,947	r = 0,999
s (md 95) = 14,4	Sy.x = 6,65

Les concentrations obtenues étaient situées entre 20,2 et 821 µmol/L (0,23 et 9,29 mg/dL).

Bibliographie

1. Foster-Swanson A, Swartzendruber M, Roberts P et al. Reference Interval Studies of the Rate-Blanked Creatinine/Jaffé Method on BM/Hitachi Systems in Six U. S. Laboratories. Clin Chem 1994; Abstract No. 36.
2. Rock RC, Walker WG, Jennings CD. Nitrogen metabolites and renal function. Dans: Tietz NW, éd. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3^e édition. Philadelphia: WB Saunders 1987:669-704.
3. Jaffé M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. Z Physiol Chem. 1886;10:391-400.
4. Fabiny DL, Ertinghausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CentrifChem. Clin Chem 1971;17:696-700.
5. Bartels H, Böhmer M. Micro-determination of creatinine. Clin Chim Acta 1971;32:81-85.
6. Guder WG, Narayanan S, Wissner H, Zawta B. List of Analytes; Pre-Analytical Variables. Brochure dans: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
8. Kroll MH. Some observations on the reaction mechanism of Cefoxitin and Cephalothin with picrate. Microchem J 1990;42:241-249.
9. Ducharme MP, Smythe M, Strohs G. Drug-induced alterations in serum creatinine concentrations. Annal Pharmacotherapy 1993;27:622-633.
10. Wuyts B, Bernard D, van den Noortgate N, van de Walle J et al. Reevaluation of Formulas for Predicting Creatinine Clearance in Adults and Children Using Compensated Creatinine Methods. Clin Chem 2003;49:1011-4.
11. Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference Range and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffé Creatinine Assays in Plasma and Serum and Early Morning Urine. Clin Lab 2000;46:53-55.
12. Schlebusch H, Liappis N, Klein G. High sensitive CRP and creatinine: reference intervals from infancy to childhood. J Lab Med 2002;26:341-346.
13. Junge W, Wilke B, Halabi A, Klein G. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffé method. Clin Chim Acta 2004;344:137-148.
14. Zawta B, Delanghe J, Taes Y, van den Noortgate N, Taes Y, Lameire N, Engel W. Arithmetic Compensation for Pseudo-Creatinine Interferences of the Creatinine Jaffé Method and its Effect on Creatinine Clearance Results. Clin Chem Part 2, Suppl 5 June 2001;46(6):487.
15. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

©2006 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Aspartate Aminotransferase

Pyridoxal Phosphate Activated (Liquid Reagent)

Aspartate Aminotransférase

Activée par le pyridoxal phosphate (réactif liquide)

Références des réactifs

COBAS INTEGRA*	500 tests	Réf. 20764949
Aspartate Aminotransférase		System-ID 07 6494 9
Calibrator f.a.s.	12 × 3 ml	Réf. 10759350
		System-ID 07 3718 6
Precinorm* U	20 × 5 ml	Réf. 10171743
		System-ID 07 7997 0
Precipath* U	20 × 5 ml	Réf. 10171778
		System-ID 07 7998 9
Precinorm* U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149435
		System-ID 07 7999 7
Precipath* U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149443
		System-ID 07 8000 6

● Cassette utilisable sur les analyseurs suivants :

INTEGRA 400/ 400 plus	INTEGRA/ INTEGRA 700	INTEGRA 800
●	●	●

Domaine d'utilisation

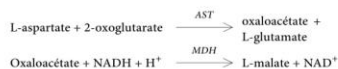
La cassette COBAS INTEGRA Aspartate Aminotransférase (ASTL) contient des réactifs de diagnostic *in vitro* destinés à la détermination quantitative de l'activité catalytique de l'AST, (EC 2.6.1.1 ; L-aspartate : 2-oxoglutarate aminotransférase) dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA. Cette fiche de méthode décrit l'application pour l'AST activée par le phosphate de pyridoxal (test ASTPL, 0-594). L'application pour l'ASTL sans phosphate de pyridoxal est décrite dans la fiche de méthode Aspartate aminotransférase.

Généralités^{1,2}

L'aspartate aminotransférase (AST) est présente dans de nombreux tissus et plus particulièrement dans les tissus hépatique, cardiaque, musculaire, ainsi que dans les reins. Les maladies impliquant ces tissus se manifestent par des taux sériques élevés. Les maladies hépatobiliaires comme la cirrhose, les carcinomes métastatiques et les hépatites virales augmentent également les taux d'AST dans le sérum. Suite à un infarctus du myocarde, le taux d'AST sérique augmente et atteint son maximum deux jours après l'attaque. Deux isoenzymes de l'AST ont été détectées, l'une cytoplasmique et l'autre mitochondriale. Le sérum normal ne contient que des isoenzymes cytoplasmiques. En revanche, lors des maladies coronariennes ou hépatobiliaires, le sérum contient les deux formes d'isoenzyme. L'addition de phosphate de pyridoxal à la substance analysée augmente l'activité de l'aminotransférase. L'activation est plus élevée pour l'AST que pour l'ALT. L'activation du phosphate de pyridoxal évite une activité anormalement basse de l'aminotransférase dans les échantillons de patients ayant un taux de phosphate de pyridoxal endogène insuffisant (carence en vitamine B₆).

Principe

Selon les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) avec pyridoxal phosphate.^{3,4} L'AST de l'échantillon catalyse le transfert du groupement amine entre le L-aspartate et le 2-oxoglutarate pour former de l'oxaloacétate et du L-glutamate. L'oxaloacétate réagit ensuite avec le NADH, en présence de malate-déshydrogénase (MDH), pour former du NAD⁺. Le pyridoxal phosphate agit comme une coenzyme dans la réaction de transfert d'amine. Il garantit une activation enzymatique complète.



La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'AST. Elle est mesurée par la diminution de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Enzyme, flacon A (liquide)
R2 = SR NADH, flacons B et C (liquide)

Principes actifs

Composants	R1	s	SR	Test
TRIS	264		80	mmol/l
L-aspartate	792		240	mmol/l
MDH (microbienne)	≥ 24		≥ 7	μkat/l (≥ 0,4 kU/l)
LDH (microbienne)	≥ 48		≥ 15	μkat/l (≥ 0,9 kU/l)
Albumine (bovine)	0,25		0,08	%
Pyridoxal phosphate	730		100	μmol/l
NADH		≥ 1,7	≥ 0,2	mmol/l
2-oxoglutarate		94	12	mmol/l
Azide de sodium	0,09	0,09	0,05	%
pH (37°C)	7,8		7,8	

Le réactif R1 contient des stabilisateurs non réactifs ; les réactifs SD et SR contiennent des tampons non réactifs. Pour le volume des réactifs, se reporter à l'étiquette de la cassette.

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde figurant au Chapitre 1, Introduction, et en particulier le point 6 (azide de sodium).

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8°C :	Voir la date de péremption sur la cassette.
INTEGRA 400	
Sur l'analyseur entre 10 et 15°C :	12 semaines
INTEGRA 700/800	
Sur l'analyseur à 8°C :	12 semaines

Pour le volume des réactifs, se reporter à l'étiquette de la cassette.

Prélèvement et préparation des échantillons

Seuls les échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés. Sérum, exempt d'hémolyse : sérum recueilli sur tubes standard. Plasma, exempt d'hémolyse : sang total recueilli sur héparinate de lithium ou EDTA. Ne pas utiliser d'autres anticoagulants. En cas d'utilisation de tubes primaires, suivre les instructions données par le fabricant. Utiliser de préférence du sérum exempt d'hémolyse.

Stabilité :	1 jour entre 20 et 25°C ⁵ 7 jours entre 4 et 8°C ⁶
-------------	---

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations »

Matériel auxiliaire nécessaire

Pyridoxal Phosphate, Réf. 20764965, System-ID 07 6496 5. La solution de pyridoxal phosphate est prête à l'emploi et se place sur le portoir à sa position prédéfinie. Un flacon suffit pour environ 500 tests et reste stable sur l'analyseur pendant 8 semaines.

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisées indiquées dans la présente notice. Se référer au manuel d'utilisation approprié pour les instructions spécifiques du test.

Application dans le sérum et le plasma

INTEGRA 400 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-SD+S----SR
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/378 nm
Calc. premier/dernier	71/96
Domaine de mesure	0-700 U/l (0-11,7 μkat/l)
avec postdilution	0-7 000 U/l (0-117 μkat/l)
Facteur de postdilution	10 recommandé
Unité	U/l

L'ASTPL est déterminée comme test de longue durée (cycle analytique : env. 17 min.).

Paramètres de pipetage

	Diluant (H ₂ O)
R1	40 μl
Echantillon	29 μl
Diluant spécial (SD)	8 μl
SR	18 μl
Volume total	17 μl
	9 μl
	132 μl

INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-SD/S-SR
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/378 nm
Calc. premier/dernier	113/156
Domaine de mesure	0-700 U/l (0-11,7 μkat/l)
avec postdilution	0-7 000 U/l (0-117 μkat/l)
Facteur de postdilution	10 recommandé
Unité	U/l

L'ASTPL est déterminée comme test de longue durée (cycle analytique : env. 16 min.).

Paramètres de pipetage

	Diluant (H ₂ O)
R1	40 μl
Echantillon	29 μl
Diluant spécial (SD)	8 μl
SR	18 μl
Volume total	17 μl
	9 μl
	132 μl

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s.
	Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.

Mode de calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot

Traçabilité : la méthode a été standardisée manuellement par rapport à la préparation de l'IFCC.⁷

Contrôle de qualité

Valeurs normales	Precinorm U ou Precinorm U plus
Limites pathologiques	Precipath U ou Precipath U plus
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement l'activité en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour COBAS INTEGRA 400/800). Facteur de conversion : U/l × 0,0167 = μkat/l

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale.

Sérum, plasma	
Hémolyse	L'activité de l'AST étant quinze fois plus élevée dans les érythrocytes que dans les sérums normaux, la contamination par les érythrocytes conduit à une élévation des résultats.
Ictère	Pas d'interférence significative.
Lipémie	Les échantillons lipidiques peuvent être à l'origine d'un message signalant une absorbance trop élevée. Sélectionner le redosage automatique après dilution de l'échantillon.

Anticoagulants	Le citrate et le fluorure inhibent l'activité enzymatique.
Médicaments	Les interférences médicamenteuses ont été testées <i>in vitro</i> selon les recommandations du Symposium <i>Drug Effects in Clinical Chemistry Methods</i> (1996). ⁸ Le dobésilate de calcium et la doxycycline HCl conduisent, aux concentrations testées, à l'obtention de taux d'AST faussement bas. Une liste des médicaments testés avec leur concentration se trouve au Chapitre 1, Introduction.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Valeurs de référence

Méthode IFCC et « Méthode Standard 1994 » avec activation par le pyridoxal phosphate :

37°C Femmes	10-35 U/l	(0,17-0,58 µkat/l)
Hommes	10-50 U/l	(0,17-0,83 µkat/l)

Domaines de référence selon Tietz avec activation par le pyridoxal phosphate :³

37°C Femmes	13-35 U/l	(0,22-0,58 µkat/l)
Hommes	15-40 U/l	(0,25-0,67 µkat/l)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir, si nécessaire, ses propres intervalles de référence selon la population examinée.

Performances analytiques⁷

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons de sérum humain et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 20, inter-série n = 20). Les résultats suivants ont été obtenus.

	Taux 1	Taux 2
Moyenne	48 U/l	162 U/l
	(0,80 µkat/l)	(2,69 µkat/l)
CV intra-série	2,6%	1,8%
CV inter-série	2,9%	2,0%

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)

1 U/l (0,02 µkat/l)

La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type résultant de 30 mesures du standard zéro (standard 0 + 3s, précision intra-série : n = 30).

Comparaison de méthodes

Les taux d'AST obtenus dans le sérum et le plasma humains avec la cassette COBAS INTEGRA Aspartate Aminotransférase (ASTL) sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700, ont été comparés avec ceux obtenus avec des réactifs AST (avec activation par le pyridoxal phosphate) du commerce sur COBAS INTEGRA 700 et sur un autre analyseur de chimie clinique du commerce. Les échantillons ont été déterminés en double. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques. Les concentrations obtenues étaient situées entre 12,7 et 604 U/l (0,21 et 10,1 µkat/l).

	COBAS INTEGRA	Autre analyseur
n	232	212
Coeff. de corrélation (r)	0,999	0,999
(r _s)	0,998	0,996
Régression linéaire	y = 1,06x - 2,2 U/l	y = 1,02x + 0,9 U/l
Passing/Bablok	y = 1,03x - 1,0 U/l	y = 1,02x + 1,1 U/l

Bibliographie

- Nagy B. Muscle disease. Dans : Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation*. St. Louis: Mosby 1984:514.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. Dans: Tietz NW, éd. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3^e édition. Philadelphie: WB Saunders 1987:346-421.
- Bergmeyer HU, Hørdér M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986;24:497-510.
- ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1, ASAT) *Klin Chem Mitt* 1989;20:198-204.
- Tietz NW, éd. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders 1995:76-77.
- Guder WG, Narayanan H, Wisser et al. List of Analytes; Preanalytical Considerations. Roche Diagnostics, édition 2000.
- Documentation de Roche Diagnostics
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- Klaue R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ-glutamyltransferase at 37°C. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993; 31:901-909.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Alanine Aminotransferase

Pyridoxal Phosphate Activated (Liquid Reagent)

Alanine aminotransférase

Activée par le pyridoxal phosphate (réactif liquide)

Références des réactifs

COBAS INTEGRA*	500 tests	Réf. 20764957
Alanine Aminotransferase		System-ID 07 6495 7
Calibrator f.a.s.	12 × 3 ml	Réf. 10759350
		System-ID 07 3718 6
Precinorm* U	20 × 5 ml	Réf. 10171743
		System-ID 07 7997 0
Precipath* U	20 × 5 ml	Réf. 10171778
		System-ID 07 7998 9
Precinorm* U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149435
		System-ID 07 7999 7
Precipath* U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149443
		System-ID 07 8000 6

● Cassette utilisable sur les analyseurs suivants :

INTEGRA 400/ 400 plus	INTEGRA/ INTEGRA 700	INTEGRA 800
●	●	●

Domaine d'utilisation

La cassette COBAS INTEGRA Alanine Aminotransférase (ALT) contient un système de réactifs de diagnostic *in vitro* destiné à la détermination quantitative de l'activité catalytique de l'ALT (EC 2.6.1.2 ; L-alanine : 2-oxoglutarate aminotransférase) dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA. Cette fiche de méthode décrit l'application pour l'ALT activée par le pyridoxal phosphate (test ALTPL, 0-595). L'application pour l'ALT sans activation par le pyridoxal phosphate est décrite dans la fiche de méthode Alanine aminotransférase.

Généralités^{1,2}

L'enzyme alanine-aminotransférase (ALT) est présente dans de nombreux tissus. On la trouve surtout dans le foie, d'où l'intérêt de mesurer son activité pour le diagnostic des maladies hépatiques. On observe une ALT sérique élevée dans les cas d'hépatites, de cirrhoses, d'ictères par obstruction, d'épithéliomes du foie et chez les alcooliques chroniques. L'ALT augmente légèrement chez les patients souffrant d'un infarctus du myocarde sans complication. Bien que l'AST (aspartate-aminotransférase) et l'ALT sériques augmentent toutes les deux lorsque la maladie attaque l'intégrité des cellules hépatiques, l'enzyme ALT est plus spécifique du foie. De plus, les augmentations d'activité de l'ALT persistent davantage que celles de l'AST. L'addition de pyridoxal phosphate à la substance analysée augmente l'activité de l'aminotransférase. L'activation est plus élevée pour l'AST que pour l'ALT. L'activation par le pyridoxal phosphate évite une activité anormalement basse de l'aminotransférase dans les échantillons de patients ayant un taux de pyridoxal phosphate endogène insuffisant (carence en vitamine B₆).

Principe

Selon les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) avec pyridoxal phosphate.^{3,4} L'ALT catalyse la réaction entre la L-alanine et le 2-oxoglutarate. Le pyruvate formé est réduit par le NADH, dans une réaction catalysée par la lactate-déshydrogénase (LDH), pour former du L-lactate et du NAD⁺. Le pyridoxal phosphate agit comme une coenzyme dans la transamination. Il garantit une activation enzymatique complète.



La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALT. Elle est mesurée par la diminution de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Enzyme, flacons A et B (liquide)
R2 = SR NADH, flacon C (liquide)

Principes actifs

Composants	R1	s	SR	Test
TRIS	224		100	mmol/l
L-alanine	1120		500	mmol/l
LDH (microbienne)	≥ 45		≥ 20	µkat/l (≥ 1,2 kU/l)
Albumine (bovine)	0,25		0,11	%
Pyridoxal phosphate	730		100	µmol/l
NADH		≥ 1,7	≥ 0,2	mmol/l
2-oxoglutarate		94	12	mmol/l
Azide de sodium	0,09	0,09	0,06	%
pH (37°C)	7,3		7,3	

Le réactif R1 contient des stabilisateurs non réactifs. Les réactifs SD et SR contiennent des tampons non réactifs. Pour le volume des réactifs, se reporter à l'étiquette de la cassette.

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde figurant au Chapitre 1, Introduction, et en particulier le point 6 (azide de sodium).

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8°C : voir la date de péremption sur la cassette.

INTEGRA 400

Sur l'analyseur, entre 10 et 15°C : 12 semaines

INTEGRA 700/800

Sur l'analyseur, à 8°C : 12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Seuls les échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés. Sérum, exempt d'hémolyse : sérum recueilli sur tubes standard. Plasma, exempt d'hémolyse : sang total recueilli sur héparinate de lithium ou EDTA. Ne pas utiliser d'autres anticoagulants. En cas d'utilisation de tubes primaires, suivre les instructions données par le fabricant. Utiliser de préférence du sérum exempt d'hémolyse.

Stabilité :⁵
1 jour entre 20 et 25°C
1 jour entre 4 et 8°C

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations »

Matériel auxiliaire nécessaire

Pyridoxal Phosphate, Réf. 20764965, System-ID 07 6496 5. La solution de phosphate de pyridoxal est prête à l'emploi et se place sur le portoir à sa position prédéfinie. Un flacon suffit pour environ 500 tests et reste stable sur l'analyseur pendant 8 semaines.

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Se référer au manuel d'utilisation approprié pour les instructions spécifiques du test.

Application dans le sérum et le plasma

INTEGRA 400 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-SD-S-SR
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/378 nm
Calc. premier/dernier	39/64
Domaine de mesure	0-700 U/l (0-11,7 µkat/l)
avec postdilution	0-7 000 U/l (0-117 µkat/l)
Facteur de postdilution	10 recommandé
Unité	U/l

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	59 µl	10 µl
Echantillon	11 µl	8 µl
Diluant spécial (SD)	18 µl	
SR	17 µl	9 µl
Volume total	132 µl	

INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-SD/S-SR
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/378 nm

Calc. premier/dernier	54/97
Domaine de mesure	0-700 U/l (0-11,7 µkat/l)
avec postdilution	0-7 000 U/l (0-117 µkat/l)
Facteur de postdilution	10 recommandé
Unité	U/l

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	59 µl	10 µl
Echantillon	11 µl	
Diluant spécial (SD)	18 µl	8 µl
SR	17 µl	9 µl
Volume total	132 µl	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s.
	Utiliser de l'eau déionisée pour le calibrateur zéro.
Mode de calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot

Traçabilité : la méthode a été standardisée manuellement par rapport à la préparation originale de l'IFCC.⁶

Contrôle de qualité

Valeurs normales	Precinorm U ou Precinorm U plus
Limites pathologiques	Precipath U ou Precipath U plus
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement l'activité en analyse de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour COBAS INTEGRA 400/800).
Facteur de conversion : U/l × 0,0167 = µkat/l

Limites d'utilisation - Interférences

Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale.

Sérum, plasma

Hémolyse	Toute contamination érythrocytaire peut conduire à l'obtention de résultats faussement élevés, les taux d'ALT dans les érythrocytes étant trois à cinq fois plus élevés que dans le sérum normal. Pas d'interférence significative.
Ictère	
Lipémie	Les échantillons lipidiques peuvent être à l'origine d'un message signalant une absorbance trop élevée. Sélectionner le redosage automatique après dilution de l'échantillon.

Anticoagulants

Le citrate et le fluorure inhibent l'activité enzymatique. Les interférences médicamenteuses ont été testées *in vitro* selon les recommandations du Symposium *Drug Effects in Clinical Chemistry Methods* (1996).⁷ Le doxycycline HCl conduit, aux concentrations testées, à l'obtention de taux d'ALT faussement bas. Une liste des médicaments testés avec leur concentration se trouve au Chapitre 1, Introduction.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Valeurs de référence

Méthode IFCC et « Méthode Standard 1994 » avec activation des échantillons par le pyridoxal phosphate :⁸

37°C Femmes	10-35 U/l	(0,17-0,58 µkat/l)
Hommes	10-50 U/l	(0,17-0,83 µkat/l)

Domaines de référence selon Tietz avec activation des échantillons par le pyridoxal phosphate :⁵

37°C Femmes	7-35 U/l	(0,12-0,58 µkat/l)
Hommes	10-40 U/l	(0,17-0,67 µkat/l)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir, si nécessaire, ses propres intervalles de référence selon la population examinée.

Performances analytiques⁶

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 20, inter-série n = 20). Les résultats suivants ont été obtenus.

	Taux 1	Taux 2
Moyenne	41 U/l (0,68 µkat/l)	132 U/l (2,20 µkat/l)
CV intra-série	1,5%	0,73%
CV inter-série	2,0%	1,3%

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)

1 U/l (0,02 µkat/l)

La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type résultant de 30 mesures du standard zéro (standard 0 + 3s, précision intra-série : n = 30).

Comparaison de méthodes

Les taux d'ALT obtenus dans le sérum et le plasma humains avec la cassette COBAS INTEGRA Alanine Aminotransferase (ALT) sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700, ont été comparés avec ceux obtenus avec des réactifs ALT (avec activation par le pyridoxal phosphate) du commerce sur COBAS INTEGRA et sur un autre analyseur de chimie clinique du commerce. Les échantillons ont été déterminés en double. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques. Les concentrations obtenues étaient situées entre 4 et 446 U/l (0,07 et 7,43 µkat/l).

	COBAS INTEGRA	Autre analyseur
n	228	222
Coeff. de corrélation (r)	1,000	0,999
(r _s)	0,998	0,997
Régression linéaire	y = 1,06x - 2,3 U/l	y = 1,03x + 0,3 U/l
Passing/Bablok	y = 1,05x - 1,8 U/l	y = 1,03x + 0,6 U/l

Bibliographie

1. Sherwin JE. Liver function. Dans : Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby 1984:420-438.
2. Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. Dans: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3^e édition. Philadelphie: WB Saunders 1987:346-421.
3. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:481-495.
4. ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2, ALAT) Klin Chem Mitt 1989;20:204-211.
5. Tietz NW, éd. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders 1995:20-21.
6. Documentation de Roche Diagnostics
7. Breuer J, Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
8. Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ-glutamyltransferase at 37°C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901-909.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



γ-Glutamyltransferase ver.2

Standardized against Szasz

γ-Glutamyltransférase version 2

Standardisation par rapport à la méthode de Szasz

Références des réactifs

COBAS INTEGRA*	400 tests	Réf. 03002721
γ-Glutamyltransférase ver.2		System-ID 07 6598 8
Calibrateur f.a.s.	102 × 3 ml	Réf. 10759350
		System-ID 07 3718 6
Precinorm* U	20 × 5 ml	Réf. 10171743
		System-ID 07 7997 0
Precipath* U	20 × 5 ml	Réf. 10171778
		System-ID 07 7998 9
Precinorm* U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149435
		System-ID 07 7999 7
Precipath* U plus	10 × 3 ml	Réf. 12149443
		System-ID 07 8000 6

● Cassette utilisable sur les analyseurs suivants :

INTEGRA 400/ 400 plus	INTEGRA/ INTEGRA 700	INTEGRA 800
●	●	●

Domaine d'utilisation

La cassette COBAS INTEGRA γ-Glutamyltransférase ver.2 (GGT-2) contient des réactifs de diagnostic *in vitro* destinés à la détermination quantitative de l'activité catalytique de la γ-GT, (EC 2.3.2.2 ; γ-glutamyl peptide : acide aminé γ-glutamyl-transférase) dans le sérum et le plasma. Cette fiche de méthode décrit l'application de la standardisation selon Szasz (test GGTS2, 0-598).

Généralités¹⁻⁵

La gamma-glutamyltransférase sert au diagnostic et au suivi de maladies du foie et des voies biliaires. L'augmentation, souvent isolée, de l'activité de la γ-GT est l'un des indicateurs les plus sensibles d'une affection du foie ou des voies biliaires. Le dosage de la γ-GT est en outre un test sensible utilisé dans le dépistage de l'alcoolisme occulte. Des taux élevés de γ-GT dans le sérum se rencontrent également en cas de traitements de longue durée par le phénobarbital ou la phénytoïne. La première méthode cinétique de détermination de l'activité de la γ-GT dans le sérum a été décrite en 1969 par Szasz ; le substrat auquel elle faisait appel était le γ-glutamyl-p-nitroanilide et l'accepteur la glycylglycine. Le γ-glutamyl-p-nitroanilide étant peu soluble dans l'eau, Persijn et van der Slik ont testé la solubilité de nombreuses variantes de ce substrat. Le L-γ-glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide s'est avéré le plus soluble et le plus stable. La méthode de dosage décrite ci-après utilise cet anilide comme substrat. Les résultats obtenus concordent avec ceux obtenus avec l'ancienne méthode de dosage.

Principe⁶

Test colorimétrique enzymatique.

La γ-glutamyl-transférase transfère le groupement γ-glutamyl du L-γ-glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide sur la glycylglycine.

L-γ-glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide + glycylglycine $\xrightarrow{\gamma\text{-GT}}$

L-γ-glutamyl-glycylglycine + amino-5 nitro-2 benzoate

La quantité d'amino-5 nitro-2 benzoate formée est proportionnelle à l'activité de la γ-GT dans l'échantillon. On la mesure avec l'augmentation de l'absorbance à 409 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon/glycylglycine, flacon A (liquide)

R2 = SR Tampon/substrat, flacon C (liquide)

Principes actifs

Composants	Concentrations			
	R1	SR	Test	
TRIS	492		100	mmol/l
Glycylglycine	492		100	mmol/l
Acétate		10	1,63	mmol/l
L-γ-glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide		25	4,1	mmol/l
pH (25°C)	8,25	4,5		

Les deux réactifs contiennent des stabilisateurs et des conservateurs non réactifs.

Pour le volume des réactifs, se reporter à l'étiquette de la cassette.

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les mises en garde et les précautions d'emploi figurant dans le Chapitre 1, Introduction. Mise en garde: Le substrat et ses produits de réaction contiennent un dérivé dangereux de la nitroaniline. En cas de contact avec les yeux ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8°C : voir la date de péremption sur la cassette.

INTEGRA 400	
Sur l'analyseur, entre 10 et 15°C :	12 semaines
INTEGRA 700/800	
Sur l'analyseur, à 8°C :	12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Seuls les échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum : sérum recueilli sur tubes standard.

Plasma : plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium, d'ammonium ou EDTA dipotassique/tripotassique. Les résultats obtenus dans le plasma recueilli sur EDTA tripotassique sont de 6% inférieurs à ceux obtenus dans le sérum.

En cas d'utilisation de tubes primaires, suivre les instructions données par le fabricant des tubes.

Stabilité : 7 jours entre 20 et 25°C⁷
7 jours entre 4 et 8°C⁸
1 an à -20°C⁷

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations »

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Se référer au manuel d'utilisation approprié pour les instructions spécifiques du test.

Application dans le sérum et le plasma

INTEGRA 400 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	50/69
Domaine de mesure	0-1200 U/l (0-20 µkat/l)
avec postdilution	0-12000 U/l (0-200 µkat/l)
Facteur de postdilution	10 recommandé
Unité	U/l

Paramètres de pipetage

	Diluant (H ₂ O)	
R1	25 µl	35 µl
Echantillon	3 µl	20 µl
SR	20 µl	20 µl
Volume total	123 µl	

INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	73/98
Domaine de mesure	0-1200 U/l (0-20 µkat/l)
avec postdilution	0-12000 U/l (0-200 µkat/l)
Facteur de postdilution	10 recommandé
Unité	U/l

Paramètres de pipetage

	Diluant (H ₂ O)	
R1	25 µl	35 µl
Echantillon	3 µl	20 µl
SR	20 µl	20 µl
Volume total	123 µl	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s.
	STD-2 est défini par une valeur fixe (INTEGRA 400)
	STD-2 est défini par une dilution de STD-1 au 1/100 (INTEGRA 700/800) effectuée automatiquement par l'analyseur
Mode de calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot

Traçabilité : la méthode a été standardisée manuellement par rapport à la formule originale de Persijn et van der Slik (1976).⁹ Utiliser la valeur de calibration « GGT Liquide, standardisation par rapport à la méthode de Szasz ».

Contrôle de qualité

Valeurs normales	Precinorm U ou Precinorm U plus
Limites pathologiques	Precipath U ou Precipath U plus
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement l'activité en analyse de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour COBAS INTEGRA 400/800).

Facteur de conversion : U/l × 0,0167 = µkat/l

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale.

Sérum, plasma

Hémolyse	Pas d'interférence significative de l'hémoglobine jusqu'à 0,34 mmol/l (5,5 g/l).
Ictère	Pas d'interférence significative de la bilirubine non conjuguée jusqu'à 821 µmol/l (48 mg/dl). Pas d'interférence significative de la bilirubine conjuguée.
Lipémie	Pas d'interférence significative.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Valeurs de référence

Mesuré à 37°C⁹

Femmes	5-36 U/l	(0,08-0,60 µkat/l)
Hommes	8-61 U/l	(0,13-1,02 µkat/l)

Des facteurs de conversion vers d'autres températures de mesure ont été publiés¹⁰ mais n'ont pas été vérifiés par Roche pour ce test. Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir, si nécessaire, ses propres intervalles de référence selon la population examinée.

Performances analytiques*

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 21, inter-série n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Taux 1	Taux 2
Moyenne	40 U/l (0,67 µkat/l)	220 U/l (3,7 µkat/l)
CV intra-série	1,8%	1,0%
Moyenne	41 U/l (0,68 µkat/l)	210 U/l (3,5 µkat/l)
CV inter-série	2,0%	1,3%

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)

3 U/l (0,05 µkat/l)

La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type résultant de 21 mesures du standard zéro. (standard 0 + 3s, précision intra-série : n = 21).

Comparaison de méthodes

Les taux de GGT dans le sérum et le plasma humains obtenus avec la cassette COBAS INTEGRA γ-Glutamyltransferase ver.2 (GGT-2) et l'application GGTS2 sur l'analyseur COBAS INTEGRA 800 ont été comparés avec les taux obtenus avec le même test l'analyseur Roche/Hitachi 917 et les taux obtenus avec le test précédent (GGTL) sur l'analyseur COBAS INTEGRA 800.

Roche/Hitachi 917	n = 65
Passing/Bablok	Régression linéaire
$y = 1,01x - 1,22$ U/l	$y = 1,01x - 0,91$ U/l
$\tau = 0,992$	$r = 1,000$
s (md 95) = 6,12	Sy.x = 2,73

Les concentrations obtenues étaient situées entre 39 et 888 U/l (0,65 et 14,8 µkat/l).

COBAS INTEGRA 800	n = 50
Passing/Bablok	Régression linéaire
$y = 0,99x - 2,65$ U/l	$y = 1,00x - 3,64$ U/l
$\tau = 0,994$	$r = 1,000$
s (md 95) = 3,40	Sy.x = 2,36

Les concentrations obtenues étaient situées entre 39 et 548 U/l (0,65 et 9,2 µkat/l).

Bibliographie

1. Thomas L, éd. Labor und Diagnose, 4^e édition Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1992.
2. Shaw LM. Keeping pace with a popular enzyme GGT. Diagnostic Medicine 1982; Mai/Juin:1-8.
3. Szasz G. A kinetic photometric method for serum γ-glutamyl-transferase. J Clin Chem 1969;15:124-136.
4. Persijn JP, van der Slik W. A new Method for the Determination of γ-Glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1976;4:421.
5. Szasz G, Persijn JP et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:228.
6. Szasz G. Methods of Enzymatic Analysis. 2^e édition anglaise. New York: Academic Press Inc. 1974;717.
7. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders Company; 1995:286.
8. Documentation de Roche Diagnostics
9. Abicht K, El-Samalouti V, Junge W, Kroll M, Luthe H, Treskes M et al. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37°C reference intervals. Clin Chem Lab Med 2001;39, Special Supplement pp S346.
10. Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperature Conversion in Clinical Enzymology? Klin Lab 1994;40:33-42.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Total Bilirubin Special Bilirubine totale spéciale

Références des réactifs

COBAS INTEGRA	250 tests	Réf. 03261638 190
Total Bilirubin Special		System-ID 07 6721 2
Calibrator f.a.s.	12 x 3 ml	Réf. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (pour les USA)	12 x 3 ml	Réf. 10759350 360
		System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 x 5 ml	Réf. 10171743 122
		System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 x 5 ml	Réf. 10171778 122
		System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 x 3 ml	Réf. 12149435 122
		System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 x 3 ml	Réf. 12149443 122
		System-ID 07 8000 6

● Cassette utilisable sur les analyseurs suivants :

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Domaine d'utilisation

La cassette COBAS INTEGRA Total Bilirubin Special (BILTS) contient des réactifs de diagnostic *in vitro* destinés à la détermination quantitative de la bilirubine totale dans le sérum et le plasma d'adultes et de nouveau-nés (test BILTS, 0-985) sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Généralités*

La bilirubine est formée dans le système réticulo-endothélial lors de la dégradation des érythrocytes âgés. La partie hémique de l'hémoglobine et des autres protéines présentant un hème est séparée, métabolisée en bilirubine et transportée vers le foie complexée à la sérumbilumine. Au niveau hépatique, la bilirubine est conjuguée à l'acide glucuronique pour la solubiliser et permettre son transport par le canal biliaire et son élimination via le tractus digestif.

Les maladies ou les conditions dans lesquelles le processus hémolytique produit plus rapidement de la bilirubine que le foie de bilirubine (indirecte) non conjuguée circulant. Une immaturité hépatique et certains autres troubles au cours desquels le mécanisme de conjugaison de la bilirubine est altéré entraînent une augmentation similaire de la bilirubine non conjuguée circulant. Une obstruction du canal biliaire ou une altération de la structure hépatocellulaire entraîne à la fois une augmentation des taux de bilirubine (directe) conjuguée et de bilirubine (indirecte) non conjuguée dans la circulation.

Principe

Méthode diazo.*

En présence d'un agent solubilisant adapté, la bilirubine totale est couplée à un ion diazonium dans un milieu fortement acide (pH 1-2).



L'intensité de la coloration de l'azobilirubine développée est proportionnelle à la concentration en bilirubine totale de l'échantillon et peut être mesurée par photométrie.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon/agent solubilisant (liquide)
R2 = SR Ion diazonium (liquide)

Principes actifs

Composants	Concentrations		
	R1	R2	Test
Tampon acétate de sodium (C ₂ H ₃ NaO ₂)	85	64,2	mmol/l
Acide sulfamique (H ₂ NO ₂ S)	110	83,1	mmol/l
Tensio-actif			
Agent solubilisant			
HCl	100	20,1	mmol/l
Ion diazonium	3	0,60	mmol/l

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde figurant dans le Recueil de méthodologies, Chapitre 1, Introduction.

Pour les U.S.A. :

MISE EN GARDE. IRRITANT. Les flacons R1 et R2 contiennent de l'acide. Eviter le contact avec les yeux, la peau et les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau. En cas de contact avec les yeux, d'inhalation ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin.
Contact tél. : U.S.A. : +1-800-428-2336

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8°C : voir la date de péremption sur la cassette.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15°C : 5 semaines

Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800

Sur l'analyseur, à 8°C : 5 semaines

Conservé les réactifs à l'abri de la lumière.

Une décoloration de la solution ou la formation de particules n'ont aucune influence sur le résultat du test.

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum.

Plasma : les seuls anticoagulants acceptables sont l'EDTA de potassium et l'héparinate de lithium.

Ne pas utiliser d'échantillons de sang de cordon ombilical.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement de tous les fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité :¹ protéger les échantillons de la lumière et effectuer l'analyse immédiatement.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations »

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde A/B	552/629 nm
Calc. premier/dernier	33/50
Domaine de mesure	0-430 µmol/l (0-25 mg/dl)
avec postdilution	0-1720 µmol/l (0-100 mg/dl)
Facteur de postdilution	4 recommandé
Unité	µmol/l

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	120 µl	0 µl
Echantillon	2 µl	5 µl
SR	32 µl	0 µl
Volume total	159 µl	

Analyseurs COBAS INTEGRA 700/800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde A/B	552/629 nm
Calc. premier/dernier	44/74
Domaine de mesure	0-430 µmol/l (0-25 mg/dl)
avec postdilution	0-1720 µmol/l (0-100 mg/dl)
Facteur de postdilution	4 recommandé
Unité	µmol/l

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	120 µl	0 µl
Echantillon	2 µl	5 µl

SR	32 µl	0 µl
Volume total	159 µl	
Calibration		
Calibrateur	C.f.a.s.	
	Utiliser de l'eau déionisée pour le calibrateur zéro.	
Mode de calibration	Régression linéaire	
Nombre de répliques	Duplication recommandée	
Fréquence des calibrations	A chaque cassette, tous les 7 jours et si le contrôle de qualité l'exige	

Traçabilité¹ : la méthode a été standardisée par rapport à la méthode de Doumas.

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U ou Precinorm U plus
Limites pathologiques	Precipath U ou Precipath U plus
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section Références des réactifs. D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.

Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer au Chapitre 7, Données analytiques, Manuel d'utilisation (pour l'analyseur COBAS INTEGRA 700), ou à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Facteur de conversion : µmol/l x 0,0585 = mg/dl

Limites d'utilisation - Interférences*

Critère d'acceptabilité : taux de récupération ± 6,8 µmol/l (0,4 mg/dl) ou ± 10% (le plus grand des deux) par rapport à la valeur initiale.

Sérum, plasma

Hémolyse	Pas d'interférence par l'hémoglobine jusqu'à 1000 mg/dl.
Lipémie	Pas d'interférence par l'hémoglobine jusqu'à 1400 mg/dl (Intralipid).
Médicaments	Parmi les médicaments testés <i>in vitro</i> , l'acide ascorbique conduit, à la concentration de 30 mg/dl, à l'obtention de concentrations en bilirubine totale faussement basses. Une liste des médicaments testés avec leur concentration se trouve au Chapitre 1, Introduction.

Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés. Certains échantillons de patients atteints de la maladie de Kahler peuvent conduire à l'obtention de résultats présentant une erreur systématique par excès. Cette erreur systématique n'est pas observée dans tous les échantillons de patients atteints de la maladie de Kahler et son importance peut varier d'un patient à l'autre. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Valeurs de référence

Adultes et enfants ⁵	jusqu'à 17,1 µmol/l (jusqu'à 1,0 mg/dl)	
Nouveau-nés ⁶		
Age des nouveau-nés prématurés		
24 heures	17,1-102,6 µmol/l	(1,0-6,0 mg/dl)
48 heures	102,6-136,8 µmol/l	(6,0-8,0 mg/dl)
3 à 5 jours	171-256,5 µmol/l	(10,0-15,0 mg/dl)
Age des nouveau-nés (à terme)		
24 heures	34,2-102,6 µmol/l	(2,0-6,0 mg/dl)
48 heures	102,6-119,7 µmol/l	(6,0-7,0 mg/dl)
3 à 5 jours	68,4-205,2 µmol/l	(4,0-12,0 mg/dl)

REMARQUE : pour certains échantillons de patients dont la concentration en bilirubine totale relève principalement de la bilirubine directe, les concentrations en bilirubine directe peuvent être occasionnellement légèrement supérieures à celles de bilirubine totale. Dans ce cas, les résultats des deux tests doivent figurer dans le compte rendu du laboratoire. Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques⁴

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 21, inter-série n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne	15,80 µmol/l (0,92 mg/dl)	54,00 µmol/l (3,16 mg/dl)
CV intra-série	2,44%	1,39%
Moyenne	14,7 µmol/l (0,86 mg/dl)	47,20 µmol/l (2,76 mg/dl)
CV inter-série	4,13%	2,15%

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)

1,08 µmol/l (0,063 mg/dl)

La limite de détection correspond au taux de bilirubine le plus faible mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard 0 + 3s, précision intra-série : n = 21).

Comparaison de méthodes

Les concentrations en bilirubine totale dans le sérum et le plasma humains obtenues avec la cassette COBAS INTEGRA Total Bilirubin Special sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 ont été comparées avec celles déterminées à l'aide de réactifs pour la bilirubine totale sur les analyseurs COBAS INTEGRA 700 et Roche/Hitachi 917. Les échantillons ont été déterminés en double. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques. Les concentrations obtenues étaient situées entre 1,46 et 524,6 µmol/l (0,085 et 30,7 mg/dl).

Analyseur COBAS INTEGRA 700	n = 62
Passing/Bablok	Régression linéaire
$y = 1,05x - 2,823 \text{ µmol/l}$	$y = 1,07x - 4,071 \text{ µmol/l}$
$r = 0,9987$	$r_s = 0,9603$

Analyseur Roche/Hitachi 917	n = 73
Passing/Bablok	Régression linéaire
$y = 1,01x + 0,258 \text{ µmol/l}$	$y = 0,999x + 0,895 \text{ µmol/l}$
$r = 0,9995$	$r_s = 0,9684$

Bibliographie

1. Balistreri WF, Shaw LM. Liver function. Dans: Tietz NW, éd. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders Co 1987:729-761.
2. Wahlefeld AW, et al. Scand J Clin Lab Invest 1972;29 Supplement 126.
3. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders Co 1995:88.
4. Documentation de Roche Diagnostics
5. Sherlock S. Liver Disease. 1951; Churchill, Londres.
6. Meites S. Pediatric Clinical Chemistry: A Survey of Normals, Methods, and Instrumentation, with Commentary. Washington, DC 1977:48.

US Part Number 03861813006

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.
©2005 Roche Diagnostics

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Annexe XII

■ Tableau de comparaison entre l'Accréditation et la Certification

	Certification	Accréditation
Démarche volontaire ou réglementaire	Oui	oui
Intérêt	-apporte un plus en interne -meilleure réponse aux clients. -exigences par certains clients.	-apporte un plus en interne. -meilleure réponse aux clients. -exigence par le pouvoir public ou application de la réglementation dans certains pays.
Délivrance	-organisme certificateur, lui-même accrédité. -activité lucrative, politique ou commerciale. -auditeur	-organisme d'accréditation. -activité à but non lucratif. -expert indépendant
Ce qui est attesté	-attestation qu'une organisation est conforme aux exigences d'un référentiel.	-attestation que l'organisme est convenablement organisé pour remplir ses tâches et techniquement compétent. -raccordement des mesures effectuées au système international d'unités.
Activités concernées	-Toute activité sur un périmètre choisi (ensemble d'activités).	-Concerne les activités d'essais, d'étalonnage ou d'analyses (souvent une partie ; un champ bien défini).
Logo	-Ne jamais apposer le logo du certificateur.	-Toujours apposer le logo de l'accréditeur ; pour que la prestation soit bien considérée.

■ Tableau représentant les organismes accréditeurs.

	Nom de l'organisme	Région ou pays	remarques
International	Internal Accréditation Forum (IAF)	Mondiale	Regroupe 81 pays
Regional	European co-operation for Accreditation (EA)	Europe	Crée en 1999 Regroupe 36 pays
	African Accreditation Cooperation (AFRAC)	Afrique	
	Arab Accreditation Cooperation (ARAC)	Pays Arabes	Crée en juin 2008 Regroupe 17 pays
Local	Comité français d'accréditation (COFRAC)	France	Crée en 1994
	UKAS	Grande Bretagne	1 ^{er} dans le monde, reconnu par tout

■ Laboratoires accrédités en Algérie.

Types	Laboratoires accrédités	Normes	Activités concernées
Laboratoires d'essais et d'étalonnage	Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Nationale INCC-GN	ISO/CEI 17025 : 2005	Expertises criminalistiques
	Centre National de Toxicologie CNT	ISO/CEI 17025 : 2005	Dosage des médicaments dans le sang
	Institut Pasteur d'Algérie IPA	ISO/CEI 17025 : 2005	Recherche des virus de la grippe
Laboratoire d'analyses médicales	Laboratoire FECHKEUR, à Hassi Messaoud, installé en 2002 et accrédité en 2016	ISO/CEI 15189 : 2012	Biochimie

- Certificat d'accréditation du laboratoire FECHKEUR

D'ACCREDITATION

ORGANISME ALGERIEN

ALGERAC
الهيئة الجزائرية للاعتماد
Organisme Algérien d'Accréditation
Biologie Médicale 4-001

Certificat d'Accréditation

N°: 4-001 REV 00

ALGERAC, reconnu par le décret n° 05-466 du 06 décembre 2005, Atteste que :

EURL Laboratoire FECHKEUR

03, Impasse Fadhila SAADANE, Hassi Messaoud Wilaya de OUARGLA

est accrédité selon la norme ISO 15189:2012 et les règles d'application d'ALGERAC, pour les activités d'examens de biologie médicale dans le domaine suivant :

✓ **Biochimie.**

Les activités et les sites concernés, couverts par l'accréditation sont décrits dans l'annexe technique qui fait partie intégrante du présent certificat.

Durant la validité du présent certificat, l'organisme s'engage à respecter les exigences de l'accréditation.

Date prise d'effet : 09/11/2016
Date de fin de validité : 09/11/2019

Le Directeur Général



Noureddine BOUDISSA

FORM 16 Rev 04/15 - 07-2016

Résumé

La qualité au laboratoire demeure une préoccupation des professionnels de la santé, tout LBM doit disposer d'un système de gestion de la qualité suivant des normes internationales.

La norme ISO 15189 spécifie les exigences de qualité et de compétence des laboratoires de biologie médicale.

Nous avons tenté de vérifier ces exigences au niveau du laboratoire de biochimie du CHU TIZI OUZOU où nous avons élaboré un travail du mois de janvier jusqu'au mois d'avril sur trois automates.

Nous nous sommes intéressé à la vérification validation des méthodes ; qui est un prérequis au lancement du contrôle qualité, établissement d'un contrôle interne de qualité, qui représente une composante du contrôle des processus, s'intéressant au contrôle des étapes analytiques et enfin à un essai de planification du système de gestion de la qualité selon l'approche sigma métrique.

Les résultats retrouvés dans l'ensemble sont satisfaisants, les règles de contrôle sont plus ou moins respectées néanmoins des anomalies ont été relevées pour lesquelles des mesures correctives ont été proposées.

Assurer le respect des règles de contrôle qualité est une étape clé pour tout LBM afin de lancer un processus d'accréditation conformément à la norme ISO 15189.

Mots clés : Contrôle qualité, Contrôle interne de qualité, ISO 15189, sigma métrique, accréditation.

ABSTRACT

Quality in the laboratory remains a concern for health professionals; all LBMs must have a quality management system following international standards.

The ISO 15189 standard specifies the quality and competence requirements for medical biology laboratories.

We tried to verify these requirements at the laboratory of chemistry CHU TIZI OUZOU where we worked from January to April on three automats.

We were interested in method validation verification, which is a prerequisite for launching quality control, establishing internal quality control, which is a component of process control, focusing on the control of analytical steps and finally a quality management system-planning test using the metric sigma approach.

The results found overall are satisfactory, the control rules are more or less respected, but anomalies have been noted for which corrective measures have been proposed.

Ensuring proper compliance with quality control rules is a key step for any LBM in order to initiate an accreditation process in accordance with ISO 15189.

Keywords: Quality control, internal quality control, ISO 15189, metric sigma, accreditation.