

TECHNIQUES AU QUOTIDIEN

Le contrôle de qualité en sérologie ou comment garantir la qualité d'un résultat d'analyse semi-quantitative ?

Quality control in serology laboratories: How to guarantee the quality of a result of a semiquantitative analysis

F. Le Vacon

EFS Bretagne, rue Pierre-Jean-Gineste, 35000 Rennes, France

Reçu le 9 août 2007 ; accepté le 27 septembre 2007

Disponible sur Internet le 26 novembre 2007

MOTS CLÉS

Contrôle de qualité ;
Validation analytique ;
Carte de contrôle ;
Assurance de la qualité du résultat

KEYWORDS

Quality control;
Technical validation;
Control card;
Result quality assurance

Résumé Au laboratoire de sérologie, le contrôle de qualité est devenu aujourd'hui l'outil de prédilection qui permet de garantir la qualité du résultat rendu. Pour mettre en œuvre ce contrôle, des échantillons possédant le ou les anticorps voire le ou les antigènes recherchés sont utilisés. Enfin, les résultats de ces échantillons utilisés très régulièrement dans les séries d'analyse permettent une validation analytique renforcée. L'utilisation des valeurs de signal (grandeur quantitative continue) dans des cartes de contrôle permettent à la fois cette validation analytique mais aussi le suivi au long cours du processus analytique. Afin de rendre plus aisés l'ensemble de ce suivi, des outils informatiques existent, soit intégré au sein même des automates, au sein des logiciels concentrateurs de laboratoire, voire totalement indépendant et conçu pour le contrôle de qualité. L'ensemble que sont les échantillons et les outils logiciel forme la palette qui permet au technicien de valider en toute sécurité son résultat.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary In the laboratory of serology, the quality control became the tool of preference today, which allows to guarantee the quality of the result. To implement this control, samples possessing one or several antibodies or one or several antigens are used. Finally, the results of these samples used very regularly in the series of analysis allow a strengthened analytical validation. The use of the values of signal in control cards allow at the same moment this analytical validation but also the follow-up of the analytical process. To make easier this whole follow-up, computing tools exist, joined into the machines, within software concentrator of laboratory, or in totally independent software conceived for the quality control. The set that are samples and software tools form the palette, which allows the technician to validate safely his result.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Adresse e-mail : francoise.levacon@efs.sante.fr.

Un laboratoire de sérologie, quel qu'il soit, fournit des résultats dont il doit garantir la qualité en utilisant tous les moyens dont il peut disposer. Or, la sérologie virale en particulier, fait appel à des réactifs qui permettent l'obtention de résultat considéré comme semi-quantitatif. En effet, la conclusion positive ou négative est établie à partir d'une grandeur quantitative comparée à une valeur seuil. Les analyses réalisées sont issues de séries de tests plus ou moins importantes, effectués à des fréquences variables; mais quelques soient ces analyses, il est exigé qu'un échantillon positif vis-à-vis du marqueur recherché dit «contrôle interne de qualité» (CIQ) soit introduit dans chaque série d'analyses [1]. Les différentes normes d'accréditation des laboratoires font référence à la mise en place de tels contrôles que ce soit la norme NF EN ISO/CEI 17025 [2] ou NF EN ISO 15189 [3]. De plus, les réactifs utilisés sont pour la plupart des trousse qui contiennent tous les réactifs nécessaires pour réaliser la réaction y compris les témoins positifs et négatifs du fabricant. Pour garantir une excellente qualité dans le résultat de telles analyses un suivi rapproché de ces CIQ et témoins peut être effectué au moment de la validation analytique pour valider le processus analytique, mais aussi tout au long de la vie du réactif. Les outils permettant ce suivi existent aujourd'hui mais sont peu nombreux. Nous allons tenter d'apporter les éléments nécessaires à la mise en œuvre de ce contrôle de qualité à l'aide d'outils de nature diverse.

La vie d'un réactif

La vie d'un réactif commence dès le moment où la trousse a franchi les portes d'un laboratoire.

Dans un premier temps, il sera observé de manière à le connaître au travers de la première étape: la validation de méthode. Il entrera ensuite dans une phase plus active, avec les résultats des premières séries. Après une vingtaine de séries ou de valeurs, il commencera à atteindre un âge mûr; enfin arrivera une ultime période que l'on pourrait caractériser de phase maîtrisée.

La validation de méthode

Cette étape permet au travers de l'analyse de la bibliographie, des tests effectués au laboratoire (répétabilité, reproductibilité, robustesse et comparaison par rapport à la trousse utilisée en routine), [4] de connaître le réactif et d'extraire les données nécessaires à la mise en œuvre lors des premières séries. Ces données sont essentiellement la moyenne et l'écart-type des témoins fabricant et du CIQ obtenus lors de l'étude de reproductibilité; elles permettent le calcul de bornes de validité.

La mise en routine

Elle se fera plus aisément dans la mesure où les bornes à utiliser pour chaque témoin fabricant et CIQ lors de la validation analytique du processus sont déjà établies, et que des règles de décision sont définies. De plus le suivi dans le temps grâce à une carte de contrôle permet de visualiser les dérives éventuelles [5].

Le processus analytique

Le processus analytique d'une trousse analysée au laboratoire de sérologie virale permet l'obtention des résultats; dans notre cadre, production de valeurs quantitatives telles que la densité optique, voire un signal de mesure optique. Ces valeurs quantitatives sont la source d'index, tel que le ratio par exemple, qui permet d'annoncer si un échantillon est considéré comme positif ou négatif vis-à-vis du marqueur recherché par comparaison à une valeur seuil. Ces grandeurs que sont les signaux et les index sont un bon moyen de suivi permettant d'assurer la qualité du résultat. Tout échantillon quel qu'il soit produit ce type de données y compris les témoins fabricants et les CIQ.

Quels échantillons utiliser ?

Pour suivre la stabilité et la qualité d'un processus il est donc possible de suivre ces témoins fabricant et CIQ puisqu'ils sont retrouvés dans toutes les séries. On peut, selon le contexte biologique dans lequel le laboratoire travaille suivre aussi l'évolution de la moyenne des échantillons négatifs, des échantillons de patients quand la population sur laquelle le laboratoire travaille est considérée comme stable.

Quelles règles appliquer ?

Plusieurs possibilités existent pour suivre un échantillon dans une carte de contrôle. À partir d'un nombre de valeurs suffisantes (issues de la validation de méthodes) on peut calculer la moyenne et l'écart-type permettant de déterminer les limites supérieure et inférieure de contrôles ou bornes. Celles-ci se calculent différemment selon qu'il s'agisse d'un échantillon unique (déposé une seule fois dans la série) comme le contrôle interne de qualité ou d'un échantillon déposé plusieurs fois [6,7]. De plus les limites peuvent aussi se calculer de manière fixe ou mobile, voire sur une période glissante. En effet, les processus analytiques sont plus ou moins stables selon les équipements utilisés; de ce fait il est possible, soit de cumuler les données sur des périodes relativement longues, voire d'établir des fenêtres de périodes dont la dimension dans le temps sera définie et qui seront alors dites glissantes. Figs. 1-9.

Par exemple, avec les données d'une trousse dont le lot est utilisé sur une période assez longue (plusieurs mois), il

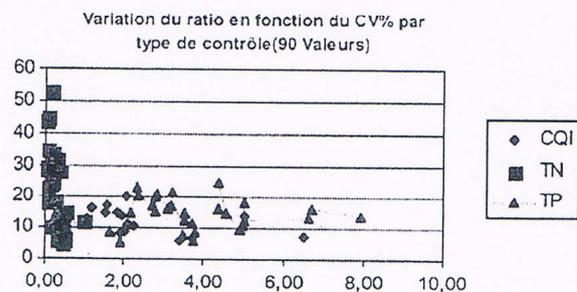


Figure 1 Étude menée dans le cadre du LABAC : CV de reproductibilité.

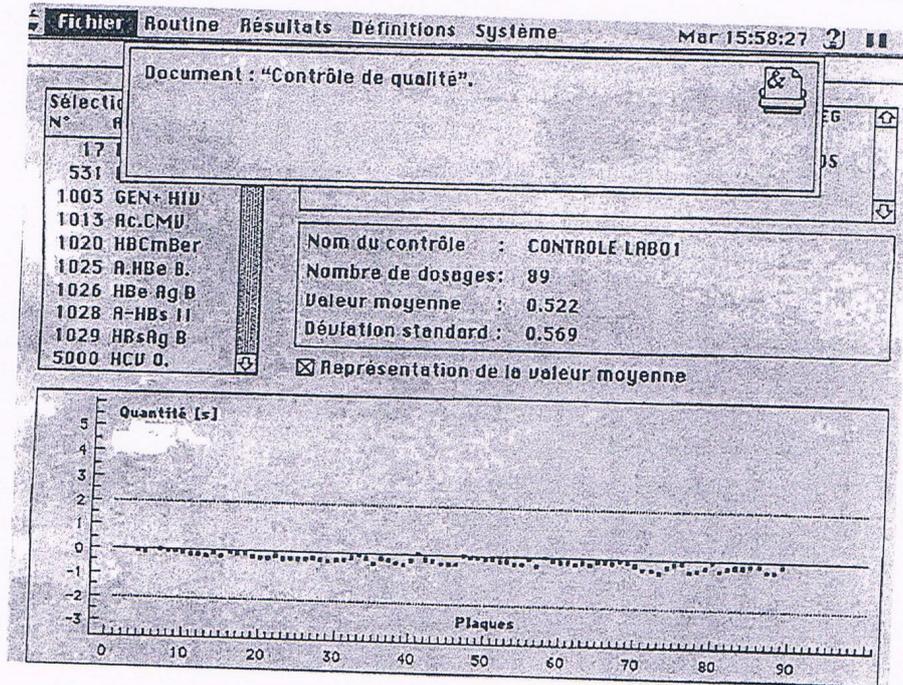


Figure 2 Exemple de carte de contrôle avec le contrôle de qualité interne.

① sera nécessaire d'accumuler les données des première séries [20] puis de figer les bornes auxquelles on fera référence tout le long de la période d'utilisation. On peut aussi, si on a affaire à un système analytique performant (CV% faible) mais qui s'autocalibre régulièrement et de ce fait génère des décalages, cumuler les données avec un recalcul des bornes à chaque série de manière à pondérer les valeurs obtenues à chaque autocalibration. Cette solution peut aussi

faire l'objet de calcul sur une période définie de manière à créer une fenêtre de suivi des données par exemple recalcul à chaque série sur les X séries précédentes. Ces différentes solutions doivent s'adapter au contexte de travail et aux outils à disposition pour leur mise en œuvre. Il est nécessaire de prévoir aussi les situations, telles que les changements de lot, qui peuvent être des sources de décalage dans les cartes de contrôles.

③
 T SUP
 → P 394

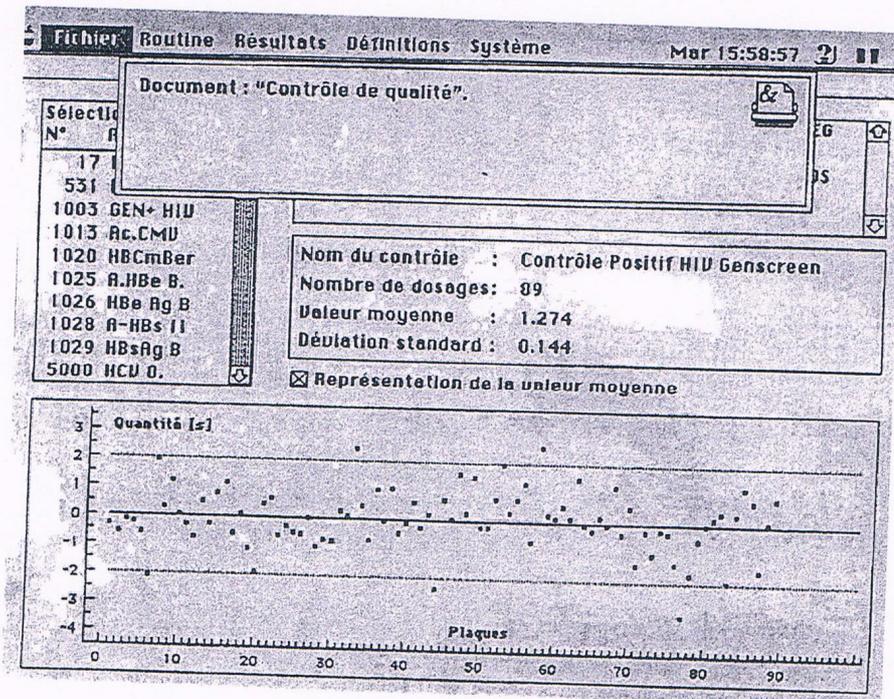


Figure 3 Exemple de carte de contrôle avec un témoin fabricant.

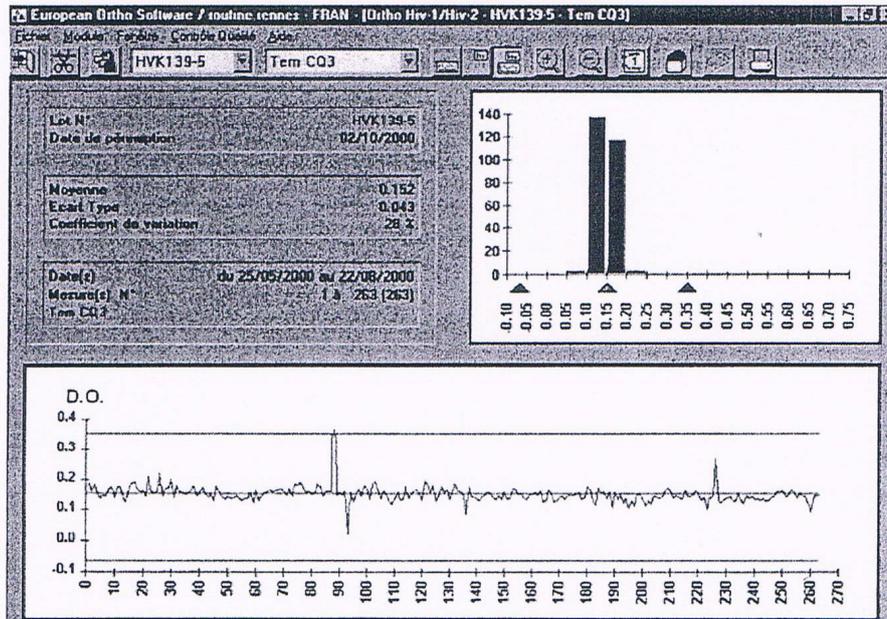


Figure 4 Exemple de carte de contrôle intégrée dans un SIL (Système d'information du laboratoire ou concentrateur).

Pour les changements de lots, une vigilance accrue est nécessaire car un décalage est possible. Afin de vérifier si ce décalage est lié à une série d'analyse qui a mal fonctionné ou un décalage lié au changement de lot, le contrôle de conformité réalisé lors de la réception des réactifs est une aide précieuse. En effet, les résultats obtenus sur des échantillons connus seront vérifiés, et les échantillons faisant l'objet du suivi dans les cartes de contrôles donneront lieu à une première observation. Lors de la première série de routine, les valeurs alors observées devront être conformes à celles observées lors du test de conformité.

Ensuite il est nécessaire de savoir comment est envisagé la gestion du processus. Le laboratoire considère-t-il le contrôle interne de qualité comme le seul élément représentant la qualité du processus analytique : dans ce cas dès qu'un résultat est en dehors des bornes, il devra se poser la question : la série peut-elle être validée ou non et si oui pourquoi il y a dérogation et l'argumenter. Le laboratoire peut aussi considérer que les éléments fixes du processus analytique, à savoir le CIQ et les témoins fabricants, sont tous représentatifs du processus analytique, les suivre chacun dans une carte de contrôle et de ce fait raison-

A ces
2°

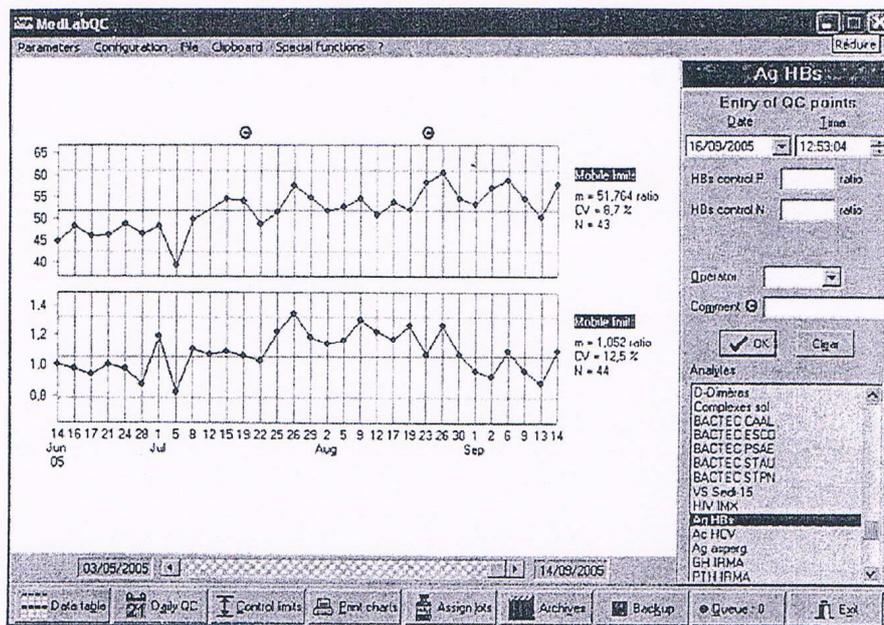


Figure 5 Exemple de carte de contrôle d'un logiciel indépendant.

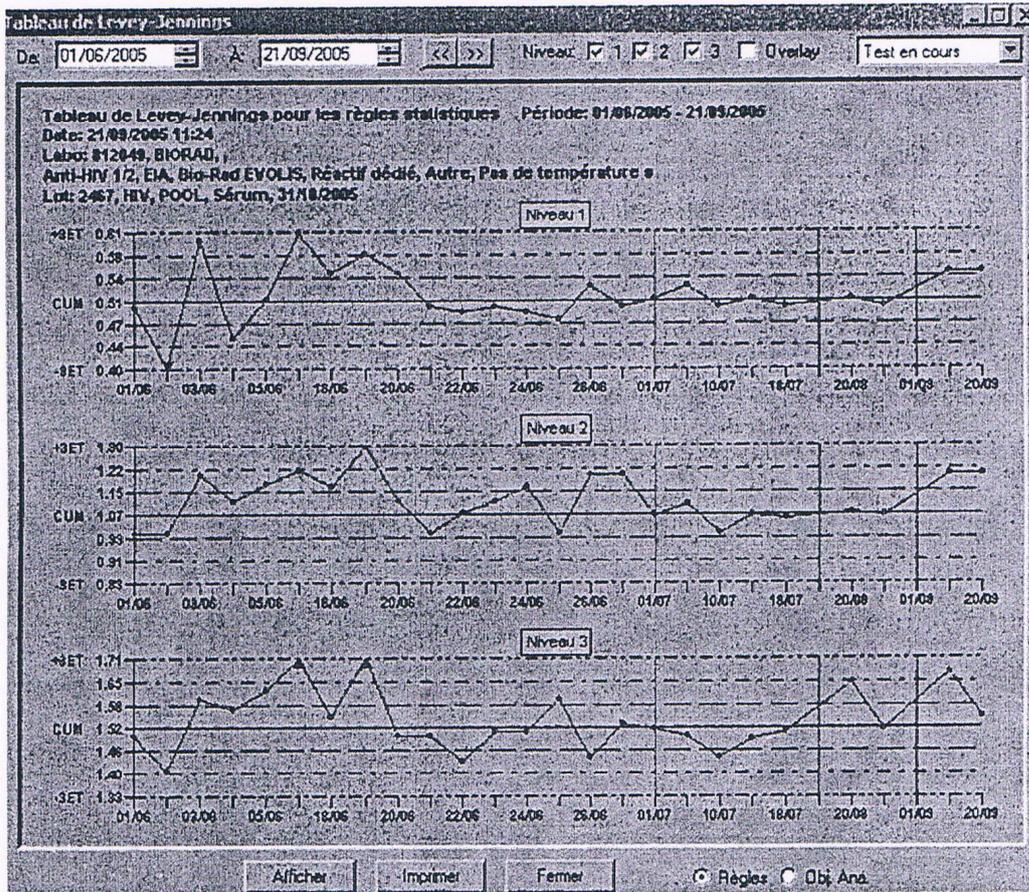


Figure 6 Deuxième exemple de carte de contrôle d'un logiciel indépendant.

*due ccl2 :
CV supéd 20%
→ yfaba 11%
ccl2*

ner non pas uniquement sur une carte mais sur plusieurs cartes. Ainsi, il pourra se doter de règles telles que si un seul point est en dehors des bornes, on considère que le processus a fonctionné, si deux points sont en dehors des bornes, le laboratoire peut éventuellement déroger avec un argumentaire à l'appui, au-delà, la série est considérée invalide.

Enfin, le regard porté sur les cartes de contrôle donne une vision au long cours du processus analytique, ce qui permet de relever les dérives éventuelles et de les prendre en compte dans une action corrective, voire préventive. Il est ici nécessaire de rappeler qu'un système analytique regroupe l'ensemble des équipements qui contribuent à obtenir un résultat analytique, que tout changement d'un des équipements dans ce système doit entraîner la notion de changement de processus et donc de cartes de contrôle, de bornes et peut-être de règles de fonctionnement. Dans cette vision au long cours du processus, un élément simple d'analyse est le CV% de chacun des échantillons suivis. Celui-ci établi sur des périodes définies permet de donner une idée de la variabilité du processus.

Une étude a été menée au sein de l'association des laboratoires accrédités (LABAC). Les laboratoires ont apporté les valeurs de leur témoin positif, témoin négatif et CIQ obtenus lors de la réalisation de leurs analyses de sérologies virales; pour chacun des ces points le ratio était utilisé comme index

et le CV de reproductibilité était fourni. Il a pu être montré que le suivi du CV sur les témoins négatifs d'index bas ne doit pas être suivi en outre et que les CV des échantillons d'index supérieurs à un donnent dans la majorité de cas un CV% inférieur ou égal à 20.

*ccl1
ccl2*

Quels sont aujourd'hui les outils permettant l'automatisation ?

Plusieurs possibilités existent, parmi les suivantes ;

- certains automates intègrent des modules de gestion de cartes de contrôles de type Levey-Jennings [8] ;
- certains SIL (Système d'information de laboratoire) ont un module de gestion de cartes de contrôles de type Levey-Jennings ;
- il existe des logiciels de gestion du contrôle de qualité indépendant ou connecté aux automates.

1

Exemple de système intégré dans les automates

Ces systèmes peuvent tracer un graphe qui cumulent les points observés au cours du temps, accumulent ceux-ci dans des bornes en se recalculant à chaque série. Pour cet exemple, il n'y a pas d'alarme au moment de la validation

? à vérifier

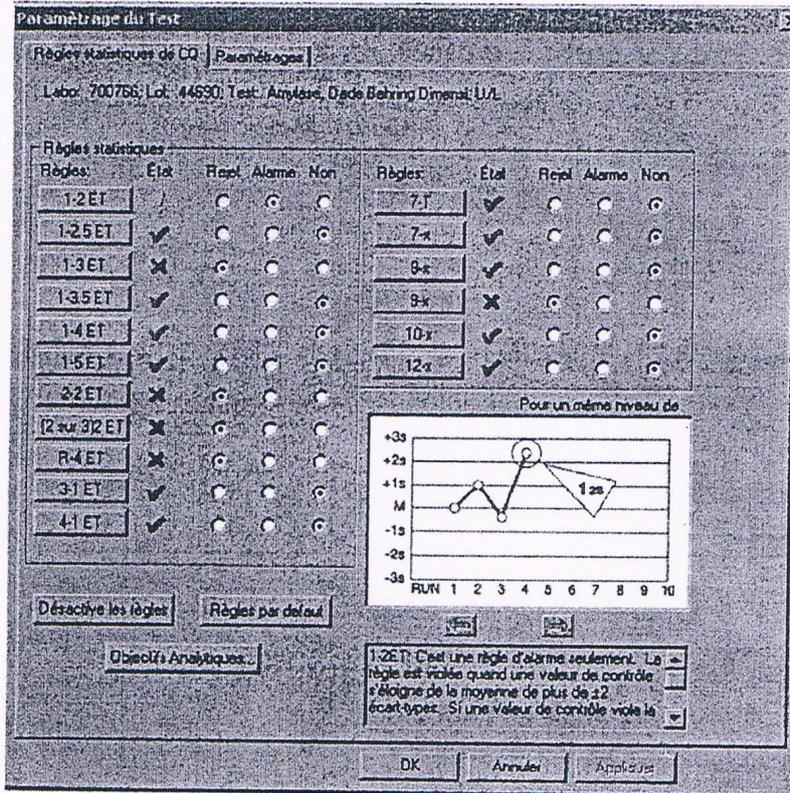


Figure 7 Exemple de règles de gestion de la carte de contrôle.

analytique, la moyenne est calculée sans tenir compte des lots, les bornes sont établies sans tenir compte de la taille de l'effectif à savoir le nombre de dépôts dans la série de l'échantillon concerné; enfin il n'y a pas de règles de suivi.

Exemple de système intégré dans le SIL

Les bornes sont définies par le biologiste, des alarmes sont possibles, mais la gestion se fait uniquement par lot. Chaque changement de lot entraîne un changement de carte. De ce

Ac HIV / EVOLIS			5C0053 / 5H0056				
			Témoins Négatifs	Témoins Seuls	Témoins Positifs	Contrôles Internes	Moyenne Echan. Nég.
Moyenne			0,025	1,017	1,222	0,386	
Ecart type			0,007	0,327	0,241	0,068	
Nombre de Témoins par plaque			1,000	1,000	1,000	2,000	
Racine du N. de témoins			1,000	1,000	1,000	1,414	
Borne inférieure			0,495	0,707	0,499	0,238	-0,018
Borne supérieure			0,447	1,239	1,946	0,535	0,076

Ac HIV / EVOLIS			5C0053 / 5H0056						
Nombre de plaques	Date	Numéro de lot	Témoins Négatifs	Témoins Seuls	Témoins Positifs	Contrôles Internes	Moyenne Echan. Nég.	Numéro des Plaques	Visa
1	24/08/2005	5C0053	0,011	1,163	1,423	0,49	0,029	77146266	pm
2	24/08/2005	5C0052	0,004	1,075	1,432	0,398	0,024	57146277	pm
3	24/08/2005	5C0052	0,031	1,087	1,398	0,402	0,027	37146278	pm
4	25/08/2005	5C0051	0,027	1,051	1,071	0,362	0,045	47146279	PM
5	25/08/2005	5C0053	0,019	1,156	1,454	0,472	0,019	57146280	vq
6	25/08/2005	5C0053	0,03	1,036	1,382	0,436	0,028	37146281	HP
7	30/08/2005	5C0053	0,03	1,145	1,438	0,476	0,035	17146282	hp
8	31/08/2005	5C0053	0,013	1,044	1,357	0,424	0,024	7146283	vq
9	02/09/2005	5C0053	0,023	0,953	1,364	0,373	0,023	87146284	cat
10	03/09/2005	5C0053	0,031	0,903	1,306	0,363	0,026	67146285	cat

Figure 8 Eléments de calculs permettant d'établir une carte de contrôle « maison ».

fait, il y a une période avec peu d'informations en dehors de celles du lot précédent toujours consultables ; les différents systèmes analytiques ne donnent pas lieu à des cartes différentes ce qui peut entraîner une augmentation de variabilité globale (intéressante pour approcher les incertitudes de mesure) alors que chaque système analytique en soi a sa propre variabilité.

Exemple d'outils de contrôles de qualité

Il est possible d'acquérir des outils, tels que ceux présentés, qui ne sont que des exemples.

Le premier exemple permet un suivi sur les trente dernières séries par paramètre et, si le laboratoire le souhaite, par système analytique puisqu'il n'y a pas de connexion avec les automates. La gestion a lieu en continue, tous lots confondus, avec plusieurs niveaux (à savoir plusieurs échantillons), des règles de suivi (type Westgard¹), des alarmes et des commentaires [9,10].

Le deuxième exemple permet un suivi par paramètre. Si le laboratoire le souhaite, il est possible de gérer cet outil par système analytique quand il n'y a pas de connexion avec les automates. Une connexion est possible des différents automates. La gestion a lieu en continue, tous lots confondus, avec plusieurs niveaux, et des règles de suivi, des alarmes et des commentaires.

Ces deux exemples ne permettent pas une gestion globale par processus analytique en fonction des différents niveaux. L'analyse est faite indépendamment pour chaque niveau.

Exemple d'outil « Maison » : mis en œuvre dans Excel

La gestion globale par processus est possible par une vision horizontale de l'ensemble des échantillons suivis dans le processus. Elle est intégrée dans la validation analytique, des alarmes sont possibles aisément au moment de la saisie des valeurs par le technicien, mais il n'y a pas de règles tels que celles de WestGard pour suivre les dérives ; seule la vision verticale du même échantillon ayant donné lieu à alarme est possible pour repérer les dérives.

L'outil idéal aujourd'hui

Pour obtenir un tel outil, il est nécessaire d'exprimer ses besoins dans un cahier des charges, avec :

- tous les éléments transférés des automates ;
- les règles de validation analytique individuelle (pour un échantillon) et globale (pour le processus analytique suivi) ;
- les règles de suivi telles que celles de Westgard, par exemple ;
- la possibilité de gérer les changements de lot par un chevauchement sur une période courte déterminée.

¹ Westgard (1981) : règles d'interprétation multi rules (normes d'acceptabilité).

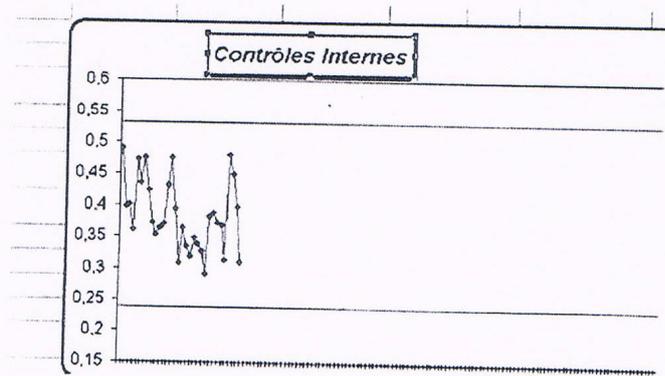


Figure 9 Graphique de la carte de contrôle « maison ».

Conclusion

Le contrôle de qualité est un outil indispensable à la gestion au quotidien (validation analytique) et au long cours des trousse de sérologie dans le cadre d'une gestion par processus analytique (carte de contrôle).

Les outils en terme d'échantillons doivent être développés par les fabricants ; mais il ne faudrait pas écarter les témoins fabricant de cette gestion à condition que ces échantillons soient traités selon les mêmes règles de maîtrise (calcul de bornes) que les CIQ.

Le processus analytique visualisé dans son entier permet une analyse plus cohérente des résultats de la série.

Des outils informatiques adaptés avec extraction des données des automates permettraient une réactivité en temps réel et une analyse approfondie au long cours qui est souvent actuellement difficile et fastidieuse.

Références

- [1] Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. J.O. Numéro 287 du 11 décembre 1999 page 18441. (NOR : MESP9923609A, Lien vers un autre site Internet).
- [2] Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. NF EN ISO/CEI 17025 : mai 2000, www.afnor.fr.
- [3] Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. ISO 15189 : février 2003, www.iso.ch.
- [4] Lab GTA 04 : Guide de validation des méthodes en biologie médicale. Document COFRAC.
- [5] Lab GTA 06 : Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. Document COFRAC.
- [6] Application de la statistique - Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1-6. NF ISO 5725 : décembre 1994 et rectificatifs techniques. (AFNOR).
- [7] Application de la statistique – Carte de contrôle - Parties 0-4, NF X 06-031 (0-4) : 1995. (AFNOR).
- [8] Levey S, Jennings RS. The use of control charts in the clinical laboratory. Am J Clin Pathol 1950 Nov;20(11):1059–66.
- [9] Le contrôle de qualité interne au laboratoire : progrès et perspective, Ph. Marquis, 2002, JIB, Paris.
- [10] Verdier CH, Groth T, Westgard JO. What is the quality of quality control procedures? Scand J Clin Lab Invest 1981 Feb;41(1):1–14.