

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -  
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1  
FACULTE DE PHARMACIE  
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

2015

THESE n°117

**T H E S E**

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 10 décembre 2015

par

Mme BERNARD Delphine

Née le 2 mai 1991

à Nogent-sur-Marne

\*\*\*\*\*

**Evaluation des performances des analyseurs de Gaz du sang ABL 825<sup>®</sup> dans le  
service de Biochimie Nord, Hospices Civils de Lyon**

\*\*\*\*\*

JURY

Madame Christine VINCIGUERRA (PU-PH)

Monsieur Bernard POGGI (PH)

Monsieur Richard COHEN (PU-PH)

Monsieur Julien FOUQUE (Pharmacien)

# **UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

## **ISPB -Faculté de Pharmacie Lyon**

### **LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES**

#### **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE**

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)  
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)  
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)  
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU-HDR)  
Madame Christelle MACHON (AHU)

- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)  
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)  
Madame Françoise FALSON (Pr)  
Monsieur Hatem FESSI (Pr)  
Monsieur Fabrice PIROT (PU - PH)  
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)  
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)  
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU-HDR)  
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)  
Monsieur Damien SALMON (AHU)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)  
Madame Laurence HEINRICH (MCU)  
Monsieur David KRYZA (MCU – PH - HDR)  
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)  
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU-HDR)  
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

#### **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE**

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)  
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)  
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)  
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**  
Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)
- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**  
Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)  
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**  
Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBault (MCU)  
Monsieur Vincent GROS (MCU-PAST)  
Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)  
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)
- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**  
Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU-PH)  
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)  
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

#### **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT**

- **CHIMIE ORGANIQUE**  
Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)  
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)  
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)  
Madame Christelle MARMINON (MCU)  
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)  
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)
- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**  
Monsieur Roland BARRET (Pr)  
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)  
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)  
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)  
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**  
Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)  
Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)  
Madame Isabelle KERZAON (MCU)  
Monsieur Serge MICHALET (MCU)
- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**  
Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH)  
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)  
Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU-PH)  
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)  
Madame Catherine RIOUFOL (MCU- PH-HDR)

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE**

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)  
Madame Léa PAYEN (PU-PH)  
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)  
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU-PH)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)  
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)  
Madame Kiao Ling LIU (MCU)  
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Michel TOD (PU – PH)  
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)  
Monsieur Roger BESANCON (MCU)  
Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU-PH)  
Madame Evelyne CHANUT (MCU)  
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)  
Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU-HDR)

- **COMMUNICATION**

Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)

- **ENSEIGNANTS ASSOCIES TEMPORAIRES**

Monsieur Olivier CATALA (Pr-PAST)  
Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)  
Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A**

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)  
Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)  
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)  
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine VINCIGUERRA (PU - PH)  
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)  
Monsieur Yohann JOURDY (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE  
AUX BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)  
 Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)  
 Monsieur Frédéric LAURENT (PU-PH-HDR)  
 Madame Florence MORFIN (PU – PH)  
 Monsieur Didier BLAHA (MCU)  
 Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)  
 Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH)  
 Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)  
 Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU-HDR)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)  
 Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)  
 Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B**

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)  
 Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)  
 Madame Emilie BLOND (MCU-PH)  
 Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)  
 Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH-HDR)  
 Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)  
 Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)  
 Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)  
 Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)  
 Madame Angélique MULARONI (MCU)  
 Madame Stéphanie SENTIS (MCU)  
 Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)  
 Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)  
 Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)  
 Monsieur Philippe LAWTON (Pr)  
 Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)  
 Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)  
 Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)  
 Madame Angélique MULARONI (MCU)  
 Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Madame Charlotte BOUARD (86ème section)

Madame Laure-Estelle CASSAGNES(85ème section)

Monsieur Karim MILADI (85ème section)

Madame Laurence PAGES (87ème section)

**Pr** : Professeur

**PU-PH** : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

**MCU** : Maître de Conférences des Universités

**MCU-PH** : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

**HDR** : Habilitation à Diriger des Recherches

**AHU** : Assistant Hospitalier Universitaire

**PAST** : Personnel Associé Temps Partiel

## REMERCIEMENTS

---

**Madame VINCIGUERRA,**

Vous nous avez fait l'honneur de présider ce jury. Je vous remercie pour votre soutien dans l'élaboration de ma thèse et vos encouragements qui furent très précieux ces derniers mois.

**Monsieur POGGI,**

Je vous suis reconnaissante d'avoir dirigé ce travail de thèse. Ce fut un véritable plaisir d'apprendre à vos côtés pendant mes six mois de stage et je vous remercie sincèrement pour votre implication et l'enseignement que j'ai pu tirer de travailler avec vous. Sans vous ce travail n'aurait pas été possible.

**Monsieur COHEN,**

Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Je vous remercie pour le temps et l'intérêt que vous y avez porté. Je vous fait part de toute ma reconnaissance pour votre enseignement à la faculté et dans la filière pharmacie-ingénieur dans une matière que j'affectionne tout particulièrement.

**Monsieur FOUQUE**

Je suis honoré que vous ayez accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je vous remercie de m'avoir fait confiance et de m'avoir accompagné pour mes premiers pas dans le milieu du travail. Ce stage passé à vos côtés m'a permis de découvrir le métier passionnant que j'exerce aujourd'hui et vous m'avez donné les moyens d'y parvenir.

**A ma famille,**

Sans qui j'aurais jeté l'éponge plus d'une fois, je vous remercie de m'avoir soutenue et supportée lors de l'élaboration de cette thèse. Merci de me soutenir dans tous les projets que j'entreprends et pour toutes ces innombrables choses, petites et grandes, qui font ce que je suis aujourd'hui.

**A Matthieu**

A qui je dois tant. Merci pour tout ce que tu m'apportes, ton soutien, ton écoute, ta tendresse, ton amour qui me remplissent de bonheur.

**A mes amies et amis,**

Merci pour tous les bons moments passés ensemble et tous ceux à venir.

## TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES.....	13
TABLE DES TABLEAUX.....	15
TABLE DES ANNEXES.....	16
INTRODUCTION .....	17
RAPPEL HISTORIQUE ET BIBLIOGRAPHIQUE.....	19
1 La qualité en Biologie médicale avant la réforme de 2010.....	20
1.1 La biologie médicale, le biologiste et les laboratoires .....	20
1.2 L'historique de la qualité et son apparition en biologie médicale .....	20
1.3 L'évolution de la qualité au sein de la biologie médicale.....	22
1.3.1 Le GBEA.....	22
1.3.2 Le manuel d'accréditation des établissements de santé de l'ANAES .....	23
1.3.3 Les démarches qualité volontaires .....	24
2 La Réforme de la Biologie médicale.....	25
2.1 Contexte de la réforme .....	25
2.1.1 Le rapport initial de l'IGAS (Inspection Générale des Affaires Sociales).....	25
2.1.2 Le rapport Ballereau.....	26
2.1.3 L'ordonnance relative à la biologie médicale et la loi HSPT .....	27
2.1.4 La loi du 31 mai 2013 relative à la réforme de la biologie médicale .....	28
2.2 L'accréditation au sein du laboratoire de biologie médicale .....	29
2.2.1 Définition .....	29
2.2.2 Le COFRAC.....	29
2.2.3 Le processus d'accréditation.....	30
2.3 La démarche d'accréditation des HCL .....	31
3 Validation/Vérification de méthode en biologie médicale.....	33
3.1 Définition .....	33
3.2 Les critères d'acceptabilité .....	34
3.3 Notion de portée flexible.....	35
3.4 Le Dossier de validation/vérification de méthode .....	36
4 Méthode de détermination des Gaz du Sang.....	37
4.1 Définition des gaz du sang .....	37
4.1.1 Pression partielle en dioxygène : $pO_2$ .....	38

4.1.2	Teneur en Hémoglobine totale.....	39
4.1.3	pH .....	40
4.1.4	Pression partielle en dioxyde de carbone : pCO <sub>2</sub> .....	41
4.2	Physiologie humaine des Gaz Du Sang .....	41
4.2.1	Equilibre acido-basique .....	41
4.2.2	Variations physiologiques .....	42
4.2.3	Acidose métabolique .....	43
4.2.4	Acidose respiratoire .....	43
4.2.5	Alcalose métabolique .....	44
4.2.6	Alcalose respiratoire .....	44
4.2.7	Les systèmes de régulation .....	45
4.2.8	Système tampon.....	45
4.2.9	Système pulmonaire .....	46
4.2.10	Système rénal.....	47
4.3	La mesure des Gaz du Sang.....	49
	MATERIEL ET METHODE.....	51
1	Méthode de dosage des gaz du sang sur les ABL.....	52
1.1	La phase pré-analytique de l'analyse des gaz du sang .....	52
1.2	Présentation ABL 825® .....	54
1.3	Principe des Mesures .....	55
1.3.1	Mesure potentiométrique du pH .....	55
1.3.2	Mesure potentiométrique de la pCO <sub>2</sub> .....	57
1.3.3	Mesure par ampérométrie de la PO <sub>2</sub> .....	58
1.3.4	Système optique pour la mesure de l'hémoglobine totale, ctHb.....	60
1.4	Valeurs de référence .....	61
2	Méthodologie pour la procédure de vérification / validation des méthodes quantitatives.....	64
2.1	L'erreur de mesure .....	64
2.2	La validation/vérification de méthode .....	64
2.3	Critères de performance et méthode de calcul utilisé pour la procédure de vérification / validation des méthodes quantitatives.....	66
2.3.1	Répétabilité.....	66
2.3.2	Reproductibilité .....	66
2.3.3	Evaluation de la justesse et de l'exactitude .....	67
2.3.4	Incertitudes de mesure .....	68
2.3.5	Intervalle de mesure.....	70

2.3.6	Contamination .....	70
2.3.7	Interférences .....	70
2.3.8	Intervalle de référence .....	70
2.3.9	Comparaison de méthode .....	71
2.4	Choix des limites d'acceptabilité .....	72
3	Réalisation du dossier de vérification de méthode pour les gaz du sang .....	74
3.1	Description de la méthode et la mise en œuvre .....	74
3.2	Maîtrise des risques .....	75
3.2.1	Généralités .....	75
3.2.2	Méthode des 5M .....	76
3.2.3	Méthode AMDEC .....	77
3.3	Plan d'expérience et mise en œuvre expérimentale dans le laboratoire .....	77
3.4	Rédaction des conclusions et décisions .....	77
	RESULTATS (A TRAVERS L'EXEMPLE DE LA pCO <sub>2</sub> ) .....	79
1	Maîtrise des risques .....	81
1.1.1	Phase Pré-analytique .....	81
1.1.2	Phase Analytique .....	83
1.1.3	Phase post-analytique .....	85
2	Répétabilité .....	86
3	Reproductibilité .....	87
4	Evaluation de la justesse .....	88
5	Incertitudes de mesure .....	88
6	Intervalle de mesure .....	88
7	Contamination .....	89
8	Interférences .....	89
9	Intervalle de référence .....	89
10	Comparaison de méthode .....	89
10.1	Comparaison de méthode ABL 1/ABL 2 .....	89
10.2	Comparaison de méthode ABL 2/ ABL 3 .....	92
10.3	Comparaison de méthode ABL/NOVA (ancien analyseur) .....	93
	DISCUSSION .....	95
1	Analyse des résultats .....	97
2	Retour d'expérience sur les analyseurs ABL 825 <sup>®</sup> de Radiometer .....	97
3	Le rôle du fournisseur .....	98
	CONCLUSIONS .....	100
	ANNEXE A : SH FORM 43 pCO <sub>2</sub> sur ABL 825 <sup>®</sup> FLEX .....	105

## TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Processus d'accréditation (12) .....	30
Figure 2 : Courbe de dissociation de l'hémoglobine (26) .....	39
Figure 3 : Déséquilibres acido-basiques élémentaires (29) .....	42
Figure 4 : Manifestations cliniques des troubles acido-basiques (29). .....	43
Figure 5 : Modifications de la ventilation liées à des modifications métaboliques (29) ...	46
Figure 6 : Modification des échanges ioniques au niveau du rein en cas d'acidose métabolique.....	47
Figure 7 : Modification des échanges ioniques au niveau du rein en cas d'alcalose métabolique.....	48
Figure 8 : Electrode à pH E777 (34).....	55
Figure 9 : représentation schématique d'une chaîne d'électrodes (34).....	56
Figure 10 : Electrode à pCO <sub>2</sub> (34) .....	57
Figure 11 : Représentation schématique du circuit électrique pour la méthode ampérométrique (34).....	58
Figure 12: Electrode à pCO <sub>2</sub> (Radiometer, Manuel de référence de l'ABL 800 FLEX, 2011) .....	59
Figure 13 : Schématisation du système optique pour la mesure de la ctHb (34).....	60
Figure 14 : Représentation des différentes erreurs lors de mesure en laboratoire (36) .....	64
Figure 15 : Représentation schématique de la justesse et de la fidélité .....	68
Figure 16 : Paramètre à étudier pour l'analyse de risque 5M.....	76
Figure 17: Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 1 et 2 pour le paramètre pCO <sub>2</sub> à partir de la droite de régression .....	90
Figure 18 : Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 1 et 2 pour le paramètre pCO <sub>2</sub> à partir du graphique des différences .....	91
Figure 19 : Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 1 et 2 pour le paramètre pCO <sub>2</sub> à partir du graphique des rapports.....	91
Figure 20: Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 2 et 3 pour le paramètre pCO <sub>2</sub> à partir de la droite de régression .....	92
Figure 21 : Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 2 et le CCX NOVA pour le paramètre sodium à partir de la droite de régression .....	93

Figure 22 : Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 2 et le CCX NOVA pour le paramètre $pCO_2$ à partir du graphique des différences .....	94
Figure 23 : Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 2 et le CCX NOVA pour le paramètre $pCO_2$ à partir du graphique des rapports .....	94

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nature et dispositif du prélèvement .....	52
Tableau 2 : Avantages et inconvénients d'analyseurs de différents fournisseurs .....	54
Tableau 3 : Valeurs de référence pour les paramètres mesurés par l'ABL 825 : pCO <sub>2</sub> , pO <sub>2</sub> , pH et ctHb .....	61
Tableau 4: paramètres à vérifier et/ou connaître (19) .....	65
Tableau 5 : Analyse de risques de la phase pré-analytique du dosage des gaz du sang ....	81
Tableau 6 : analyse de risques de la phase analytique du dosage des gaz du sang.....	83
Tableau 7 : Analyse de risque de la phase pot-analytique du dosage des gaz du sang.....	85
Tableau 8 : Résultats de la répétabilité sur le paramètre pCO <sub>2</sub> sur l'ABL LABO 1 .....	86
Tableau 9 : Résultats de reproductibilité sur le paramètre pCO <sub>2</sub> sur l'ABL LABO 1 .....	87
Tableau 10 : Gamme de mesure pour les paramètre Hb, pO <sub>2</sub> , pCO <sub>2</sub> et pH (35) .....	88

## TABLE DES ANNEXES

ANNEXE A : SH FORM 43 pCO <sub>2</sub> sur ABL 825 FLEX.....	105
--	-----

## INTRODUCTION

En France, les unités de soins intensifs traitent les patients les plus graves dont le pronostic vital est engagé, souffrant de traumatismes, de défaillance multi-viscérale ou de sepsis. Dans le cas de la surveillance continue de ces patients, les analyseurs gaz du sang permettent une analyse rapide des paramètres d'urgence tels que le pH, la pression partielle en oxygène et en dioxyde de carbone et l'hémoglobine totale.

La biologie d'urgence, sous la responsabilité du biologiste médical, est une activité dite «critique» pour la prise en charge optimisée des patients en situation critique, et constitue désormais un enjeu majeur pour la biologie médicale. Cette dernière doit être capable de répondre aux besoins en perpétuelle évolution des cliniciens avec des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro de plus en plus performant. En outre la biologie médicale est une profession tournée vers le patient et qui se doit de garantir des résultats fiables et de qualité. La réforme de la biologie médicale en 2010, dont une partie de ce travail lui est consacrée, a rendu obligatoire l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 et a permis de renforcer la médicalisation de la profession.

La notion de qualité au sein des laboratoires de biologie médicale n'est pas une nouveauté, elle n'en a été que renforcée par cette réforme. En effet, elle est depuis longtemps ancrée dans le monde industriel. Son développement dans le domaine de la santé était inévitable tant la moindre erreur peut avoir de graves conséquences humaines. A travers mon cursus et mes études de pharmacie et d'ingénieur j'ai eu peu d'occasion d'explorer cette discipline et de la comprendre, or aujourd'hui elle est omniprésente autour de nous. C'est pourquoi j'ai souhaité réaliser ma thèse d'exercice sur ce sujet, afin de mieux comprendre et appréhender la notion d'assurance qualité et sa mise en application.

Cette thèse s'est construite autour de l'arrivée de trois nouveaux analyseurs de gaz du sang lors de mon stage dans le service de Biochimie Nord des Hospices Civils de Lyon. Le cœur de cette thèse repose sur la validation de la méthode de mesure des gaz du sang par les ABL 825<sup>®</sup> de Radiometer. Après une étude bibliographique approfondie qui a permis d'établir les critères d'acceptation de cette validation, un plan d'expérience a été mené sur le terrain à l'aide de préparations de contrôles au laboratoire et d'échantillons patients afin de vérifier l'aptitude de cette méthode. Enfin ce travail s'est intéressé aux avantages apportés par ces nouveaux analyseurs et au rôle du fournisseur dans la réalisation des évaluations de performances.



# **RAPPEL HISTORIQUE ET BIBLIOGRAPHIQUE**

# **1 La qualité en Biologie médicale avant la réforme de 2010**

## **1.1 La biologie médicale, le biologiste et les laboratoires**

Un examen de biologie médicale est défini par le Code de la santé publique dans l'article L. 6211-1 comme « un acte médical qui concourt à la prévention, au dépistage, au diagnostic ou à l'évaluation du risque de survenue d'états pathologiques, à la décision et à la prise en charge thérapeutique, à la détermination ou au suivi de l'état physiologique ou physiopathologique de l'être humain » (1).

Les examens de biologie médicale qui, d'après l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, « inclut le prélèvement, l'exécution de l'analyse, la validation des résultats, et si nécessaire leur confrontation avec les données cliniques et biologiques des patients » (2) sont sous la responsabilité du biologiste.

Ces analyses sont réalisées au sein des établissements de santé publics ou privés et plus particulièrement au sein des LBM : Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale. Selon la norme NF EN ISO 15189 le « Laboratoire est destiné à réaliser des analyses biologiques, microbiologiques, immunologiques, biochimiques, [...] ou d'autres analyses de substances d'origine humaine pour apporter des informations utiles au diagnostic, à la prévention ou au traitement des maladies ou à l'évaluation de l'état de santé d'êtres humains, et lequel peut proposer un service de conseil couvrant tous les aspects des analyses de laboratoire, y compris l'interprétation des résultats et des conseils sur d'autres analyses appropriées.» (3)

Secteur d'activité en pleine mutation, la biologie médicale est une spécialité à multiples enjeux. Elle est devenue un élément central dans le diagnostic et le suivi des maladies, et dans le choix et la surveillance d'un traitement ciblé et adapté au patient. L'évolution de la biologie opérant actuellement à travers les regroupements, l'automatisation, la standardisation et l'accréditation a pour but de permettre à tout patient d'accéder à une biologie médicale adaptée, à son juste prix et surtout de qualité.

## **1.2 L'historique de la qualité et son apparition en biologie médicale**

La qualité est une notion ancienne et qui fit son apparition dès la préhistoire alors que le monde était encore simple. Cette qualité était perceptible à travers les premières

préoccupations de l'homme soit l'adaptation de chaque chose à son usage prévu et de chaque homme à son rôle en fonction de ses compétences. Jusqu'à récemment la qualité était considérée comme un produit ou le résultat d'un travail beau et bien fait.

Auparavant les faibles volumes de production rendaient possibles le contrôle et l'inspection unitaire des produits finis. Le contrôle qualité sera d'ailleurs proposé par Walter A. Shewhart dans les années 1925, suite à l'observation de problèmes survenus dans l'entreprise dont il est salarié, « Bell Telephone ». Le contrôle qualité est alors présent tout au long de la chaîne de production et les premières cartes de contrôles font leur apparition.

Suite aux deux guerres mondiales, la production de masse va rendre l'inspection unitaire impossible et inefficace. On assiste alors à la naissance de l'échantillonnage statistique. Seulement, les schémas de production se complexifient de plus en plus et l'arrivée de grands projets font augmenter le coût de ces contrôles statistiques. De plus, la rentabilité est devenue une notion importante et l'idée du « bon du premier coup » fit son apparition dans les années 70. Les industriels passeront alors à la prévention par l'assurance qualité, en prenant des dispositions dès la conception d'un produit afin de limiter les rebuts, les tris ou les réparations tout au long de la chaîne de production.

Le Japon, sans ressources naturelles, peine à se relever de la guerre. Il fera alors appel à des experts américains en matière de qualité. Face à cette compétitivité retrouvée des produits japonais, l'industrie occidentale s'initie à de nouvelles pratiques. De l'assurance qualité des années 90, qui visait à garantir la réponse aux besoins exprimés par le client, les industriels occidentaux sont passés aujourd'hui à un système de management de la qualité totale qui nécessite l'implication de l'ensemble du personnel et vise à satisfaire non seulement le client, mais aussi le personnel, le donneur d'ordre, voire l'environnement extérieur à l'activité concernée. Cette maîtrise totale est définie par Feigenbaum comme « un système destiné à intégrer efficacement les efforts des divers groupes d'une organisation afin de développer, de maintenir et d'améliorer la qualité. »

Dans un premier temps, la qualité s'est principalement développée dans les entreprises du domaine automobile ou nucléaire, pour ensuite s'étendre à tous les secteurs de production et services. C'est dans les années 70-80 que l'on voit apparaître les premières formalisations de la qualité dans le monde de la santé, telles que la création du Laboratoire National de la Santé et le CNQ (le contrôle national de qualité des analyses

de biologie médicale) rendu obligatoire par le décret du 7 décembre 1978. D'après l'ANSM il « est une évaluation externe de la qualité des examens de biologie médicale réalisée au niveau national. Il consiste en la comparaison des résultats d'un examen de biologie médicale, réalisé par l'ensemble des LBM, sur un même échantillon. » (4) A cette même période, certains laboratoires volontaires montent des associations pour permettre la mise en place du contrôle qualité au sein de leur établissement. Puis en 1983 le contrôle de bonne exécution des analyses de biologie médicale et ses modalités font leur apparition et sont définis par le décret 83-104. Ce contrôle est réalisé par des inspecteurs de la santé et de la pharmacie avec l'aide de biologistes experts.

Cette première approche de la qualité à travers ces divers contrôles tels que le CNQ fut très limitée faute de référentiels. Ces derniers sont des outils encadrant les démarches d'amélioration de la qualité et fournissent aux LBM les exigences et objectifs à atteindre.

### **1.3 L'évolution de la qualité au sein de la biologie médicale**

#### **1.3.1 Le GBEA**

En 1994 est apparu le GBEA (Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale), premier texte réglementant les pratiques professionnelles des LBM tant privés que publics. Ce guide retrouvé en annexe de l'arrêté ministériel du 2 novembre 1994 et dont des révisions sont parues en 1999 et 2002, est un premier pas vers la mise en place d'une démarche qualité au sein des LBM. En effet, d'après le GBEA, la « recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle et constante du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire » (2).

Cinq ans après sa publication, le GBEA a été modifié par l'arrêté du 26 novembre 1999 publié au journal officiel du 11 décembre 1999 afin d'introduire des évolutions telles que la gestion des équipements et des réactifs, la métrologie, l'informatique, le transport des échantillons et la mise en place de techniques de biologie moléculaire. Le référentiel actuellement en vigueur est fixé par l'arrêté du 26 avril 2002 pour les LBM non accrédités.

L'acte de biologie médicale est au centre de ce guide. Ce dernier s'articule autour de plusieurs chapitres :

- Les règles de fonctionnement sur l'organisation, l'installation avec des sujets tels que l'aménagement, l'entretien, la sécurité, ou encore l'élimination des déchets. Ces règles sont essentielles car d'après le GBEA «La qualité ne dépend pas seulement de l'analyse proprement dite, mais aussi de l'organisation générale du laboratoire» (2).

- Diffusé à tout le personnel, il permet de formaliser par écrit les procédures opératoires. Plusieurs points sont abordés tels que la gestion des échantillons, l'identification, la validation et l'expression et la transmission des résultats qui restent des enjeux essentiels aujourd'hui.

- Un chapitre est consacré à l'assurance qualité mais le guide reste très succinct et peu directif sur le sujet et aborde principalement la notion de contrôle qualité avec l'EEQ (l'Evaluation Externe de la Qualité) et la présentation des CQI (Contrôles de Qualité Interne).

- Des directives concernant les recherches biomédicales, ainsi que des «dispositions législatives et réglementaires relatives à l'exercice en LBM de statut privé» (2) sont aussi retrouvés dans le GBEA.

### **1.3.2 Le manuel d'accréditation des établissements de santé de l'ANAES**

En 1996, le premier manuel d'accréditation de l'Agence National d'Evaluation en Santé (ANAES) a été introduit au sein du système de santé français par l'ordonnance n°96-34. Ce manuel va plus loin qu'une simple démarche qualité, en intégrant les mots accréditation et autoévaluation, afin que chaque LBM s'assure que les procédures en vigueur sont écrites, vérifiées, approuvées, et mises en œuvre par le personnel.

L'accréditation est définie par l'ANAES comme «une procédure d'évaluation externe à un établissement de santé, effectuée par des professionnels, indépendante de l'établissement de santé et de ses organismes de tutelle, concernant l'ensemble de son fonctionnement et de ses pratiques. Elle vise à s'assurer que les conditions de sécurité et de qualité des soins et de prise en charge du patient sont prises en compte par l'établissement de santé.» (5)

Le GBEA et le manuel d'accréditation de l'ANAES (spécifiquement français) sont complémentaires. En effet l'ANAES fait référence au GBEA en préconisant que «les

secteurs d'activité cliniques et médico-techniques utilisent les recommandations de pratiques cliniques adaptées à leur domaine d'activité» (2).

Ce manuel s'applique à l'ensemble de l'organisation hospitalière, soit l'établissement dans sa totalité, et met l'accent sur les interrelations existantes entre les différentes structures et activités. De plus, elle place le patient au centre des préoccupations à l'aide de trois référentiels : «le patient et sa prise en charge», «management et gestion au service du patient» et «qualité et prévention».

En 2005, les activités de l'ANAES ont été reprises par l'HAS (Haute Autorité de Santé), qui est alors définie comme une «autorité publique indépendante à caractère scientifique dotée de la personnalité morale». Le manuel d'accréditation actuellement en vigueur est celui de 2014 dont les références 21 a et 21 b et 23 concernent les LBM.

### **1.3.3 Les démarches qualité volontaires**

En 1979, l'ISO : International Organisation for Standardization met en place le Comité Technique (TC 176) qui prend en charge l'élaboration des normes sur le management et l'assurance qualité. Le but recherché par l'élaboration d'un référentiel international et de faciliter les relations entre client et fournisseur.

La biologie a elle-aussi été intégrée à ce processus international de normalisation (via l'ISO TC 212). Certaines de ces normes sont applicables aux LBM sur la base du volontariat : c'est le cas de la norme ISO 9001 non spécifique à la biologie médicale qui évalue seulement l'organisation et non les compétences techniques. Désireux d'un référentiel normatif spécifique de l'activité des LBM, les biologistes participent en octobre 2003, à l'élaboration de la norme ISO 15189 où l'on retrouve les exigences sur l'organisation du système qualité de la norme ISO 9001 mais aussi les exigences techniques inspirées du GBEA et concernant la totalité des examens de biologie médicale. Jusqu'en 2010 l'accréditation est donc réalisée seulement sur la base du volontariat.

## 2 La Réforme de la Biologie médicale

### 2.1 Contexte de la réforme

#### 2.1.1 Le rapport initial de l'IGAS (Inspection Générale des Affaires Sociales)

En 2006, l'IGAS dresse un état des lieux de la biologie médicale privée trente ans après la dernière réforme datant du 11 juillet 1975 à travers un rapport intitulé : «La biologie médicale libérale en France : bilan et perspectives» (6). Cette enquête et évaluation de la biologie médicale a été proposée au ministère de la santé afin de décrire l'existant et d'envisager des axes d'actualisation et d'amélioration.

Ce rapport fait remarquer que la biologie médicale a subi de nombreuses transformations depuis ces trente dernières années. Une des évolutions majeures est l'automatisation des laboratoires, les méthodes manuelles d'analyse ont laissé place à des réactifs et des automates de plus en plus performants. Il est donc nécessaire de dresser le bilan des conséquences de ces évolutions.

D'après l'IGAS, «les principaux éléments susceptibles de justifier le coût élevé des actes de biologie et les particularités de notre dispositif sont la qualité des examens, la proximité, et plus généralement le service rendu au malade.» (6) Mais ce rapport tend à montrer que le biologiste ne maîtrise pas la totalité des processus qui compose l'examen biologique tel que le prélèvement ou la qualité des automates et que les délais de rendus des résultats et la présence des biologistes sont variables selon les laboratoires.

De plus, l'IGAS a soulevé une forte inégalité dans l'effort produit par les biologistes pour «assurer la qualité» au sein des laboratoires. En effet la participation à la formation continue pourtant obligatoire est relevée «insuffisante» par l'IGAS. De plus, certains LBM sont pointés du doigt pour leur manque d'implication dans le CNQ et «l'importance des erreurs sous-estimée» (6).

Un autre constat de l'IGAS est la grande dispersion des laboratoires sur le territoire français ainsi que l'omniprésence des laboratoires de petite taille. Alors que « la notion de laboratoire de proximité n'existe pratiquement nulle part ailleurs» (6) elle reste très présente en France. Ce constat émane de la réglementation qui permet la liberté d'installation et entraînerait donc une mauvaise répartition des LBM sur le territoire.

Le rapport signale que «les laboratoires ayant un fonctionnement à risques ne sont pas amenés à modifier leur pratique car les inspections ne sont pas en nombre suffisant, et les manquements sérieux à la qualité sont rarement sanctionnés» (6). Face à tous ces constats l'IGAS conclut sur le fait que « la loi du 11 juillet 1975 n'est plus adaptée aux enjeux actuels, notamment ceux de la qualité et de la compétitivité et qu'une réforme de l'ensemble du système est indispensable» (6).

### **2.1.2 Le rapport Ballereau**

Suite au rapport de l'IGAS, la réforme de la biologie médicale est en marche et le rapport rendu par le Docteur Michel Ballereau, conseiller général des établissements de santé, en 2008 pose les premières bases de cette réforme. Il avait été mandaté par le ministère de la santé afin de proposer une réforme de la biologie médicale.

C'est Roselyne Bachelot-Narquin qui explique elle-même dans sa lettre de mission que «la biologie a été confrontée ces dernières années à de nombreuses évolutions internes et externes: évolutions des connaissances médicales, automatisation des techniques, assurance et contrôle qualité, impact de la législation européenne.» (7) et qu'il est temps «d'envisager une évolution substantielle de l'encadrement juridique de cette discipline.» afin de garantir la sécurité des soins et un plus haut niveau de qualité pour les examens.

Pour la réalisation de ce rapport, Michel Ballereau va alors s'entourer de représentants des professionnels de la biologie médicale, des Ordres professionnels, de l'administration et de divers cabinets ministériels.

La réforme de la biologie médicale proposée dans ce rapport marque «le passage d'obligations de moyens à des obligations de résultats tournées vers le patient». Il devient donc impératif «qu'un patient qui se rend dans un laboratoire de biologie médicale soit assuré de la qualité des résultats». (7) Le rapport propose donc une nouvelle orientation : celle de la «qualité prouvée» en rendant obligatoire l'accréditation à tous les LBM privés comme publics selon la norme NF EN ISO 15189.

### 2.1.3 L'ordonnance relative à la biologie médicale et la loi HSPT

Pour faire face aux insuffisances et aux incompatibilités en matière de santé publique relevées ces dernières années, la loi « Hôpital Patient Santé Territoire » n°2009-879 est votée le 21 juillet 2009. Cette loi est une réforme en profondeur du système de santé français. L'article 69 de cette loi porte sur la biologie médicale dont l'une des missions est de garantir la qualité des examens de biologie médicale, notamment par une procédure d'accréditation des laboratoires.

Cet article sera suivi six mois plus tard d'une ordonnance proposée par la Ministre de la santé le 13 janvier 2010. Cette ordonnance bouleverse le monde de la biologie médicale et vise à préparer l'avenir de la celle-ci. Elle devient la nouvelle référence en matière de réglementation, 35 ans après la dernière réforme générale de la biologie (loi du 11 juillet 1975).

L'ordonnance marque le fait que la biologie médicale est devenu un élément crucial du parcours de soin. Elle fournit ainsi une nouvelle définition de celle-ci en tant qu'«acte médicale» (8). La médicalisation de l'examen de biologie médicale est donc réaffirmée à travers cette réforme. L'interprétation du résultat et l'analyse des données cliniques sont intégrées à l'examen de biologie médicale et le biologiste devient garant du résultat rendu vis à vis du patient.

De plus, la réforme tend à harmoniser les règles de fonctionnement des LBM entre le secteur privé et le secteur public afin de favoriser leur coopération notamment au travers des groupements de coopération sanitaire. Elle autorise et encourage le regroupement des laboratoires afin de créer des laboratoires multi-sites (LBMMS).

Le rapport Ballereau signait les prémisses de la «qualité prouvée», l'ordonnance quant à elle, institue un régime d'accréditation obligatoire de tous les LBM. En effet elle modifie le Code de la Santé Publique et notamment l'Article L6221-1 qui stipule à présent : «Un laboratoire de biologie médicale ne peut réaliser d'examen de biologie médicale sans accréditation» (1). Cette accréditation concerne l'ensemble des laboratoires, privés et publics, universitaires et non universitaires, afin de renforcer la qualité et la sécurité des examens. Celle-ci se fera selon les normes ISO 15189 et ISO 22870.

L'ordonnance définit également le caractère obligatoire de la participation au CNQ des résultats des examens de biologie assurés par l'ANSM et aux EEQ, et toute anomalie sera immédiatement remontée à l'ARS par les organismes d'évaluation externes (OCIL).

#### 2.1.4 La loi du 31 mai 2013 relative à la réforme de la biologie médicale

La loi du 31 mai 2013 n° 2013-442 portant sur la réforme de la biologie médicale ratifie l'ordonnance n°2010 649 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale et fixe les objectifs de l'accréditation.

S'agissant des conditions de fonctionnement des laboratoires de biologie médicale (LBM), la loi prévoit la présence d'un biologiste médical sur les sites afin que sur chacun des sites: «un biologiste du laboratoire doit être en mesure de répondre aux besoins du site et, le cas échéant, d'intervenir dans des délais compatibles avec les impératifs de sécurité des patients. Pour assurer le respect de cette obligation, le laboratoire doit comporter un nombre de biologistes médicaux au moins égal au nombre de sites qu'il a créés. Le biologiste assumant la responsabilité du site doit être identifiable à tout moment.» (9)

Sur la question de l'accréditation des laboratoires, le principe reste le même que celui prévu par l'ordonnance de 2010 mais une nouvelle date limite et un nouveau calendrier progressif de l'accréditation jusqu'en 2020 sont fixés. En effet la loi du 31 mai 2013 prévoit que «jusqu'au 31 octobre 2020, aucun laboratoire de biologie médicale non accrédité, au sens de l'article L. 6221-1 du code de la santé publique, ne peut fonctionner sans respecter les conditions déterminées par un arrêté du ministre chargé de la santé relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. (...) L'autorisation peut être retirée lorsque les conditions de sa délivrance cessent d'être remplies. » (9)

La loi prévoit une interdiction des ristournes et une facturation des actes au tarif des actes de biologie médicale fixé par la sécurité sociale (NABM), à l'exception des actes réalisés dans le cadre des coopérations dans le domaine de la biologie médicale menées entre des établissements de santé sous forme de conventions, de GCS ou de communautés hospitalières de territoire, ainsi que par d'autres contrats de coopération. Enfin d'autres points sont abordés tel que la régulation de l'implantation des LBM par les ARS, l'aménagement de l'accréditation pour la biologie médicale hors métropole ou la nomination dans les CHU.

## 2.2 L'accréditation au sein du laboratoire de biologie médicale

### 2.2.1 Définition

L'accréditation des laboratoires de biologie médicale n'est donc pas une nouveauté; elle existait déjà à travers les démarches de qualité volontaires, c'est son caractère obligatoire qui l'est.

Selon l'AFNOR : Agence Française de Normalisation : « L'accréditation est une procédure selon laquelle un organisme tiers, faisant autorité, fournit une reconnaissance formelle de la compétence d'une personne ou d'un organisme à réaliser des activités spécifiques d'évaluation de la conformité » (3). Elle s'inscrit dans la réforme de la biologie médicale. Elle est un système mis en place par les pouvoirs publics dans le but de délivrer des jugements impartiaux lors de l'évaluation et de l'inspection des LBM.

De plus, elle est une activité d'évaluation de la conformité à but non lucratif, sans objectifs commerciaux, afin d'être complètement indépendante. L'évaluation de la conformité peut être réalisée sur un produit, un service, un processus, un système ou encore une personne. Le but de cette évaluation est de comparer les résultats obtenus avec les caractéristiques déterminées au préalable et définies dans des spécifications internes, des normes ou des textes réglementaires.

Cette accréditation touche toutes les phases de réalisation de l'examen de biologie médicale : de la phase pré-analytique, qui comprend le prélèvement d'un échantillon, le recueil des éléments cliniques pertinents, le transport à la phase post-analytique, qui comprend la validation biologique et l'interprétation du résultat en passant par la phase analytique.

### 2.2.2 Le COFRAC

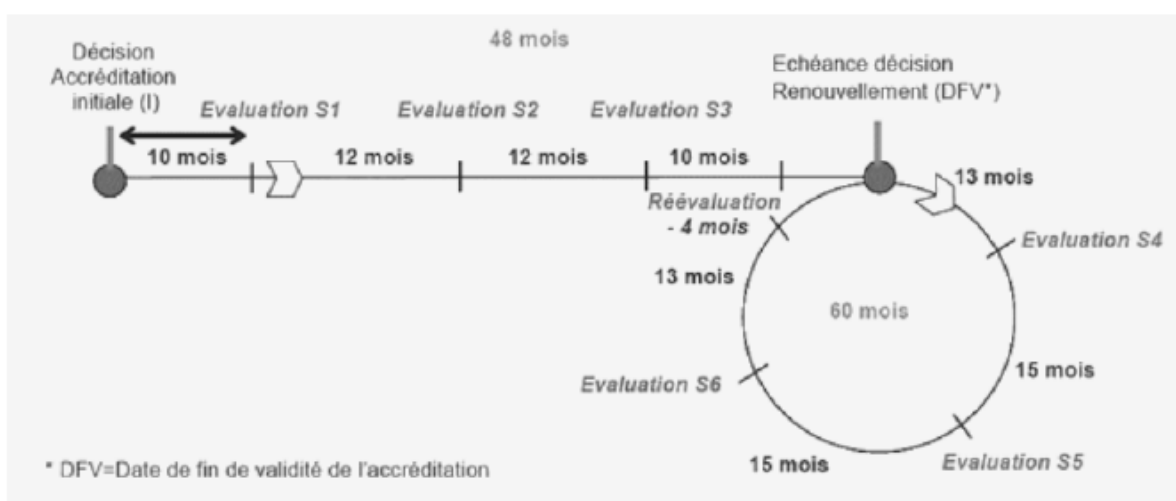
Cette reconnaissance, qu'est l'accréditation, est fournie par l'organisme national d'accréditation unique sur demande du LBM. En France, il s'agit du Comité Français d'Accréditation (COFRAC). Le COFRAC, créé en 1994 sous le régime de la loi du 1er juillet 1901, a été désigné comme unique instance nationale d'accréditation par le décret du 19 décembre 2008, reconnaissant ainsi l'accréditation comme une activité de puissance publique. « C'est une association à but non lucratif qui s'assure de la compétence, de l'impartialité et de la rigueur des organismes de contrôle » (10). Il est un

organisme tiers indépendant et exerce deux types d'activités : la certification et l'inspection. Il est du ressort du LBM de réaliser une demande d'accréditation auprès du COFRAC afin de l'obtenir.

EA ou European cooperation for Accreditation, association de la loi 1901, à but non lucratif, créée en 1994 et dotée d'une section Santé Humaine depuis 2009, regroupe tous les organismes d'accréditation européens. Cette association assure la mise en place d'un système d'audits «croisés» entre les différents organismes d'accréditation européens afin d'assurer «la reconnaissance internationale de l'accréditation qui facilite l'accès aux marchés de l'export». En effet grâce aux « Multilateral agreements» (11), dont le COFRAC est signataire une accréditation en France peut être reconnue en Europe et dans le monde.

### 2.2.3 Le processus d'accréditation

Le processus d'accréditation auquel sont soumis les LBM est standardisé. Ce processus est cyclique et est actuellement représenté par le schéma suivant :



**Figure 1 : Processus d'accréditation (12)**

La première étape réalisée par le LBM est le dépôt du dossier d'accréditation au COFRAC. En vue de répondre au 1er novembre 2016 aux conditions d'accréditation définies par l'ordonnance du 13 janvier 2010, le laboratoire de biologie médicale devait transmettre au plus tard son dossier le 30 avril 2015 au COFRAC. Mais selon ce décret n° 2015-205 du 23 février 2015 concernant les modalités de dépôt, les LBM avaient encore jusqu'au 30 juillet 2015 pour déposer les annexes de ce dossier.

Après dépôt de ce dossier une première visite d'évaluation aura lieu suivie de trois évaluations de surveillance. Une première réévaluation a lieu quatre ans après la première visite. L'accréditation est ensuite renouvelée tous les cinq ans avec trois visites de surveillance entre chaque renouvellement.

Les évaluations sont réalisés par des «pairs», c'est à dire des experts techniques. Ces auditeurs sont des biologiste médicaux avec une forte expérience en qualité. Ils sont accompagnés par des évaluateurs qualitatifs missionnés par le COFRAC.

Une fois les audits réalisés, des rapports d'évaluation sont réalisés présentant les écarts à la Norme relevés, ceux-ci pouvant être contestés par les LBM si cela est dûment justifié. Puis ces rapports sont présentés au Comité Technique d'Accréditation (CTA) composé de personnes indépendantes et n'ayant pas été auditeurs. C'est au directeur général du COFRAC que revient la décision finale d'accréditation. En cas de non accréditation, il en informe l'HAS, l'ANSM et l'ARS.

Le calendrier d'accréditation a quant à lui été modifié par la loi du 30 mai 2013 qui ratifie l'ordonnance relative à la biologie médicale:

- La date d'entrée reste inchangée soit le 31 octobre 2012 pour la voie A (dossier d'accréditation partielle) et le 31 mai 2013 pour la voie B (Bioqualité)
- Accréditation de 50% des examens à compter du 1er novembre 2016
- Accréditation de 70% à compter du 1 er novembre 2018
- Accréditation de 100% à compter du 1er novembre 2020 (9)

Il est probable que ce calendrier sera amené à évoluer, dans le cas où le COFRAC ne parviendrait pas à respecter ses engagement envers l'accréditation.

## **2.3 La démarche d'accréditation des HCL**

Les Hospices Civils de Lyon, HCL, constituent un pôle de compétence au rayonnement national et international. Deuxième centre hospitalier universitaire de France, ils offrent à la population des soins de proximité tout en développant des techniques et prises en charge innovantes (13). Le Laboratoire de Biologie Médicale Multi Sites (LBMMS) du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Lyon dépend des Hospices Civils de Lyon.

Les laboratoires multi sites sont nés de la levée de l'interdiction « de plus d'un site par laboratoire » opérée par l'ordonnance de 2010. Cette décision a été prise, d'après le Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes «dans le soucis de répondre à une exigence de proximité de l'offre de biologie médicale combinée à la nécessité d'avoir des LBM de taille suffisamment importante pour qu'ils puissent disposer en interne de la compétence nécessaire pour une biologie médicale de qualité.» (14)

Depuis la parution de l'ordonnance législative, le 15 janvier 2010, tous les anciens «laboratoires d'analyses de biologie médicale» (LABM) ainsi que les laboratoires hospitaliers sont à présent des «laboratoires de biologie médicale» (LBM), qu'ils exercent leurs activités sur un ou plusieurs sites. Selon le code de la santé publique L 6212-2 «Un laboratoire de biologie médicale est donc un laboratoire qui peut être implanté sur un ou plusieurs sites, dans la limitation de trois territoires de santé infrarégionaux limitrophes.» (1)

Avant 2010 chacun des 37 laboratoires des HCL s'était organisé pour appliquer le GBEA. Une «cellule qualité», constituée de biologistes impliqués depuis plusieurs années, assurait des formations et des informations. «Suite à la publication de la loi HPST et de l'ordonnance 2010-49 du 13 janvier 2010, un Comité de Pilotage a été formé en 2010» (15). Ce comité est le COPIL Accréditation et il a comme objectif la mise en place d'une stratégie pour répondre aux exigences de la nouvelle réglementation,.

Les décisions de ce COPIL ont été :

1. Déployer un SMQ : Système de Management de la Qualité unique pour les 33 sites du laboratoire,
2. Faire appel à l'assistance méthodologique d'une société de conseil sur une période de 3 ans
3. Acquérir un outil de gestion de la qualité, permettant une harmonisation transversale : le logiciel Kalilab®.

De plus, la mise en place de modules de formation ouverts aux personnels médicaux et non médicaux, axés « accréditation » a permis au personnel de gagner en compétence.

L'hôpital de la Croix Rousse où la partie expérimentale de cette thèse a été réalisée, fait partie du groupement Hospitalier Nord des Hospices Civils de Lyon. Dans ce nouveau cadre réglementaire, il a su s'adapter et revoir la notion de management de la qualité au sein de l'établissement. Les professionnels de la Croix-Rousse sont engagés dans de multiples démarches de qualité. Le personnel a initié des démarches depuis plusieurs années, plus ou moins structurées.

Au niveau du service de biochimie, une équipe composée de biologistes médicaux, techniciens et étudiants travaillent à plein temps sur l'assurance et le contrôle qualité, afin de permettre au laboratoire de fournir tous les documents nécessaires à son accréditation. Cela passe par la réalisation de validations/vérifications et suivis de méthode grâce au développement d'un logiciel de management de la qualité, à l'habilitation du personnel, la gestion des risques et à l'implication des biologistes du service.

### **3 Validation/Vérification de méthode en biologie médicale**

#### **3.1 Définition**

« L'objectif d'une méthode d'analyse en biologie médicale est d'identifier et/ou quantifier, avec une incertitude connue, des molécules ou des composants présents dans les liquides biologiques » (3). La validation/vérification préalable à l'utilisation d'une méthode d'analyse fait l'objet d'une exigence de la norme NF EN ISO 15189 (chapitre 5.5.2) et NF EN ISO 22870 « pour s'assurer qu'elle convient à l'utilisation prévue » (16). « La validation de méthode est la confirmation par des preuves tangibles et objectives que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue ont été satisfaites » (3). Elle est réalisée dans un souci d'uniformisation des pratiques et l'obtention de procédures validées qui assure que la méthode répond à l'utilisation voulue.

De plus, des méthodes d'analyse fiables sont requises pour assurer la conformité avec les nouvelles réglementations sur l'accréditation des LBM. Par conséquent, les laboratoires doivent prendre les dispositions appropriées pour s'assurer de fournir des résultats du niveau de qualité requis. « La validation/vérification de méthode utilise un ensemble de tests qui vérifient à la fois les hypothèses de base de la méthode d'analyse et

établissent et documentent les caractéristiques de performance d'une méthode ; ce faisant, elle démontre si une méthode est adaptée à son emploi analytique » (17).

Lors de l'introduction d'une nouvelle procédure analytique, les performances sont validées en se référant aux Guides Techniques d'Accréditation du COFRAC SH GTA 04 V2015 « Guide technique d'accréditation de vérification / validation des méthodes de biologie médicale », au SH GTA 14 « Guide d'évaluation des incertitudes de mesures des examens de biologie médicale » ainsi qu'aux recommandations pour l'accréditation des LBM proposées par la SFBC. La validation des méthodes se réfère également au document SH INF 50 « Portées types d'accréditation » élaboré par le COFRAC (18).

### 3.2 Les critères d'acceptabilité

D'après le SH GTA 04 V2015 : «Le laboratoire établit les critères de performance de sa méthode». C'est donc au biologiste médicale que revient le choix des critères d'acceptabilité qui sont reportés dans le dossier de validation. Les critères de performance et les limites d'acceptabilité doivent donc être fixés préalablement à l'étude expérimentale. « Ils doivent refléter l'état de l'art et la pertinence clinique » (19).

Une fois l'étude réalisée, ils sont comparés aux données de référence dont le biologiste dispose (fournisseur, bibliographie, sociétés savantes, ...) et il «conclut quant à l'acceptabilité de sa méthode en fonction de ses besoins vis-à-vis du critère testé». C'est au biologiste médical de prendre ces décisions, mais il s'appuiera sur les recommandations de l'HAS et des consensus internationaux. De plus, le SH GTA 04 précise que «les échantillons utilisés devront être décrits. Toute discordance avec les performances annoncées par le fournisseur sera investiguée.» (19)

La validation/vérification de méthode permet donc de confirmer la validité des résultats obtenus et de réaliser une vérification continue. Selon le SH GTA 01 « Il convient que le laboratoire prévoit des critères de contrôle d'un résultat et qu'il a établi des règles de décision quant à l'exploitation des différents résultats obtenus. Les critères de validation peuvent être établis à partir par exemple de la fidélité intermédiaire de la méthode » (CV de «reproductibilité interne» du CIQ) (20).

### 3.3 Notion de portée flexible

Afin de réaliser au mieux la validation de ses méthodes, le LBM définit pour chaque examen la nature des opérations à mettre en œuvre en fonction du type de flexibilité, soit la portée et le type de méthode quantitative ou qualitative (19).

La portée d'accréditation est un énoncé formel et précis des activités pour lesquelles le laboratoire est accrédité. Deux portées flexibles existent : la portée A et la portée B. D'après le SH REF 02; le LBM peut revendiquer une portée flexible standard de type A : « dans le cas de l'utilisation de méthodes reconnues, soit d'une méthode commercialisée en tant que DM-DIV donc marquée CE au titre de la directive 98/79/CE ou méthode faisant l'objet de publications internationales validées. » (21)

Tandis que dans le cas où le LBM «souhaite adapter, à ses besoins, des méthodes reconnues ou développer ses propres méthodes il doit procéder à leur validation. La validation des méthodes reconnues adaptées sera aussi étendue que les modifications apportées le nécessiteront. Le LBM doit, dans ce cas, revendiquer une portée flexible étendue de type B.» (21)

Dans le cadre de cette thèse, la méthode étudiée est dite «connue», elle est conforme par sa méthode, les équipements et les réactifs utilisés aux données fournisseurs. Aucune adaptation n'a été réalisée de la part du laboratoire. Le type de portée est donc portée flexible standard A.

Dans ce cas, Le SH GTA 04 stipule que «le laboratoire doit uniquement vérifier la mise en application dans son environnement propre par rapport à des critères et des limites acceptables.» (19) Il n'est pas demandé aux laboratoires d'effectuer de nouveau la caractérisation approfondie des méthodes ou des analyseurs. Des études ont déjà été menées par les fabricants qui annoncent les performances de leurs méthodes. Selon la norme NF EN ISO 15189 «Il est demandé aux laboratoires de procéder à une vérification indépendante avant la mise en application appelée vérification des performances sur site». (3)

«Les principales exigences pour l'accréditation sont les suivantes : le laboratoire doit préciser dans sa documentation qualité quels sont les objectifs fixés par le système de management, en cohérence avec le profil d'accréditation revendiqué vis-à-vis du COFRAC» (22). Le laboratoire doit évaluer l'incertitude de mesure des méthodes

nouvellement introduites dans la portée et mettre en œuvre des procédures de contrôle qualité suffisantes pour en assurer la validité.

### **3.4 Le Dossier de validation/vérification de méthode**

Une fois les critères de performance et les limites d'acceptabilité choisis, le laboratoire doit réaliser des vérifications expérimentales sur le site afin de confirmer les performances attendues. À la suite de cette vérification, un dossier de validation de méthode doit être rédigé. Il doit respecter le format fourni par le COFRAC dans le GTA de vérification/ validation des méthodes en biologie médicale.

Au moment de la réalisation de cette thèse il existait deux formulaires différents et complémentaires pour présenter les données de vérification/validation de méthodes (SH FORM 43 et 44). Afin d'adapter et d'intégrer les modifications de la version 2012 de la norme NF EN ISO 15189, il ne subsiste qu'un formulaire unique qui synthétise l'ensemble des items nécessaires : le SH FORM 43.

Le nouveau formulaire SH FORM 43 présenté dans le SH GTA 04 en 2015 est constitué de plusieurs feuillets : «les folios 1 et 2 sont destinés à l'identification du ou des processus à vérifier/valider et à présenter le processus de vérification/validation, les folios suivants (3 à 8), reprennent les critères de performance que le laboratoire évaluera afin de réaliser sa vérification/validation de méthode». (19)

Pour les laboratoires ayant débuté leur vérification/validation de méthode selon les versions précédentes des formulaires SH FORM 43 et 44, avant le 30 avril 2015, ce qui est le cas de cette thèse, les dossiers ne sont pas à reprendre et restent recevables pour l'étude de leur demande d'accréditation.

La validation de méthode est réalisée une seule fois. Le dossier de validation doit rassembler l'ensemble des résultats collectés de façon claire et cohérente. «Pour cela, les informations et résultats obtenus doivent faire l'objet d'une exploitation statistique» (23). Enfin, une acceptation formelle de l'aptitude de la méthode, par un responsable biologiste du laboratoire, doit être présente à la toute fin du document.

De plus, une nouvelle notion est apparue avec la dernière révision du SH GT 04 en 2015, c'est la notion de «processus» (19). Il existe le processus simple lorsque l'examen de biologie médical est réalisé à l'aide d'une seule étape par exemple le dosage de

protéines totales dans le sérum. Dans le cas contraire, lorsque la réalisation de l'examen de biologie médicale passe par l'enchaînement de plusieurs étapes on parle de processus complexe comme dans le cas de la numération formule sanguine. Pour un processus complexe, les folios seront dupliqués autant de fois que nécessaire pour aborder chacune des étapes constitutives du processus.

## 4 Méthode de détermination des Gaz du Sang

### 4.1 Définition des gaz du sang

Le terme gaz du sang comprend la mesure des gaz dissous dans le sang et ceux liés chimiquement à des composants du sang tels que le dioxygène et le monoxyde de carbone qui se lient aux hématies. Elle est très utilisée dans les services de soins intensifs, pneumologie, réanimation ou encore néonatalogie. Les patients des services de soins intensifs sont généralement dans un état critique et il est indispensable de leur assurer un apport d'oxygène suffisant, ainsi que de surveiller leur équilibre acido-basique. C'est à partir d'un prélèvement effectué le plus souvent par ponction de sang artériel au niveau du poignet par une seringue que l'analyse des gaz du sang est réalisée. Le prélèvement doit être rapidement acheminé au laboratoire. L'analyse des gaz du sang est utilisée afin d'évaluer la fonction respiratoire ainsi que son équilibre acido-basique.

Le bilan d'oxygénation permettant l'évaluation de la la fonction respiratoire d'un patient est réalisé le plus souvent en observant la pression partielle en oxygène ( $pO_2$ ). Ce bilan est obtenu à l'aide d'analyseur des gaz du sang et réalisé au moyen d'électrodes sélectives. Pour parvenir à une vision plus complète de ce bilan, un autre paramètre est étudié : la teneur en hémoglobine. Ce facteur influence fortement la capture de l'oxygène.

Dans le cadre du bilan acido-basique, l'analyse de deux autres paramètres est essentielle : celle du pH et de la pression partielle en dioxyde de carbone ( $pCO_2$ ). Mis en relation ces deux paramètres forment la composante respiratoire de l'équilibre acido-basique. Cet équilibre «acido-basique», c'est-à-dire l'équilibre entre les acides et les bases de l'organisme doit en permanence être contrôlé. Les deux organes permettant la régulation de l'équilibre acido-basique sont:

1. Les poumons permettent les échanges gazeux et assure l'élimination du gaz carbonique.

2. Les reins qui régulent la concentration en bicarbonates qui sont des substances basiques.

Les variations des gaz du sang sont une conséquence de la modification de l'équilibre acido-basique due à des troubles respiratoires ou métaboliques. Leur analyse permet d'apprécier dans quel sens s'effectue le déséquilibre initial et comment l'organisme tente de compenser ce déséquilibre par divers mécanismes.

#### 4.1.1 Pression partielle en dioxygène : $pO_2$

Le premier paramètre du bilan d'oxygénation du sang artériel à étudier est la pression partielle en dioxygène. « Lors de la respiration, le corps prélève dans l'air ambiant la quantité d'oxygène nécessaire. À l'état de repos, un homme adulte normal en utilise 8 litres par minute, soit environ 500 litres par heure, ou environ  $12\text{ m}^3$  par jour. Il utilise de cette manière 23,8% de l'oxygène contenu dans le mélange qu'il respire. Ce sont les poumons, grâce à l'interface des alvéoles pulmonaires, qui permettent la diffusion dans le sang de cet oxygène » (24).

L'oxygène,  $O_2$ , est transporté dans le sang sous deux formes : dissous et lié à l'hémoglobine. En effet, « dans le sang, grâce à des processus catalytiques, cet oxygène se fixe sur l'hémoglobine des globules rouges et va ensuite être distribué à tout l'organisme » (25). La concentration d' $O_2$  dissous dans le sang est proportionnelle à la pression partielle d' $O_2$ , et au coefficient de solubilité d' $O_2$ . La pression partielle en oxygène dissous est proche de 13 kPa.

Les besoins en oxygène de l'organisme diffèrent en fonction de multiples facteurs, tels la nature de l'activité exercée, la nutrition ou l'état de relaxation. Une  $pO_2$  élevée, soit une hyperoxémie, souligne un risque de toxicité de l'oxygène à cause de la production de radicaux libres. Cela est particulièrement important chez les nouveau-nés et chez les prématurés. Tandis qu'une  $pO_2$  trop basse, soit une hypoxémie, indique une inadéquation de la captation d'oxygène des poumons.

### 4.1.2 Teneur en Hémoglobine totale

L'hémoglobine est une chromoprotéine de structure quaternaire se retrouvant essentiellement à l'intérieur des globules rouges dans le sang ce qui leur confère leur couleur rouge. L'hémoglobine humaine est constituée de quatre chaînes identiques deux à deux : les chaînes alpha et bêta. Chaque sous unité comporte une partie protéique : la globine et un groupement prosthétique non protéique : l'hème.

La teneur en hémoglobine totale, ctHb, est la mesure de la capacité potentielle du transport de l'oxygène. En effet lors du passage des globules rouges dans les capillaires pulmonaires, l'hémoglobine fixe directement l'O<sub>2</sub> qui s'y trouve et le transporte dans les tissus périphériques quand la pression partielle de l'O<sub>2</sub> est faible dans le sang. Après avoir lâché l'O<sub>2</sub> dans les tissus, l'hémoglobine transporte le CO<sub>2</sub> des tissus vers les poumons où est libéré le CO<sub>2</sub>, qui est ensuite rejeté dans l'air expiré par les poumons. « Les interactions complexes, successives et coopératives, entre l'oxygène et les quatre sites vecteurs de son enzyme porteuse expliquent que la cinétique de la réaction de dissociation de l'hémoglobine ne soit pas une relation simplement linéaire ou hyperbolique en fonction de la pression partielle en O<sub>2</sub>, mais une sigmoïde comme le présente le graphique suivant » (26):

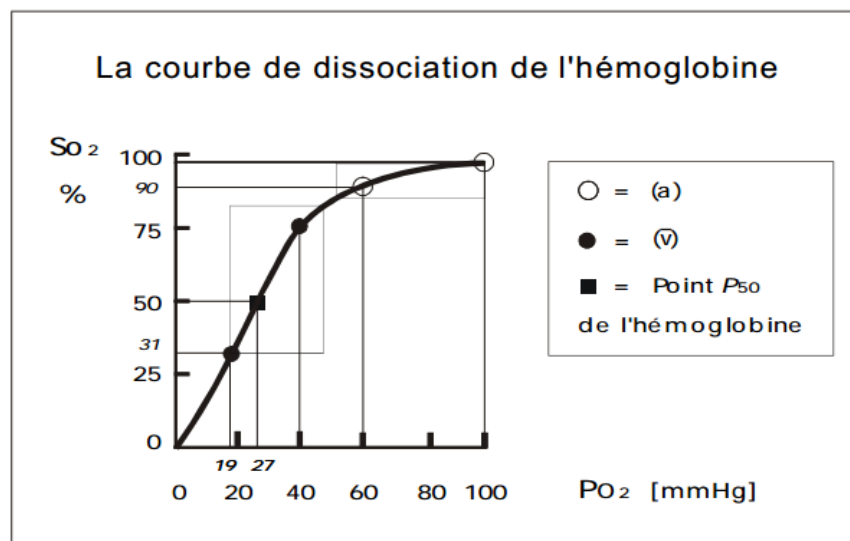


Figure 2 : Courbe de dissociation de l'hémoglobine (26)

Une ctHb élevée indique une forte viscosité du sang ce qui peut provoquer une surcharge cardiaque par inadvertance et à long terme une déficience. Tandis qu'une ctHb

basse entraîne un risque d'hypoxie tissulaire du à la réduction de la teneur en oxygène du sang artériel. Des mécanismes de compensation se mettent alors en place, comme l'augmentation du débit cardiaque. Celle-ci peut être inopportune en cas de maladie cardiaque ischémique. «Le traitement pour une ctHb consiste généralement en une transfusion d'érythrocytes» (27) .

### 4.1.3 pH

Le pH est l'indicateur d'acidité ou d'alcalinité d'un échantillon. Le pH d'une solution donne des informations sur la concentration de celle-ci en ion hydrogène. Plus la solution est acide, plus elle contient des ions H<sup>+</sup>. L'activité chimique des ions hydrogènes est traduite par la formule suivante :

$$pH = -\log [H^+]$$

«Le pH est la mesure de l'état acido-basique global du sang. Le fonctionnement normal de nombreux processus métaboliques exige que le pH soit compris dans une plage relativement réduite» (27). En dehors de ces plages, il faut parle d'alcalose ou d'acidose. Le maintien stricte du pH est essentiel, car les fonctions enzymatiques de l'organisme et le fonctionnement des protéines intracellulaires des canaux membranaires sont très sensibles aux variations d'ions hydrogènes.

«Le pH sanguin est normalement maintenu dans une plage étroite par tamponnage dynamique du système de tampon bicarbonate. Dans le sang le CO<sub>2</sub> physiquement dissout est en partie hydraté pour former l'acide carbonique (cHCO<sup>3-</sup>), lequel se dissocie en protons et en ions bicarbonate selon l'équation suivante » (27):

$$pH = 6,1 + \log \frac{[HCO^{3-}]}{0,0301 + pCO_2}$$

L'équilibre de l'équation de Henderson-Hasselbalch est essentiellement maintenu par les contrôles interactifs rénaux et pulmonaires des concentrations d'acide carbonique et de bicarbonate dans le sang (en faisant respectivement varier la ventilation alvéolaire - et donc la concentration d'acide carbonique - et l'excrétion de bicarbonate rénal).

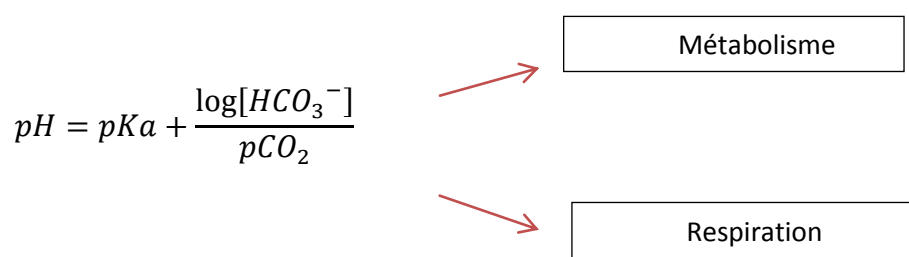
#### 4.1.4 Pression partielle en dioxyde de carbone : $p\text{CO}_2$

Lors de l'expiration, les résidus gazeux rejetés par les fonctions organiques sont principalement constitués de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et de vapeur d'eau, mais également d'oxygène excédentaire non utilisé ( $\text{O}_2$ ) (24). La  $p\text{CO}_2$  est la pression partielle en dioxyde de carbone dans une phase gazeuse en équilibre avec le sang. Le  $\text{CO}_2$  diffuse facilement à travers les membranes cellulaires. Elle peut être considérée comme nulle dans l'air normal inspiré. «La  $p\text{CO}_2$  reflète donc directement l'adéquation de la ventilation alvéolaire par rapport à la production métabolique de dioxyde de carbone» (27).

## 4.2 Physiologie humaine des Gaz Du Sang

### 4.2.1 Equilibre acido-basique

L'équilibre acido-basique est l'ensemble des mécanismes du corps humain qui permettent de maintenir constant le pH physiologique. Tout écart de cet état d'équilibre peut entraîner des perturbations graves parfois incompatibles avec la vie. «Cet équilibre ou plus précisément cette homéostasie est gouvernée par le pH résultant de la  $p\text{CO}_2$  et des bicarbonates» (28). La notion d'équilibre acido-basique et ses dysfonctionnements peuvent être visualisés à partir de l'équation d'Henderson-Hasselbach :



Le  $pK_a$ , soit la constante d'acidité d'un équilibre acido-basique, est égal à la valeur de pH pour laquelle 50 % du soluté est dissocié, soit le pH pour lequel le pouvoir tampon est maximal. Le fonctionnement correct du métabolisme cellulaire dépend de la constance du pH et de la disponibilité en  $\text{O}_2$  et l'élimination du  $\text{CO}_2$ . Cet équilibre dépend donc de nos poumons qui permettent l'élimination du  $\text{CO}_2$  et de nos reins, qui réalisent la réabsorption des bicarbonates et de l'excrétion d'acides.

Cependant, le corps humain doit faire face à des afflux réguliers d'acides de diverses origines. Il existe deux types d'acidité : l'acidité «volatile» qui provient du métabolisme cellulaire et qui fournit au corps humain 13 000 à 15 000 mmol/24h d'ions  $H^+$  et l'acidité fixe provenant de l'alimentation et qui fournit 50 à 100 mmol/24h d'ions  $H^+$ . Différents systèmes de régulation sont donc mis en place pour maintenir stable l'acidité, donc le pH, physiologique.

#### 4.2.2 Variations physiologiques

Une fois les résultats de la gazométrie sanguine obtenus, il faut les interpréter et envisager les différentes variations physiologiques. La première étape consiste à évaluer le pH pour différencier une acidémie d'une alcalémie. Puis les valeurs de  $CO_2$  et de concentrations en bicarbonates aident à faire la distinction entre un problème de type métabolique et un problème de type respiratoire. Il y a donc quatre affections primaires répertoriées dans le tableau suivant :

**Tabl.1** : déséquilibres acido-basiques élémentaires : mécanismes compensateurs (13)

	<b>anomalie primitive</b>	<b>réponse compensatrice</b>	<b><math>H^+</math></b>	<b>pH</b>
Acidose métabolique	$HCO_3^- \searrow$	$P_{CO_2} \searrow$	$\nearrow$	$\searrow$
Alcalose métabolique	$HCO_3^- \nearrow$	$P_{CO_2} \nearrow$	$\searrow$	$\nearrow$
Acidose respiratoire	$P_{CO_2} \nearrow$	$HCO_3^- \nearrow$	$\nearrow$	$\searrow$
Alcalose respiratoire	$P_{CO_2} \searrow$	$HCO_3^- \searrow$	$\searrow$	$\nearrow$

**Figure 3 : Déséquilibres acido-basiques élémentaires (29)**

Pour finir, «le calcul des compensations permet de différencier un trouble simple d'un trouble mixte» (28). Du point de vue clinique, il est important de soupçonner et de diagnostiquer un trouble acido-basique. Ils peuvent se manifester sous différentes formes cliniques, mais certains symptômes sont caractéristiques de l'acidose et de l'alcalose et sont répertoriés dans le tableau suivant:

<b>Tableau 1</b>	
<b>Manifestations cliniques de troubles acidobasiques</b>	
<b>Acidose</b>	<b>Alcalose</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● <b>Troubles cardiovasculaires</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Troubles de contractilité cardiaque</li> <li>✦ Vasodilatation</li> <li>✦ Hypotension</li> <li>✦ Arythmies</li> <li>✦ Diminution de la sensibilité aux catécholamines</li> </ul> </li> <li>● <b>Troubles respiratoires</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Hyperventilation</li> <li>✦ Fatigue respiratoire</li> <li>✦ Dyspnée</li> </ul> </li> <li>● <b>Troubles métaboliques</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Insulinorésistance</li> <li>✦ Hyperkaliémie</li> </ul> </li> <li>● <b>Troubles cérébraux</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Altération de l'état de conscience (de l'agitation au coma)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <b>Troubles cardiovasculaires</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Constriction artériolaire</li> <li>✦ Baisse du débit coronaire</li> <li>✦ Diminution du seuil angineux</li> <li>✦ Arythmies</li> </ul> </li> <li>● <b>Troubles respiratoires</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Hypoventilation (dans l'alcalose métabolique)</li> </ul> </li> <li>● <b>Troubles métaboliques</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Hypokaliémie</li> <li>✦ Hypomagnésémie</li> <li>✦ Hypophosphatémie</li> </ul> </li> <li>● <b>Troubles cérébraux</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Tétanies, convulsions, léthargie, délire et stupeur</li> </ul> </li> </ul>

**Figure 4 : Manifestations cliniques des troubles acido-basiques (29).**

### 4.2.3 Acidose métabolique

L'acidose métabolique survient quand les entrées d'ions  $H^+$  d'origine nutritionnelle ou provenant du métabolisme sont supérieures aux excrétions d'ions  $H^+$ .

Les causes peuvent être les suivantes :

- Acidose lactique
- Acidocétose
- Ingestion de substances exogènes riches en  $H^+$
- Pertes de bicarbonates par exemple par diarrhée

Quelle que soit la cause, une baisse du pH et du taux plasmatiques de bicarbonates seront observés. L'augmentation en  $CO_2$  qui devrait survenir par la suite sera compensée par une hyperventilation immédiate.

### 4.2.4 Acidose respiratoire

L'acidose respiratoire survient lorsqu'une diminution de la ventilation alvéolaire conduit à une accumulation de  $CO_2$  et une augmentation de la  $pCO_2$ . Quelle que soit la

cause, une baisse du pH et une élévation du taux de bicarbonate plasmatique sont observées. Les causes sont variées :

- Une dépression respiratoire due à des médicaments ou la prise de drogues
- Une augmentation des résistances à l'écoulement dans les voies aériennes qui peut être due à une Broncho-pneumopathie chronique obstructive
- Une réduction de la zone d'échange pulmonaire
- Des maladies neuromusculaires touchant les muscles respiratoires
- Certaines formes d'obésité

Ce type de trouble acido-basique aboutit à une compensation rénale marqué par une excrétion d'ions  $H^+$  et une réabsorption d'ions bicarbonates. Ces deux mécanismes entrent en jeu afin de diminuer les ions  $H^+$  et donc à augmenter le pH

#### 4.2.5 Alcalose métabolique

L'alcalose métabolique est le résultat d'une diminution de la concentration en ions  $H^+$ . Les causes peuvent être :

- Des médicaments
- Des vomissements importants

Elle conduira à une élévation des ions bicarbonates et une compensation respiratoire rapide entraînant une augmentation rapide, mais limitée de la  $pCO_2$

#### 4.2.6 Alcalose respiratoire

L'alcalose respiratoire est le résultat d'une hyperventilation, qui ne résulte pas d'une augmentation de la production métabolique de  $CO_2$ . Elle se caractérise par une élévation du pH et une baisse du taux de bicarbonate plasmatique.

Les causes sont l'ensemble des situations entraînant une augmentation de la ventilation, d'origine respiratoire telle que :

- Les maladies respiratoires aiguës ou chroniques
- Une anémie ou une autre anomalie du transport de l'oxygène
- L'exposition à l'altitude

Une compensation rénale surviendra à la suite de la déclaration de cette pathologie. Cela engendra une excrétion accrue de bicarbonates et une réabsorption d'ion  $H^+$  dans la partie distale du néphron.

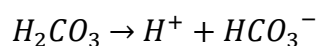
#### 4.2.7 Les systèmes de régulation

Chaque jour l'organisme humain reçoit des acides fixes par l'alimentation et le métabolisme intermédiaire soit 1 mmol  $H^+$ /kg/24h et secrète des acides volatils par le catabolisme des glucides alimentaires en  $CO_2$  soit 1300 mmol  $CO_2$ /24h. De nombreux systèmes de régulation entrent alors en action afin de libérer des protons, de maintenir le pH physiologique et de lutter contre l'acidose.

Des systèmes de régulations sont donc nécessaires afin de contrer les arrivées acides. Trois systèmes existent et interviennent en fonction de la vitesse de mise en œuvre et la puissance de la dérégulation.

#### 4.2.8 Système tampon

Le premier mécanisme protégeant nos cellules contre la production continue d'acides ou contre une agression acide externe est la présence de tampons. « Leur rôle est de «porter» les ions  $H^+$  en les empêchant ainsi de faire des dégâts, éventuellement de les céder à une autre molécule de tampon, pour finalement les libérer à l'extérieur de l'organisme. Ils peuvent ensuite reprendre un autre ion  $H^+$  en charge et recommencer » (30). Ils sont très efficaces, car ils maintiennent localement le pH constant face à un apport continu d'ions  $H^+$ . Les systèmes tampons sont instantanés et automatiques, mais rapidement dépassés. Leur action est limitée. Le principal tampon extracellulaire est le système : bicarbonate/acide carbonique.



Un second système de régulation existe : le couple poumons-reins. Le temps de réponse est plus lent, mais l'action est plus puissante.

#### 4.2.9 Système pulmonaire

L'adaptation est dans un premier temps pulmonaire, en effet c'est un système rapide et sensible à de faibles variations de pH et de la  $p\text{CO}_2$ . »Les poumons permettent d'éliminer le  $\text{CO}_2$  et par conséquent indirectement les protons en adaptant la ventilation alvéolaire aux variations de la pression partielle en  $\text{CO}_2$  ou en  $\text{O}_2$ . L'hypoxie stimule la respiration alors que l'hyperoxie la déprime» (31).

La détection de ces variations est assurée par des chémorécepteurs périphériques localisés dans les régions de la crosse aortique, de la bifurcation carotidienne et au niveau central. Mais la quantité de  $\text{CO}_2$  éliminable par cette voie est limitée. L'augmentation de la  $p\text{CO}_2$  et des ions  $\text{H}^+$  entraîne une compensation respiratoire

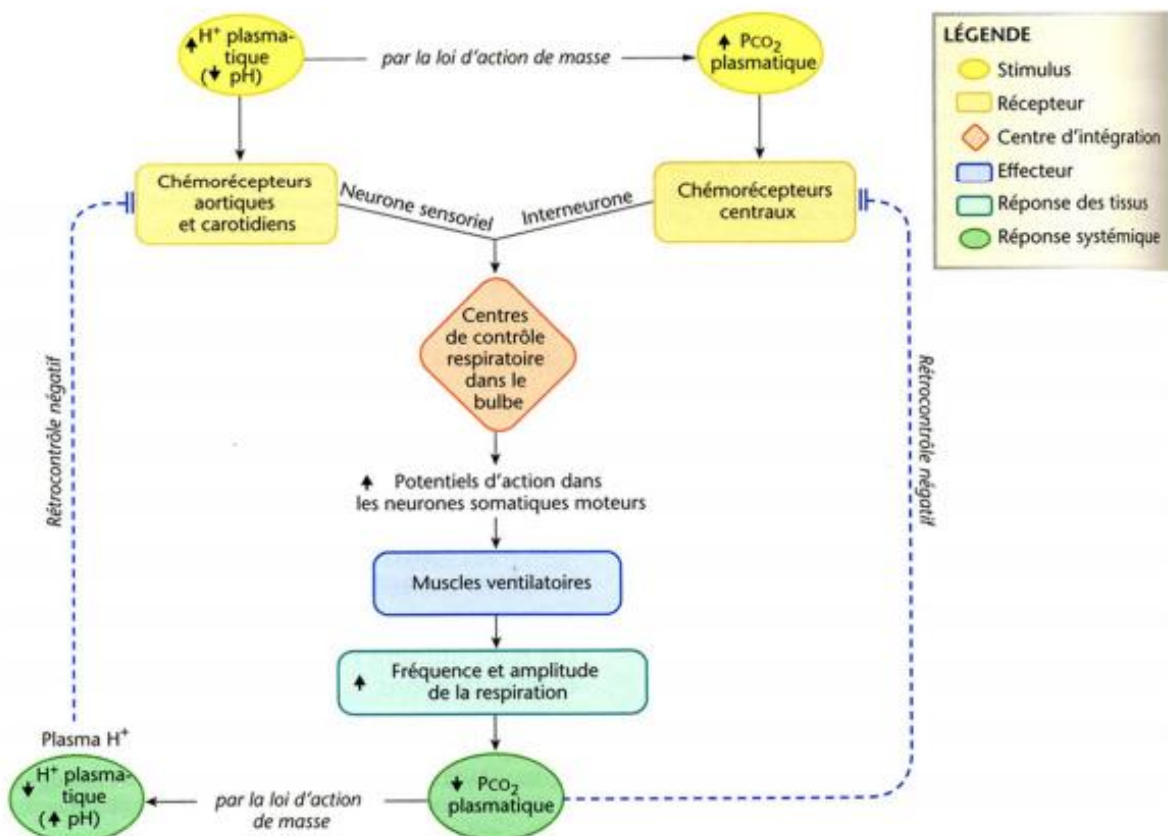
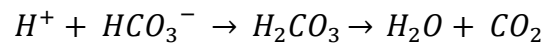
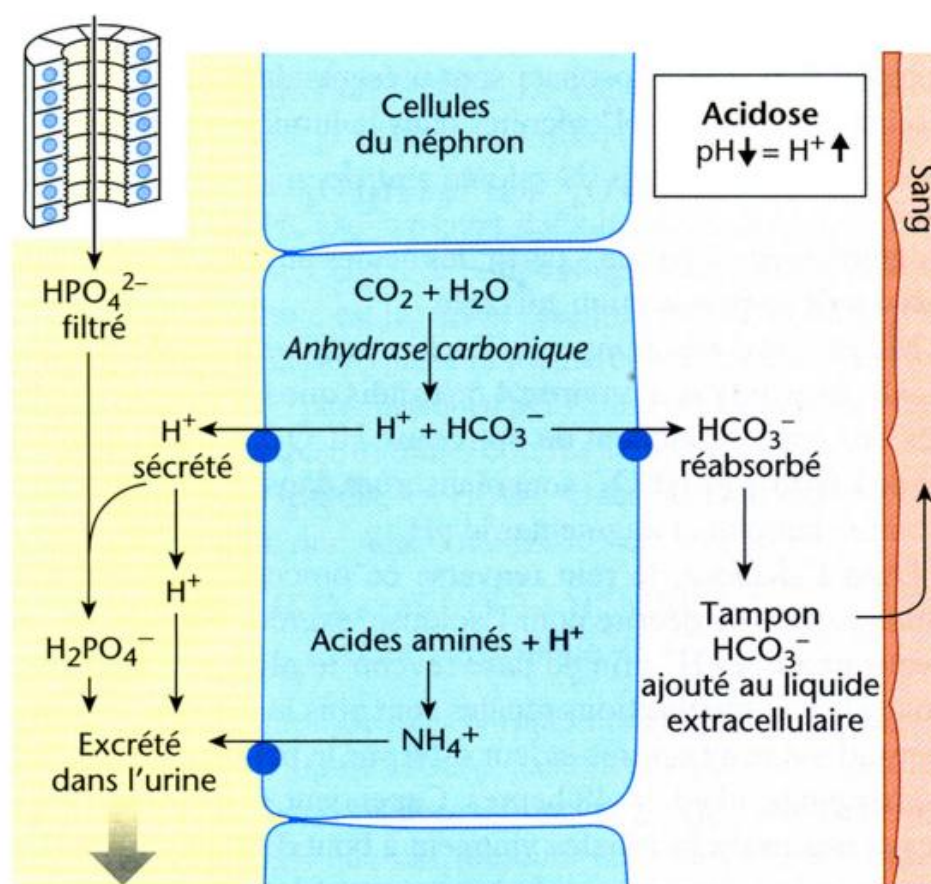


Figure 5 : Modifications de la ventilation liées à des modifications métaboliques (29)

#### 4.2.10 Système rénal

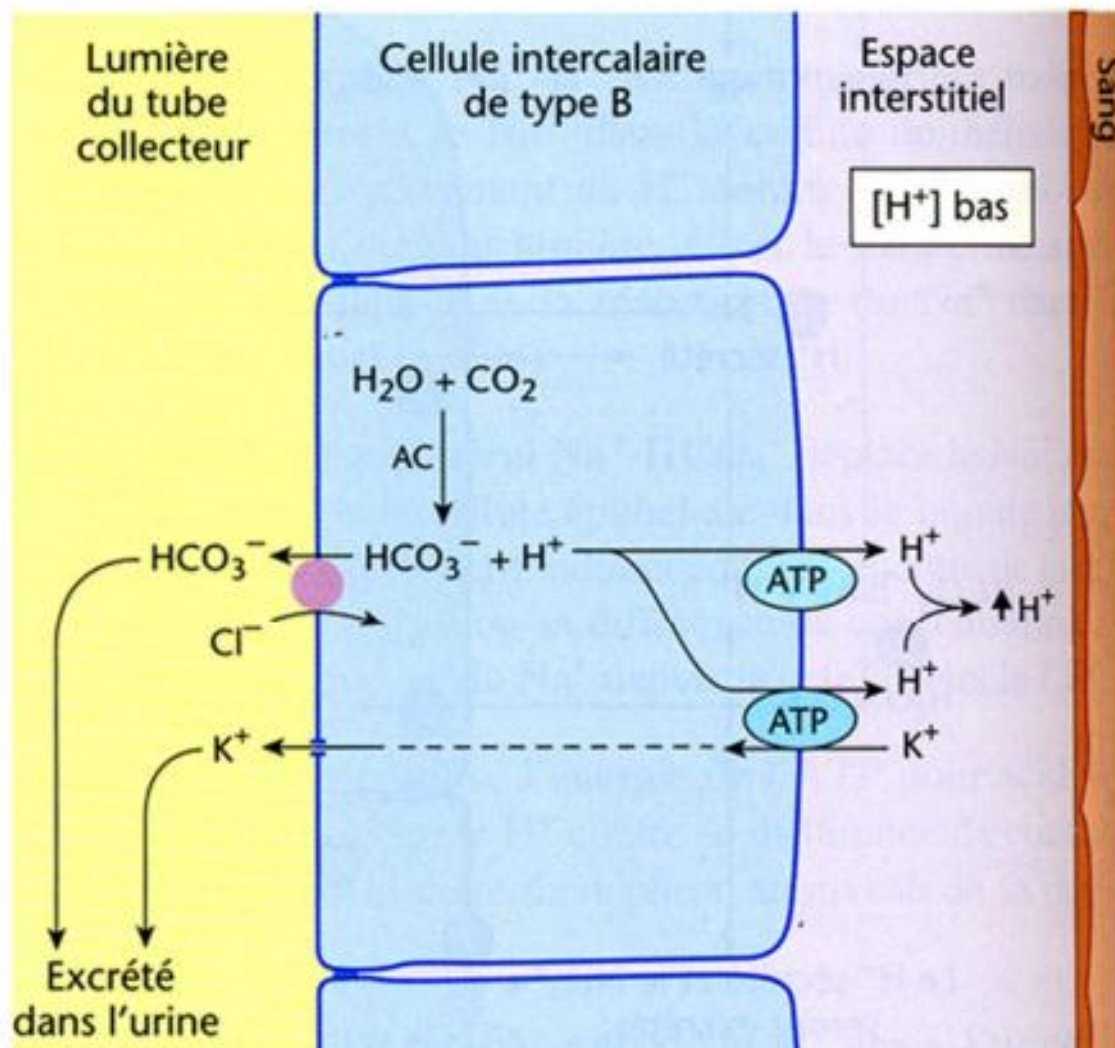
«Les reins prennent en charge les 25% de compensation que les poumons n'ont pas effectués » (29). Ainsi si cela est nécessaire l'adaptation rénale se met en place, avec la réabsorption des bicarbonates au niveau du tube proximal (élimination d'un  $\text{Cl}^-$ ) et l'élimination des ions  $\text{H}^+$  au niveau distal. Le pH urinaire est alors modifié en fonction de l'équilibre acido-basique et la régulation est efficace au bout de quelques jours.

En cas d'acidose métabolique, deux mécanismes entrent en jeu : les ions  $\text{H}^+$  vont être excrétés dans la lumière tubulaire et se combinent avec les ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  et pourront être ensuite excrétés dans l'urine. De plus, les ions  $\text{NH}_4^+$ , formés à partir des acides aminés et des ions  $\text{H}^+$  dans les cellules du néphron, seront eux aussi éliminés dans l'urine. Enfin, les ions  $\text{HCO}_3^-$  sont réabsorbés au niveau capillaire péri tubulaire, ce qui permet également d'augmenter de pH comme cela est représenté sur la figure suivante (diapo acide base) :



**Figure 6 : Modification des échanges ioniques au niveau du rein en cas d'acidose métabolique**

En cas d'alcalose métabolique, les ions  $\text{HCO}_3^-$  sont excrétés et les ions  $\text{H}^+$  sont réabsorbés ce qui tend à diminuer le pH. Dans la partie distale du néphron, il existe des cellules spécialisées dites intercalaires. Ces cellules sont riches en anhydrase carbonique et comportent des  $\text{H}^+$ ATPase échangeant des ions  $\text{H}^+$  contre des ions potassium  $\text{K}^+$ . Les bicarbonates sont mobilisés par des contre transport  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  comme présenté sur la figure suivante (diapo acide base) :



**Figure 7 : Modification des échanges ioniques au niveau du rein en cas d'alcalose métabolique**

La mise en œuvre de ces compensations rénales en cas d'anomalies métaboliques est plus lente et peut prendre près de 48 heures avant d'être perceptible.

### 4.3 La mesure des Gaz du Sang

«L'un des principaux objectifs lors de l'arrivée dans un service de soins intensifs d'un patient dans un état critique est de lui assurer un apport d'oxygène suffisant aux systèmes organiques» (27). L'apport d'oxygène est influencé par de nombreux facteurs, parmi lesquels la circulation spécifique et systémique de l'organe et le bilan d'oxygénation du sang artériel sont les plus importants. Pour une évaluation optimale de l'apport en oxygène, certaines informations sont indispensables : le débit cardiaque, la perfusion de l'organe spécifique, ainsi que le bilan d'oxygénation du sang artériel et du sang veineux. L'estimation de l'adéquation du métabolisme de l'oxydation, en général fournie par mesure de la concentration du lactate du sang est également très importante.

La mesure des gaz du sang permet donc de fournir au clinicien les résultats des bilans d'oxygénation du sang des patients et constitue une aide à la décision médicale. L'interprétation des gaz du sang intègre des données complémentaires qui permettent d'évaluer la ventilation alvéolaire, l'oxygénation et l'équilibre acide-base. Associé aux conditions ambiantes ( $FiO_2$ , pression barométrique), des examens para cliniques (taux d'hémoglobine, radiographie du thorax, exploration fonctionnelle respiratoire...) et les renseignements cliniques, les données des gaz du sang permettent de définir une réponse thérapeutique.

Cette analyse est donc essentielle et vitale pour certains services cliniques. Chaque bilan d'oxygénation du sang sortant du laboratoire de biochimie doit être validé à la fois par les biologistes, mais aussi par la mise en place d'un contrôle de qualité robuste et permanent sur les analyseurs de gaz du sang. L'arrivée de nouveaux appareils : deux ABL 825<sup>®</sup> de Radiometer dans le service de biochimie a engendré la réalisation d'une validation de méthode sur les différents paramètres dosés par l'analyseur avant leur mise en route. Les matériels et méthodes utilisés pour cette validation de méthode sont présentés dans la partie suivante.



## **MATERIEL ET METHODE**

# 1 Méthode de dosage des gaz du sang sur les ABL

Dans cette partie est présenté le matériel utilisé pour réaliser le dosage des gaz du sang. Le fonctionnement des ABL 825® et les principes de mesure des différents paramètres y sont détaillés. De plus, les phases en amont sont décrites telles que les prélèvements sanguins pour la mesure des gaz du sang en service clinique, ainsi que les valeurs de références choisies pour les différents paramètres. En effet, ce sont autant de sources d'erreurs possibles lors de la mesure et du rendu des résultats des gaz du sang.

## 1.1 La phase pré-analytique de l'analyse des gaz du sang

Le prélèvement pour l'analyse des gaz du sang s'inscrit dans la phase pré-analytique. Cette phase ne fait pas l'objet de la validation de méthode. Elle concerne la décision de prélever l'échantillon, le prélèvement lui-même et, le cas échéant, son stockage et son transport. Elle possède la plus grande contribution « aux erreurs de mesure des gaz du sang. Un mauvais matériel de prélèvement et des procédures inadaptées peuvent être la source d'inexactitude dans les résultats » (32). En effet d'après un article de P.Carrano et M.Plebani, 68% des erreurs de mesures sont liées à la phase pré-analytique. (33) Il existe différentes zones du corps où le sang peut être prélevé et aussi différents types de dispositifs répertoriés dans ce tableau :

Tableau 1 : Nature et dispositif du prélèvement

	Prélèvement idéal gaz du sang	Autre	Nouveau-né
Nature du sang	Sang artériel	Sang veineux	Sang capillaire
Site de prélèvement	Artère radiale, brachiale, fémorale	Veine brachiale	Doigt, lobe de l'oreille, gros orteil, talon
Dispositif prélèvement	Seringue héparinée RADIOMETER <i>safePICO</i>	Seringue héparinée RADIOMETER <i>safePICO</i>	Tube capillaire

L'heure du prélèvement est un paramètre important. En effet un échantillon sanguin représente l'état du patient à l'instant t du prélèvement. Cela est particulièrement important lorsque l'on a affaire à des analyses des gaz du sang, du fait que de nombreux paramètres mesurés peuvent varier sensiblement en quelques secondes.

« La seringue de prélèvement doit contenir suffisamment d'héparine pour éviter la coagulation. Dans les seringues ne contenant pas assez d'héparine, des caillots se forment, risquant de bloquer l'analyseur ou de donner des mesures inexactes de la pCO<sub>2</sub>, du pH et de l'hémoglobine » (27).

Lors du prélèvement il est important que le sang n'entre pas en contact avec l'air ambiant et qu'il n'y ait aucun mélange entre le sang veineux et le sang artériel, car cela pourrait fausser les résultats. Il faut donc expulser les bulles d'air en tapotant sur la seringue avant de sceller l'échantillon.

L'infirmière qui prélève le sang du patient doit placer une étiquette d'identification patient sur le corps de la seringue muni d'un code-barre. Elle doit relever d'autres informations essentielles à l'analyse comme l'heure de prélèvement, le site, le type d'échantillon et la température du patient. En effet, la température du patient peut affecter l'interprétation de l'analyse des gaz du sang. De plus, celle-ci peut être introduite dans l'analyseur lors de la mesure de l'échantillon et l'appareil est capable d'afficher les résultats corrigés en fonction de la température

Les échantillons en provenance des services doivent être analysés le plus rapidement possible pour limiter les effets de la poursuite du métabolisme, la diffusion de l'oxygène à travers la seringue en plastique et la perte de potassium des globules rouges (27). Radiometer suggère un délai de 30 minutes maximum entre le prélèvement et la mesure dans l'analyseur. Auparavant, les échantillons étaient maintenus dans de la glace, mais des études ont prouvé que maintenir la température de stockage à température ambiante n'affecte pas les résultats. (34) La température ambiante est donc recommandée par Radiometer (33). Le transport des gaz du sang doit donc être réalisé le plus rapidement possible et à température ambiante.

Un échantillon non homogène peut entraîner des erreurs lors de la mesure de l'échantillon par l'analyseur et sera non représentatif de l'échantillon dans son intégralité. Même si une bille, permettant l'agitation de l'échantillon, a été introduite dans les nouvelles seringues, il est important que l'échantillon soit soigneusement mélangé en l'inversant plusieurs fois et en le faisant rouler horizontalement. Si ce n'est pas le cas, des erreurs importantes risquent de survenir, en particulier sur la mesure de l'hémoglobine totale. Un échantillon ayant été conservé 30 minutes peut s'être déposé complètement, nécessitant alors d'être très bien mélangé.

« Les premières gouttes de sang provenant de l'embout de la seringue sont souvent coagulées et non représentatives de l'échantillon complet. C'est pourquoi il faut toujours faire sortir quelques gouttes de sang, dans un morceau de gaze par exemple, avant de transférer l'échantillon dans l'analyseur » (27).

## 1.2 Présentation ABL 825®

Cette présente thèse porte sur la validation de méthode d'appareils du fournisseur Radiometer : l'ABL 825®. C'est un système de mesure des gaz du sang, de l'oxymétrie, des électrolytes et des métabolites. Cet appareil est capable de réaliser une quinzaine d'analytes. Mais dans le cadre de cette thèse, seuls quatre ont été évalués : la pression partielle en oxygène, la  $pO_2$ , la pression partielle en dioxyde de carbone: la  $pCO_2$ , le pH et la concentration en hémoglobine totale.

Après un appel d'offres réalisé par l'hôpital Croix Rousse, le fournisseur Radiometer a été choisi. Il correspondait au mieux à l'attente de l'hôpital. Voici la liste non exhaustive des avantages et inconvénients d'analyseurs de différents fournisseurs :

**Tableau 2 : Avantages et inconvénients d'analyseurs de différents fournisseurs**

	AVANTAGES	INCONVENIENTS
RADIOMETER <i>Traditionnel</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dissociation des composants</li> <li>• Optimisation de la rentabilité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maintenance plus complexe</li> </ul>
SIEMENS <i>Cartouche</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas (peu) de maintenance</li> <li>• Très simple</li> <li>• Pas de risque de contamination</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coût d'exploitation élevé</li> </ul>
NOVA <i>Intermédiaire</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maîtrise des coûts</li> <li>• Peu de maintenance</li> <li>• Risque de contamination faible</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intermédiaire</li> </ul>
ABBOTT <i>Portable</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Portable</li> <li>• Petit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lent</li> <li>• Coût d'exploitation élevé</li> <li>• Moins précis</li> </ul>

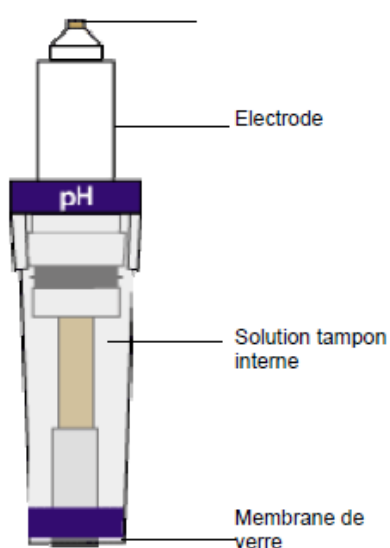
Contrairement aux analyseurs déjà présents dans l'hôpital, un module FLEXQ est présent sur ces nouveaux ABL 825®. Ce module permet le positionnement et le passage automatique de trois seringues au maximum. Il lit le code-barre du prélèvement, mélange l'échantillon et déplace la seringue jusqu'au site d'introduction sans l'intervention de l'opérateur. Ce système permet un rendu plus rapide des résultats et une meilleure gestion des postes de travail. Enfin, les résultats peuvent être à la fois imprimés et envoyés directement au middleware du laboratoire.

## 1.3 Principe des Mesures

### 1.3.1 Mesure potentiométrique du pH

Le principe de mesure potentiométrique est appliqué aux électrodes utilisées pour la mesure du pH et de la  $p\text{CO}_2$ . Cependant, pour la mesure de la  $p\text{CO}_2$ , «le principe est légèrement différent du fait que l'équation de Nernst n'est pas directement appliquée». (34) L'électrode pour la mesure de la  $p\text{CO}_2$  est une électrode à pH mais avec une membrane perméable au  $\text{CO}_2$ .

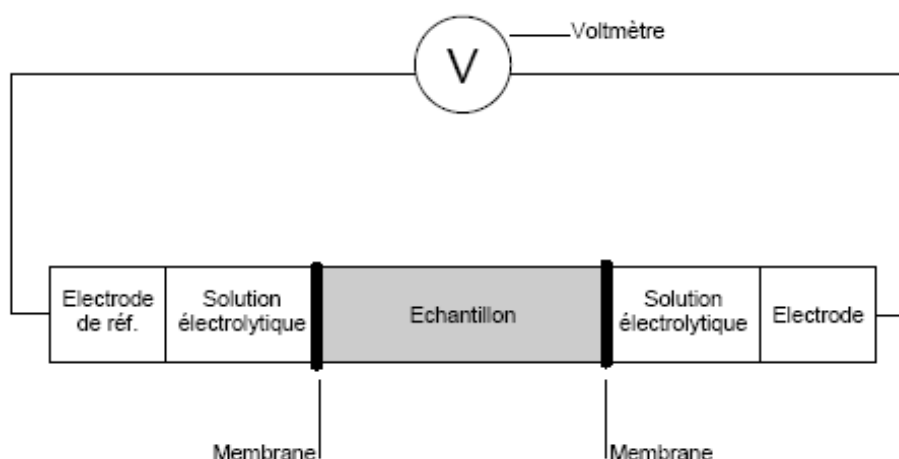
La mesure du pH sur prélèvement de sang est réalisée par potentiométrie et à l'aide d'une électrode à pH E 777. »Cette électrode est formée d'un fil d'argent, revêtu de chlorure d'argent et immergée dans une solution tampon, comme présentée sur le schéma suivant» (34). Cette solution tampon se trouve au pH physiologique à  $37^\circ\text{C}$ .



**Figure 8 : Electrode à pH E777 (34)**

La membrane de verre est sensible aux ions  $\text{H}^+$ . Les ions métalliques du verre sont échangés avec des protons des deux côtés de la membrane : d'un côté avec la solution tampon interne et de l'autre avec l'échantillon à analyser. Si une différence entre les échanges d'ions, correspondant au potentiel, de chaque côté de la membrane est observée, alors cela signifie que la concentration en  $\text{H}^+$ , soit le pH, n'est pas la même des deux côtés.

Les échanges d'ions de part et d'autre de la membrane sont mesurés à l'aide d'un voltmètre. Cet appareil est capable de mesurer des différences de potentiel pour des chaînes d'électrode semblable à celle représentée sur la figure 8. Ainsi, la différence entre le potentiel standard ou référence de la chaîne d'électrode à pH nominal 7,4, et le potentiel de la chaîne avec l'échantillon sont comparés. Cette comparaison permet à l'aide de l'équation de Nernst de déterminer la concentration en ions  $\text{H}^+$  dans l'échantillon et ainsi le pH.



**Figure 9 : représentation schématique d'une chaîne d'électrodes (34)**

$$E_{total} = E_{échant} - E_{Ref}$$

«Où le potentiel final :  $E_{échant}$  inconnu peut être calculé en connaissant le potentiel total de la chaîne  $E_{total}$  et le potentiel de référence  $E_{Ref}$ , sachant que ce dernier est constant entre deux calibrations successives. Une fois le potentiel inconnu  $E_{échant}$  mesuré, l'équation de Nernst est appliquée pour déterminer l'activité de la substance étudiée» (34). Pour terminer, l'analyseur convertit automatiquement l'activité en concentration d'ions  $H^+$ .

$$E_{échant} = E_o \left( \frac{2,3RT}{nF} \right) * \log (\alpha_x)$$

$$\alpha_x = \gamma c_x$$

$E_o$  est le potentiel standard de la chaîne d'électrode

R la constante des gaz parfaits

T la température absolue

N la charge de l'ion

F la constante de Faraday

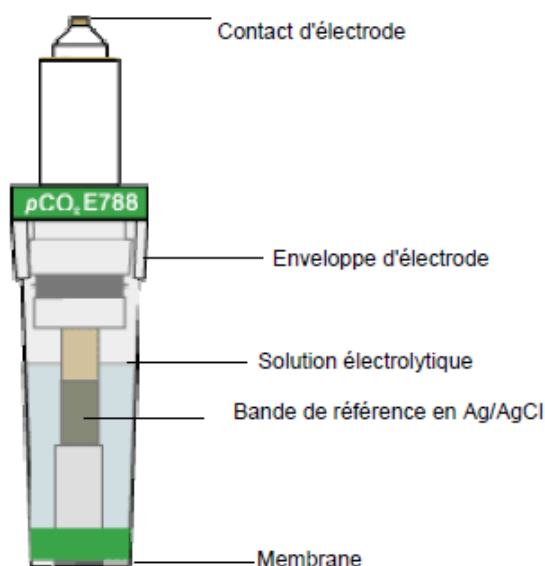
$\alpha$  l'activité de la substance

$\gamma$  le coefficient d'activité de la substance

c la concentration des ions  $H^+$  en mol/L

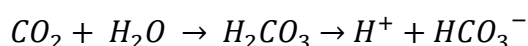
### 1.3.2 Mesure potentiométrique de la pCO<sub>2</sub>

L'électrode à pCO<sub>2</sub> E788 combine une électrode à pH et une électrode de référence Ag/AgCl montée dans une enveloppe en plastique, remplie de solution électrolytique de bicarbonate.



La membrane de silicone n'est perméable qu'aux petites molécules neutres, comme les CO<sub>2</sub>, l'O<sub>2</sub> et l'azote : N<sub>2</sub>. Les ions chargés comme le H<sup>+</sup> ne pourront pas la traverser. Ainsi, le CO<sub>2</sub> dissout dans l'échantillon se diffuse dans la fine couche de bicarbonate jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. De l'acide carbonique est alors libéré qui se dissocie ensuite et libère des ions H<sup>+</sup> selon la réaction suivante :

Figure 10 : Electrode à pCO<sub>2</sub> (34)



La libération d'ions H<sup>+</sup> modifie la concentration en H<sup>+</sup>, et donc, le pH de la solution de l'un des côtés de la membrane de verre sensible au pH. Le gradient de la concentration des ions H<sup>+</sup> de l'autre côté de la membrane affecte la différence de potentiel à travers la membrane de verre. «Ce changement de potentiel à travers la membrane de verre est mesuré par le voltmètre» (34).

Le calcul de la pCO<sub>2</sub> est donc effectué à partir du principe de Severinghaus : mesure potentiométrique d'une variation de pH dans l'électrode provoquée par le CO<sub>2</sub>. Ce dernier apporté par l'échantillon va diffuser dans l'électrode où la réaction a lieu, entraînant une baisse du pH proportionnel à la quantité de CO<sub>2</sub> présent. La valeur du pH est mise en relation avec la pression partielle en CO<sub>2</sub> de l'échantillon par l'équation de Nernst :

$$pH = pKa + \frac{\log[HCO_3^-]}{pCO_2 * \alpha_{CO_2}}$$

$pKa = -\log Ka$ , la constante d'équilibre de dissociation de l'acide carbonique dans l'eau

$$Ka = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{CO_2}$$

$CO_2$  le coefficient de solubilité du  $CO_2$  dans l'eau

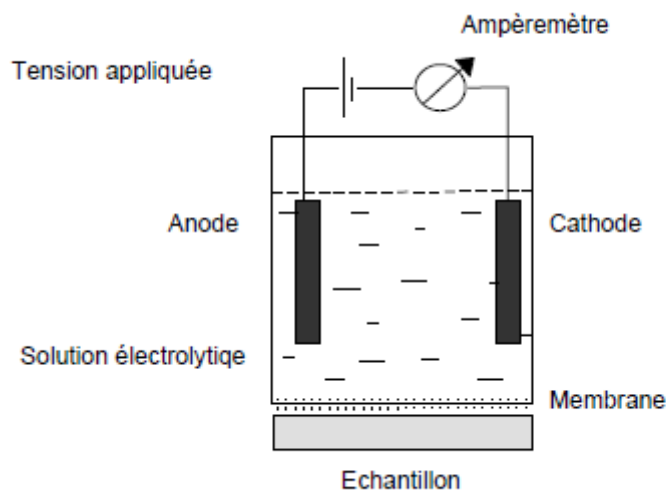
La concentration de bicarbonate est tellement grande par rapport à qu'on peut la considérer comme constante. À des températures constantes, est donc aussi constant. L'équation peut donc être simplifiée ainsi (34):

$$pH = K' - \log pCO_2$$

$K'$  est une constante intégrant la constante d'équilibre de l'acide carbonique ( $Ka$ ), la concentration de bicarbonate et le coefficient de solubilité. La  $pCO_2$  est donc calculée par l'analyseur à l'aide des équations précédentes.

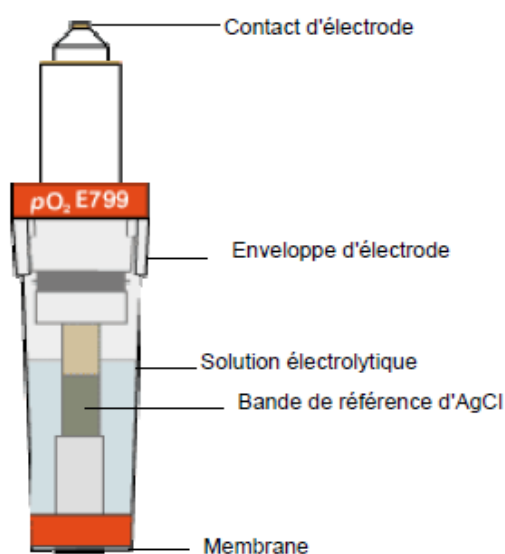
### 1.3.3 Mesure par ampérométrie de la $PO_2$

«Dans les mesures ampérométriques, la chaîne d'électrodes décrit le circuit électrique comprenant l'échantillon, les deux électrodes, un ampèremètre, une source de tension, les membranes et les solutions électrolytiques» (34).



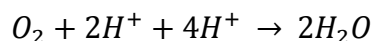
**Figure 11 : Représentation schématique du circuit électrique pour la méthode ampérométrique (34)**

La mesure de la  $pO_2$  est réalisée par une méthode d'ampérométrie par réduction d' $O_2$ . Une électrode ampérométrique composées d'une anode d'argent, une cathode de platine et une bande de référence Ag/AgCl. Le tout est protégé par une enveloppe d'électrode, laquelle est remplie d'une solution électrolytique. Au bas de l'électrode est placée une membrane perméable à l'oxygène. Cette électrode mesure le courant produit par oxydoréduction au contact d'une électrode de platine.



**Figure 12: Electrode à  $pCO_2$  (Radiometer, Manuel de référence de l'ABL 800 FLEX, 2011)**

L'oxygène contenu dans l'échantillon diffuse à travers la membrane dans l'électrolyte et est réduit à la cathode selon l'équation suivante :



Les ions  $H^+$  proviennent de la solution électrolytique. La réduction de l'oxygène produit un courant d'ions et donc un courant électrique qui peut être mesuré par un ampèremètre et qui est proportionnel à la quantité d'oxygène d'après l'équation suivante :

$$I = \text{Sens}(pO_2) \times pO_2 + I_o$$

$\text{Sens}(pO_2)$  sensibilité de l'électrode à  $pO_2$

$pO_2$  pression partielle en  $O_2$  de l'échantillon

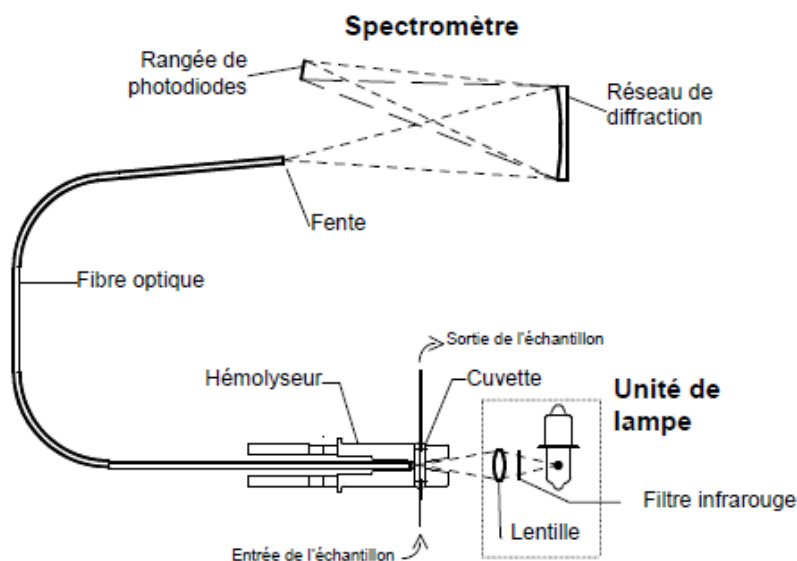
$I_0$  courant zéro - le courant traversant le circuit lorsque

$pO_2 = 0$  kPa/mmHg

«Pour compléter le circuit électrique, une réaction d'oxydation, entraînant la libération d'électrons, est nécessaire. Cette réaction, qui se produit à l'anode d'argent, est la conversion d'Ag en  $Ag^+$  :  $Ag \rightarrow Ag^+ + e^-$ . » (35). Pour maintenir un équilibre des charges entre l'anode et la cathode, quatre atomes d'Ag doivent être oxydés pour qu'une molécule d' $O_2$  soit réduite.

### 1.3.4 Système optique pour la mesure de l'hémoglobine totale, ctHb

«Le système optique permettant de mesurer la concentration d'hémoglobine totale est basé sur un spectromètre à 128 longueurs d'onde» (34), dont la gamme de mesure est comprise entre 478 et 672 nm. Ce système utilise la méthode de spectroscopie d'absorption du spectre visible.



**Figure 13 : Schématisation du système optique pour la mesure de la ctHb (34)**

L'échantillon sanguin est transporté dans la cuvette, située dans «l'unité hémolyseur. 1  $\mu$ L de cet échantillon est hémolysé par des vibrations ultrasoniques à une fréquence d'environ 30 Hz» (34). Cela va permettre l'éclatement des parois des globules rouges afin que leur contenu en hémoglobine se retrouve dans le plasma sanguin donnant une solution optiquement claire. «Un faisceau lumineux, généré par une lampe halogène de 4 W, est envoyé vers la cuvette via un filtre infrarouge et une lentille biconvexe» (34)..

Cette fraction de lumière traversant la cuvette est ensuite transportée par fibre optique vers le spectromètre. La lumière passe par une fente qui la dirige vers un miroir combiné à un réseau de diffraction. «Ce dernier diffracte la lumière en 128 longueurs d'onde distinctes et chacune d'entre elles est captée par une photodiode qui convertit le signal lumineux en courant» (34).

L'amplitude de ces courants constitue le spectre d'absorption d'un échantillon donné. Enfin, le spectre est envoyé à l'ordinateur de l'analyseur où les valeurs des paramètres de l'oxymétrie sont déterminées. La spectroscopie d'absorption est fondée sur la loi de Lambert-Beer, établissant que l'absorbance mesurée pour un composé donné est directement proportionnelle à la concentration du composé et à la longueur du trajet lumineux à travers l'échantillon.

## 1.4 Valeurs de référence

Lors de la réunion qualité du 3 juin 2013 portant sur les gaz du sang, les sites de biochimie du GHE: Groupe Hospitalier Est composé par L'hôpital Nord de la croix rouge, l'hôpital sud et l'hôpital Edouard-Herriot ont décidé d'harmoniser les valeurs de référence rendues par les analyseurs ABL 825. Elles sont issues des publications TIETZ, SOLDIN pour les capillaires, OLESEN pour l'hémoglobine et sont regroupées dans le tableau ci-joint. Dans le cadre de cette validation de méthode, les valeurs de référence constituent une aide pour la recherche et le choix des niveaux des échantillons qui sont passés sur les analyseurs des gaz du sang lors de la répétabilité et la reproductibilité

**Tableau 3 : Valeurs de référence pour les paramètres mesurés par l'ABL 825 : pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, pH et ctHb**

Mesurande	unité	sang artériel		sang veineux	capillaire		A ombilical		V ombilical		S/O		Références
pH T Nx-né					Prématuré , Nouveau-né	7,23- 7,43 (1)	S/ O	7,18- 7,38	S/ O	7,25- 7,45	Prématuré, 48 heures	7,35 - 7,50	Tielz
											Naissance	7,11 - 7,36	(1) Soldin
											1 heure	7,26 - 7,49	

Mesurande	unité	sang artériel		sang veineux		capillaire		A ombilical		V ombilical		S/O		Références
												1jour	7,29 - 7,45	
pH T Nourrisson End Ad M		Enfants , Adultes	7,35- 7,45	En fa nt s, A du lte s	7, 32 - 7, 43			S/ O	7,18- 7,38	S/ O	7,25- 7,45			Tietz
		60- 90ans	7,31- 7,42											
		> 90 ans	7,26- 7,43											
pH T Nourrisson End Ad F		Enfants , Adultes	7,35- 7,45	En fa nt s, A du lte s	7, 32 - 7, 43			S/ O	7,18- 7,38	S/ O	7,25- 7,45			Tietz
		60- 90ans	7,31- 7,42											
		> 90 ans	7,26- 7,43											
pO2 T Nouveau-né < 24h	kPa	Naissan ce	1,1- 3,2			Prématuré, Nouveau-né	4,1- 7,6 (1)	S/ O	0,8- 0,4	S/ O	2,3- 5,5			Tielz
		1 heure	7,3- 10,6											(1) Soldin
pO2 T Nouveau-né > 24h	kPa	1 jour	7,2- 12,6					S/ O	0,8- 0,4	S/ O	2,3- 5,5			Tietz
pO2 T Enfant	kPa	2 jours- 60ans	11,0- 14,4					S/ O	0,8- 0,4	S/ O	2,3- 5,5			Tietz
pO2 T Adulte > 40 ans	kPa	2 jours- 60ans	11,0- 14,4					S/ O	7,18- 7,38	S/ O	7,25- 7,45			Tietz
		> 60ans	> 10,6											
		> 70ans	> 9,3											
		> 80ans	> 8,0											
		> 90 ans	> 6,7											

Mesurande	unité	sang artériel		sang veineux	capillaire		A ombilical	V ombilical	S/O		Références
pCO2 T Nouveau-né	kPa	Nouvea u-né	3,6- 5,3 (1)		Prématuré , nouveau- né	5,2- 9,1 (1)			Nouveau- né	3, 6- 5, 3	Tielz
		Nouriss on	3,6- 5,5 (1)						Nourisson	3, 6- 5, 5	
pCO2 T Enfant Adulte Masculin	kPa	Par la suite	4,3- 6,4 (1)						Homme	4, 7- 6, 4	Tietz  (1) Soldin
pCO2 T Enfant Adulte Feminin	kPa	Par la suite	4,3- 6,4 (1)							Femme	4, 3- 6, 0

## 2 Méthodologie pour la procédure de vérification / validation des méthodes quantitatives

### 2.1 L'erreur de mesure

Toute méthode de dosage et mesure d'un analyte donne un résultat, mais celui-ci est inévitablement associé à une erreur de mesure. Cette erreur est définie comme la différence entre le résultat obtenu et la valeur vraie du mesurande. «Il existe deux types d'erreur : l'erreur systématique et l'erreur aléatoire» comme représentées sur la figure 13 (36). L'erreur systématique se traduit en pratique par un biais par rapport à la valeur vraie, l'erreur aléatoire est l'ensemble des erreurs qui accompagnent l'application de la méthode. Les outils de validation de méthode et de contrôle qualité permettent d'évaluer les erreurs systématiques et les erreurs aléatoires, et de surveiller leurs évolutions dans le temps.

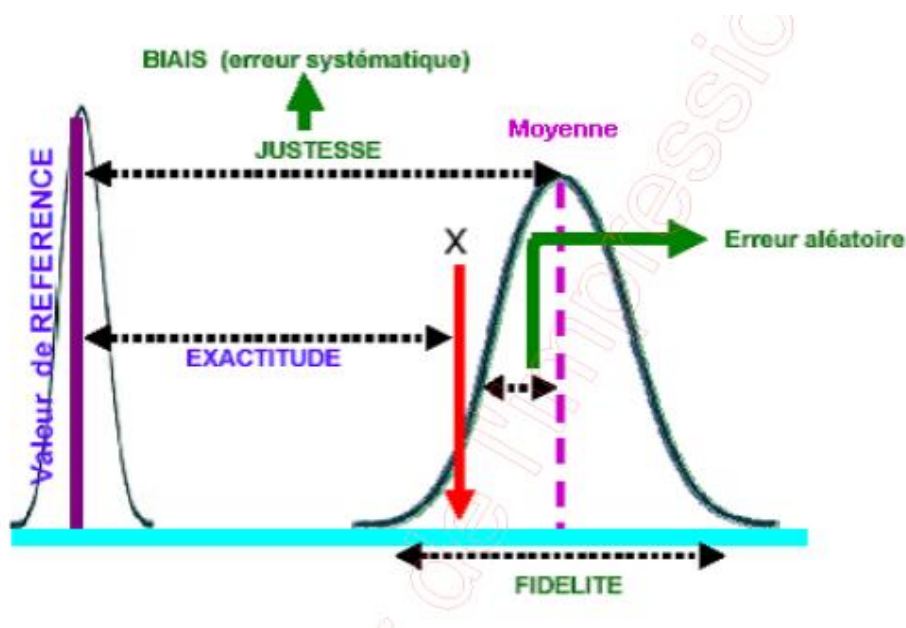


Figure 14 : Représentation des différentes erreurs lors de mesure en laboratoire (36)

### 2.2 La validation/vérification de méthode

« La validation de méthode consiste en la vérification des performances annoncées par le fabricant et celles souhaitées par le laboratoire » (20). Plusieurs étapes sont donc nécessaires pour la réalisation de ces dossiers. Dans un premier temps, une étude bibliographique est menée afin de connaître les performances annoncées par le

fournisseur. Il s'en suit la détermination de critères de performances pertinents et le choix des limites d'acceptabilité par les biologistes du LBMMS. Enfin, la réalisation des vérifications expérimentales selon la procédure choisie par le laboratoire est indispensable, tout comme l'exercice imposé de rédaction du SH FORM 43 à l'aide des résultats obtenus.

La vérification de méthode des deux ABL 825<sup>®</sup> avant leur mise en service au laboratoire de biochimie suit une méthodologie très stricte. Après l'étude bibliographique rapportée dans les parties précédentes, les critères de performance dépendant du type de méthode et de sa portée A ou B, ont été choisis. Ces critères sont des outils de validation permettant d'évaluer la qualité de la méthode, ainsi que l'impact des erreurs de mesure. Dans le cadre de cette thèse, la méthode est quantitative et de portée A. Les différents critères à vérifier et/ou à connaître pour confirmer les performances des deux analyseurs sont présentés dans cette partie et regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 4: paramètres à vérifier et/ou connaître (19)**

CRITERES A EVALUER	Vérification (portée A)		Validation (portée B)	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
<i>Fidélité</i> (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai	Essai	Essai
<i>Justesse/exactitude</i> (approche)	Essai	Essai	Essai	Essai
<i>Incertitudes/facteurs de variabilité</i> et évaluation	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité
<i>Comparaison</i> avec méthode déjà utilisée au laboratoire ou autre méthode du laboratoire (appareil en miroir <sup>9</sup> , EBMD) et analyse des discordances <sup>10</sup>	Essai	Essai	Essai	Essai
Intervalle de mesure ( <i>Limite de quantification et limites de linéarité</i> )	Bibliographie	/	Essai	/
<i>Interférences</i> (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments, ...)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<i>Contamination</i> entre échantillons (s'il y a lieu)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<i>Robustesse</i>	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<i>Stabilité réactifs</i> (après ouverture, embarqués)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
<i>Intervalle de référence</i> (valeurs usuelles)	Bibliographie (fournisseur ou autre, s'assurer de la cohérence avec l'état de l'art)	Bibliographie	Essai	Essai
<i>Limite de détection</i>	/	Bibliographie	/	Essai
<i>Spécificité/sensibilité analytique</i>	/	Bibliographie	/	Essai
<b>Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude<sup>11</sup> de la méthode ou du système analytique.</b>				

## 2.3 Critères de performance et méthode de calcul utilisé pour la procédure de vérification / validation des méthodes quantitatives

### 2.3.1 Répétabilité

La répétabilité consiste en l'analyse d'échantillons supposés identiques. Les échantillons utilisés sont donc ceux utilisés pour le contrôle interne de qualité (CIQ). Les essais doivent être réalisés par le même opérateur, avec le même lot de réactifs, sur le même instrument, avec le même étalonnage et dans un délai le plus court possible. Cette évaluation est indispensable, car ces échantillons mesurés répétitivement sur le même analyseur ne donnent pas nécessairement des résultats identiques. Le degré de variabilité de l'analyseur nous permet donc d'estimer la répétabilité. En outre, elle doit être effectuée lors de l'installation d'un nouvel analyseur afin de connaître ses performances initiales.

«L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système pour le paramètre concerné.» (37). Le nombre d'essais idéal à réaliser est de 30 afin d'obtenir une interprétation statistique optimale. De plus, il est préférable d'utiliser au minimum deux niveaux de concentration avec si possible un niveau proche de la zone décisionnelle. Le rendu des résultats consiste à calculer la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation des valeurs expérimentales de chaque série. Lors de la vérification, c'est «le coefficient de variation exprimé en % qui est comparé au CV limite admissible, préalablement choisi et, si cela est possible, au CV fournisseur. Le CV est calculé par la formule suivante avec s l'écart type et m la moyenne des 30 échantillons» (19).

$$CV(\%) = \frac{s}{m} * 100$$

### 2.3.2 Reproductibilité

La fidélité intermédiaire plus couramment appelée essai de reproductibilité consiste en l'analyse d'un même échantillon dans des conditions changeantes, en faisant varier au moins un des facteurs suivants : opérateur ou appareil. «Elle est évaluée à l'aide des coefficients de variation calculés à partir des résultats des échantillons des contrôles internes de qualité quotidiens et par une comparaison avec les CV limites admissibles» (38). Les modalités de calculs restent les mêmes que pour la répétabilité. (Moyenne, écart-type, CV)

Le nombre d'essais idéal à réaliser est de 30 afin d'obtenir une interprétation statistique optimale comme pour l'étude de la répétabilité. La reproductibilité intra-laboratoire et la répétabilité « apparaissent donc comme deux évaluations de la fidélité au sein du laboratoire » (19).

### 2.3.3 Evaluation de la justesse et de l'exactitude

« La justesse correspond à l'étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence. « Une étude de justesse nécessite la comparaison de la moyenne de plusieurs dosages d'un même échantillon à une valeur cible. L'écart observé correspond au biais » (19). Ce dernier peut être estimé de façon pertinente par l'externalisation des CIQ, c'est à dire la réalisation de CIQ par plusieurs laboratoires sur un même lot d'échantillons de contrôles confrontés entre eux par l'établissement périodique des moyennes.

« La justesse est estimée en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de fidélité intermédiaire, établie sur des échantillons de CIQ, à la valeur cible attendue, assimilée à la valeur « vraie » (v) de l'échantillon testé. Cette valeur est fournie par l'organisateur de CIQ externalisé. La justesse est exprimée par le biais en valeur absolue ou en pourcentage de la valeur cible » (37), selon le calcul suivant:

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

v valeur cible

m valeur moyenne trouvée sur des échantillons de CIQ

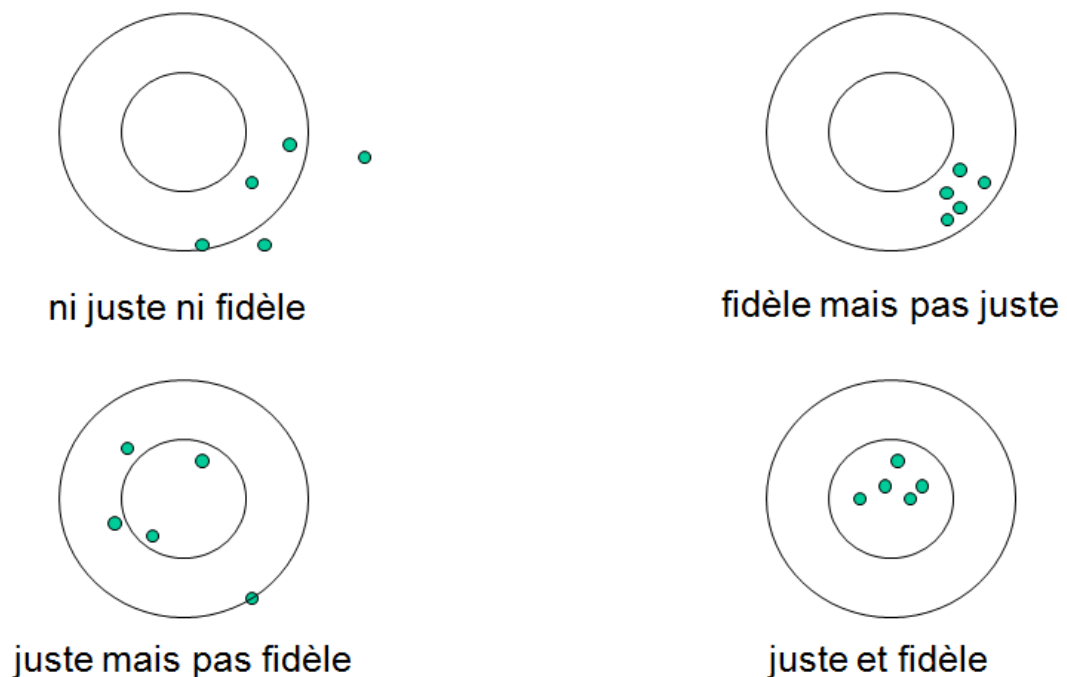
« En absence d'externalisation des CIQ, le laboratoire établit l'inexactitude de sa méthode en comparant les valeurs obtenues sur des échantillons d'EEQ aux valeurs cibles. La valeur cible retenue est la moyenne de l'ensemble des participants si les seuils de décision pour le paramètre concerné sont standardisés (HAS, consensus, etc.), sinon la valeur cible retenue est la moyenne des résultats obtenus avec la même méthode (groupe de pairs). L'évaluation de l'inexactitude est d'autant plus pertinente que le nombre d'échantillons d'EEQ est élevé » (19).

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

x : valeur trouvée pour l'EEQ

v : valeur cible

Afin de bien différencier la fidélité intermédiaire et la justesse voici une représentation schématique des deux paramètres sous forme de cycle à atteindre:



**Figure 15 : Représentation schématique de la justesse et de la fidélité**

### 2.3.4 Incertitudes de mesure

L'incertitude de mesure est une grandeur exprimée en valeur absolue qui : «caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande. La connaissance de l'incertitude constitue une aide pour le clinicien dans sa prise de décision diagnostique ou thérapeutique; elle 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» (39). L'évaluation de l'incertitude de mesure est une démarche qui repose sur un besoin de mieux connaître la qualité du résultat et ainsi donner confiance dans son utilisation.

Différentes approches existent pour déterminer l'incertitude de mesure :

- Méthode « GUM »: «elle repose sur l'hypothèse de la connaissance du modèle de mesure physicochimique décrivant le processus de mesure. Cette approche nécessite d'avoir au préalable identifié les composantes d'incertitude, de les avoir modélisées et quantifiées. Le calcul résulte de méthodes statistiques prenant en compte toutes les composantes. Celles-ci ne sont que très rarement toutes disponibles en biologie médicale» (39).
- Méthode «Intra-laboratoire (CIQ + Matériaux de Référence)» par l'évaluation de la fidélité intermédiaire et la justesse.
- Méthode «CIQ / EEQ » : »Cette méthode d'évaluation de l'incertitude repose sur l'exploitation des données internes (CIQ) et des données externes telles que les EEQ ou les CIQ externalisés» (20).
- Méthode «CIQ + Etalon fournisseur»: «Cette méthode propose, après définition correcte du mesurande, d'évaluer l'incertitude de mesure à partir de ces composantes, soit l'incertitude liée à la méthode, telle qu'utilisée au laboratoire et représentée par une estimation de la fidélité intermédiaire établie à partir des données de CIQ recueillies sur une période suffisamment longue permettant de représenter la variabilité du processus analytique. Ainsi que l'incertitude liée aux indications fournies avec l'étalon du système analytique» (39).
- «Long-term evaluation» de l'incertitude de mesure : Cette méthode récemment publiée et validée par un groupe de biologistes des HCL propose une estimation de l'incertitude de mesure pour 43 analytes. Cette approche est basée sur la régression linéaire et a utilisée les données provenant des programmes Probioqual d'évaluations externes de la qualité de 50 laboratoires durant une longue période de 25 mois.

### 2.3.5 Intervalle de mesure

D'après le COFRAC : «L'intervalle de mesure est l'ensemble des valeurs de grandeurs d'une même nature qu'un instrument de mesure ou un système de mesure donné peut mesurer avec une certitude instrumentale spécifiée, dans des conditions déterminées. Il est aussi possible de parler de gamme de mesure» (19).

Dans cette présente thèse, le choix de la gamme de mesure s'est porté sur celle fournie par Radiometer. Celle-ci correspond à la gamme à l'intérieur de laquelle un analyseur est physiquement capable de mesurer.

### 2.3.6 Contamination

«Différents phénomènes de contamination peuvent être observés lors de la phase analytique : la contamination inter échantillons ou inter réactifs. L'étude de contamination inter échantillon est à mener pour tous les systèmes automatisés» (19). Tandis que le phénomène de contamination inter réactif ne peut se produire sur un analyseur qu'en présence d'un système de distribution commun à tous les réactifs.

Dans le cas de l'automate ABL 825. L'étude de la contamination consistera à vérifier l'influence d'échantillons fortement et faiblement concentrés. Pour cela il est choisi de suivre l'évolution de l'hémoglobine. C'est le paramètre le plus stable, car la lyse des globules rouges lors de leur passage dans l'automate n'a pas de répercussion sur le dosage de ce paramètre.

### 2.3.7 Interférences

Les interférences sont fournies par le fournisseur des ABL 800 Radiometer. En cas de portée A, ces interférences sont seulement à confirmer par la bibliographie.

### 2.3.8 Intervalle de référence

« Les valeurs de référence (ou intervalle de référence) sont vérifiées le cas échéant et si possible, par la bibliographie et/ou par le calcul statistique. Si la distribution de la population est gaussienne, le calcul peut se faire de la manière suivante » (23): dans un premier temps rassembler un nombre de valeurs significatif soit supérieur à 100 en exemptant les valeurs pathologiques et aberrantes. La moyenne «m» est obtenue, à partir

de là écarter les valeurs  $> m + 2s$  et  $< m - 2s$ . «Enfin recalculer la moyenne (moyenne tronquée)  $m_t$  et l'écart-type (écart-type tronqué)  $s_t$  à partir des valeurs ainsi retenues. Les valeurs de référence seront données par l'intervalle  $[ m_t - 2s_t ; m_t + 2s_t ]$ » (19) (voir tableau 3).

### 2.3.9 Comparaison de méthode

La comparaison de méthode ne peut avoir lieu qu'après la vérification des critères précédemment présentés : la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la justesse et l'intervalle de mesure. Pour comparer une méthode Y avec celle de référence au laboratoire X, il est recommandé d'analyser au moins 30 échantillons de patients. Ces derniers doivent être choisis de façon à couvrir une large zone du domaine physiopathologique.

Les échantillons sont d'abord analysés par les deux techniques dans le délai le plus court possible. Puis ils sont analysés par des méthodes d'exploitation telles qu'Excel ou VALTEC et il est vérifié que l'écart des résultats obtenus entre les deux méthodes ne sont pas jugé supérieurs aux limites de suivi. La limite de suivi est calculée de la façon suivante :

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

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

Il faut tout de même préciser que les échantillons analysés sont séparés en différents groupes suivant la zone physiopathologique à laquelle ils appartiennent et pour chacune de ces zones une limite de suivi est déterminée. Cela est possible, car lors de la détermination de la fidélité intermédiaire plusieurs lots de contrôles ont été passés avec des concentrations différentes représentant les différentes zones physiopathologiques.

Trois types de graphiques peuvent alors être tracés afin d'analyser les résultats de la comparaison de méthode :

- Le graphique des différences  $(x_i - y_i)$  en fonction de  $x_i$  et encadrer ces résultats par les limites de suivis

- Le graphique des rapports  $y_i/x_i$  en fonction de  $x_i$  que l'on compare avec la droite horizontale représentant un rapport de 1 soit un écart nul entre  $y_i$  et  $x_i$ . ( $y_i/x_i=1$  alors  $y_i=x_i$ )
- Le graphique de corrélation entre les deux méthodes  $y_i$  en fonction de  $x_i$  avec lequel la droite de régression.

Le graphique des différences et celui des rapports permettent d'obtenir le pourcentage de couple  $(y_i, x_i)$  qui se situe hors des limites de suivi imposées au préalable. Tandis que le graphique de corrélation permet de déterminer la pente et l'ordonnée à l'origine qui expriment la similitude des méthodes comparées. «La similitude optimale est atteinte pour une pente égale à 1 et une ordonnée à l'origine égale à 0» (19).

Dans la cadre de cette thèse, les nouveaux analyseurs en miroir ont été comparés entre eux et nous avons comparé l'un d'entre eux à l'ancien analyseur CX NOVA. En cas de discordance observée lors de cette comparaison de méthode, «le biologiste devra mettre en place des conduites à tenir telles que l'adaptation des valeurs de références, l'information des cliniciens prescripteurs, l'utilisation transitoire et documentée d'un facteur de correction ou le rejet complet de la méthode» (19).

## 2.4 Choix des limites d'acceptabilité

Selon le guide SH GTA 04 et le SH GTA 06 : le choix des «limites d'acceptabilité pour une méthode donnée doit se faire préalablement à l'étude expérimentale. Il doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. Il peut s'appuyer sur des recommandations de sociétés savantes, de groupes de travail, des publications scientifiques, des résultats de comparaisons inter-laboratoires, les valeurs limites utilisées pour les contrôles internes de la qualité : CIQ et sera confronté aux données fournisseurs» (19; 37).

Différentes Limites d'acceptabilité, issues de différentes méthodes peuvent être choisies:

- Les variations biologiques, fournies par un groupe de travail, peuvent être choisies. Ce groupe propose des normes de qualité pour l'évaluation des réactifs et des systèmes d'analyse de laboratoire (41). Ces objectifs analytiques ont été établis à partir de variations biologiques du paramètre étudié. Ces variations peuvent être intra-individuelles ou interindividuelles.

Ricos propose trois niveaux de performance : souhaitable, optimal et minimal et chaque limite est calculée à partir des deux types de variations (36).

- Les données correspondantes à «l'état de l'art» et utilisables dans le cadre des validations de méthode. Elles proviennent d'un article écrit par un groupe de travail de la SFBC et paru dans les annales de la biologie clinique en 1999. Cet article renferme «la définition de critères destinés à valider une technique de dosage dans le domaine de la biologie clinique.»(41). La SFBC a produit depuis de nombreuses recommandations (et références) reconnues et utilisées dans l'exercice de la biologie au quotidien (16). La commission de validation de techniques de la SFBC avait proposé en 1986 un protocole de validation accompagné de normes d'acceptabilité établies pour une vingtaine d'analytes. Ce protocole a été largement utilisé. Il est apparu très vite que le nombre d'analytes décrits dans ce document était insuffisant. C'est pourquoi les initiateurs du premier projet ont souhaité rassembler un groupe de travail, sous l'égide de la SFBC, pour réactualiser et proposer des critères de validation dans un domaine plus étendu. Ces objectifs analytiques ont été établis à partir de l'état de l'art de la méthode et des performances obtenues dans les laboratoires. Ces limites correspondant à l'état de l'art peuvent également être obtenues à partir de programmes de comparaisons interlaboratoires de données de contrôle interne de qualité.
- Les OCIL : Organismes de Comparaison Inter laboratoires tel que Probioqual «évaluent l'aptitude des laboratoires dans les domaines des essais et des étalonnages» (42). Ils permettent de connaître l'évolution de l'état de l'art au travers de EEQ qu'ils organisent et d'obtenir des critères d'acceptation à partir des performances atteintes par des laboratoires.

## 3 Réalisation du dossier de vérification de méthode pour les gaz du sang

### 3.1 Description de la méthode et la mise en œuvre

La première partie du dossier de validation est constituée de la description de la méthode analysée. Celle-ci doit être courte et concise. Le nom du paramètre, mesuré par l'analyseur sur lequel est effectuée la validation, doit apparaître ainsi qu'une brève description du principe de sa mesure. Ensuite, il est spécifié le type d'échantillon et de récipient dans lequel est dosé l'analyte, ainsi que le prétraitement qu'il doit subir avant d'être analysé.

Dans un souci d'homogénéisation l'unité dans lequel sont rendu le résultat et l'intervalle de référence doivent être indiqués et être en harmonie avec les autres laboratoires utilisant la méthode. Par la suite la présence ou non d'un marquage CE (certification européenne) doit être indiqué et si oui la déclaration de conformité doit être joint au document. Elle déclare que le produit décrit répond à la directive 98/07/EC du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998 sur les dispositifs médicaux in vitro. Enfin, le codage C.N.Q (contrôle national de qualité) doit être indiqué s'il existe.

«Le contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale tend à assurer la fiabilité et le perfectionnement d'analyses de biologie médicale dans l'intérêt général de la santé publique. Pour ce faire, il détermine la valeur des résultats des analyses exécutées par chacun des laboratoires qui y sont soumis, compte tenu des techniques, des réactifs et du matériel employés et les compare avec les résultats obtenus par l'ensemble des laboratoires habilités à exécuter ces mêmes catégories d'analyses. La publication de ces résultats permet également à chaque laboratoire de vérifier la valeur de ses techniques et son bon fonctionnement» (4). Un codage est donc mis en place par l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) correspondant à la technique et à l'appareil utiliser par le laboratoire pour harmoniser les données rendues de ce contrôle.

L'appareil, soit son nom de marque et son modèle, doit ensuite être spécifié, ainsi que les références des réactifs utilisés. Puis la solution étalon correspondant au matériau d'étalonnage et le certificat de traçabilité doivent être spécifiés, ainsi que le type d'étalonnage et le nombre de niveaux. Enfin la partie correspondant à la mise en œuvre de la méthode comporte les opérateurs habilités ayant réalisés la vérification de méthode, la

procédure de validation et de gestion de la portée flexible, la période d'évaluation, la date de mise en service et le biologiste autorisant sa mise en place.

## 3.2 Maîtrise des risques

### 3.2.1 Généralités

L'analyse de risques consiste en l'évaluation précise et exhaustive des risques que représente une installation ou un équipement industriel pour la sécurité des personnes et des résultats rendus par le laboratoire. Cela consiste en une recherche systématique des points critiques à maîtriser, soit de l'ensemble des événements redoutés. Ainsi que leur évaluation en termes de conséquences, puis la détermination des modalités de maîtrise afin de réduire les causes et/ou des conséquences possibles de ces événements.

Dans le cadre de la validation de méthode, «le laboratoire devra présenter sous forme de tableau, l'ensemble du processus, les risques encourus et les éléments de leur maîtrise. Tout risque non maîtrisé devra faire l'objet d'une vérification à rapporter dans le protocole de vérification/validation» (19).

L'analyse de risque est donc une démarche d'évaluation des risques basée sur une analyse des modes de défaillance et leurs effets. Combinée à l'analyse des causes via la méthode des 5 M et la méthode AMDEC, cette analyse permet :

- la mise en évidence de point critique ou risque encouru pouvant altérer à la sécurité
- d'aider à entreprendre des actions préventives
- définir les indicateurs de qualité dont le suivi est réalisé afin de mesurer la maîtrise du risque
- de gérer les risques résiduels

Peu importe la méthode choisie, l'analyse de risque doit couvrir trois domaines : tout d'abord les données d'entrée correspondantes au moment du processus auquel intervient le risque, puis les points critiques à maîtriser et enfin les modalités de maîtrise mises en place pour prévenir le risque.

En pratique plusieurs étapes doivent être respectées. Tout d'abord «l'identification des risques potentiels» (19). Pour cela plusieurs méthodes peuvent être envisagées, il est possible de se servir des non-conformités et réclamations ou bien des analyses de

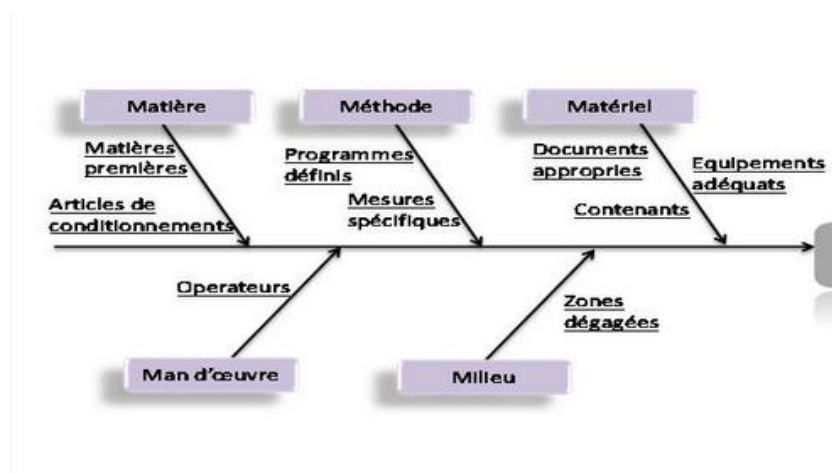
tendance ou encore d'une étude approfondie du processus de réalisation de l'examen biologique. Puis vient l'estimation du risque, l'objectif est d'obtenir la criticité du risque à partir de la gravité de celui-ci et de sa fréquence d'apparition. Cette estimation permet la «hiérarchisation des risques et la priorisation des actions de maîtrise» (19). Enfin cette analyse se termine par l'attribution de moyens de maîtrise à chacun des risques identifiés.

### 3.2.2 Méthode des 5M

L'analyse de risques par la méthode des 5M consiste à suivre la procédure établie par la norme ISO 22716. «Chaque analyse 5M est répétée pour les phases pré-analytique, analytique et post-analytique» (37). La méthode des 5M, créée par le professeur Kaoru Ishikawa est une méthode d'analyse qui sert à rechercher et à représenter de manière synthétique les différentes causes possibles d'un problème.

La méthode d'Ishikawa utilise une représentation graphique en forme d'arêtes de poisson comme présentée ci-dessous, cela permet de matérialiser de manière structurée les liens de causes à effet.

Figure 16 : Paramètre à étudier pour l'analyse de risque 5M



Dans cette présente thèse chaque stade : pré-analytique, analytique et post-analytique ont été mis en avant et classés selon la méthode des 5M. En effet, la méthode des 5M permet pour chaque risque possible, de rechercher l'ensemble des causes possibles.

### 3.2.3 Méthode AMDEC

La méthode AMDEC est l'Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité. L'AMDEC est un outil fortement utilisé dans toute démarche qualité. La première étape pour réaliser une analyse de risques AMDEC est l'analyse fonctionnelle, qui consiste à «décortiquer» toutes les étapes de la méthode de dosage des gaz du sang, soit le parcours de l'échantillon patient : du prélèvement sur le patient lui même au rendu des résultats. Puis l'appréciation du risque sera réalisée en déterminant toutes les situations à risque qui peuvent conduire à la réalisation d'un danger, par exemple la présence de bulles dans la seringue amener lors de la phase pré-analytique peut entraîner un faux résultat patient ou une impossibilité de rendu du résultat lors de la réalisation du dosage dans l'ABL.

Une fois la liste des situations à risque établie, ceux dont l'ordre de grandeur de la gravité et la fréquence sera le plus fort seront retenus comme points critiques à maîtriser. La dernière étape de cette analyse consiste à mitiger ces risques à l'aide de moyens de maîtrise.

### 3.3 Plan d'expérience et mise en œuvre expérimentale dans le laboratoire

Une fois la maîtrise des risques réalisée et les analyseurs ABL 825 livrés, les vérifications expérimentales sur le site peuvent commencer. Elles consistent à vérifier chacun des critères de performance vus précédemment. Pour ce faire, plusieurs échantillons contrôle, fournis par Radiometer, ou des échantillons patients, provenant des services de l'hôpital sont mesurés par les analyseurs et les résultats sont rassemblés dans une base de données. Les résultats bruts ne sont pas analysés tels quelles. Après une exploitation statistique de ceux-ci et le calcul des différents paramètres tels que le coefficient de variation, la moyenne, le biais, ils sont alors comparés aux différentes limites d'acceptabilités fixées préalablement.

### 3.4 Rédaction des conclusions et décisions

Une fois les résultats comparés aux limites d'acceptabilité, un biologiste médical habilité à valider le dossier approuvera la conformité ou non-conformité des performances des analyseurs. En cas de non-conformité, des actions doivent être mise en

place. «Pour la mise en œuvre d'actions correctives, une analyse des causes est à mener pour permettre d'orienter les actions adaptées. L'action corrective peut modifier les pratiques du laboratoire afin d'éliminer la cause de la non-conformité. La mise en œuvre de l'action corrective est enregistrée, ainsi que, généralement après un laps de temps de quelques semaines à quelques mois, l'appréciation de son efficacité pour sa clôture» (39).

La prochaine étape est la mise en place du suivi de validation de méthode et du contrôle interne et externe de la qualité sur les analyseurs. Cette section n'est pas traitée dans cette thèse.

Le dossier de validation de méthode est le document le plus important, car il conditionne la recevabilité de la méthode. Il est vérifié par le COFRAC lors de l'audit initial. En effet, la validation de technique est mise à profit pour estimer les incertitudes des mesures du laboratoire. Au cours de la vie du laboratoire, les mises à jour de méthode passent toujours par une validation de méthode dont les éléments doivent être transmis aux évaluateurs du COFRAC. Le dossier de validation de méthode de dosage des gaz du sang pour la paramètre  $pCO_2$  est retrouvé en annexe A.

## **RESULTATS (A TRAVERS L'EXEMPLE DE LA $p\text{CO}_2$ )**



# 1 Maîtrise des risques

## 1.1.1 Phase Pré-analytique

**Tableau 5 : Analyse de risques de la phase pré-analytique du dosage des gaz du sang**

MAITRISE DES RISQUES			
Etape	5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Prélèvement	<b>Main d'œuvre</b> : infirmier ou interne	Réalisation du Prélèvement	Manuel de prélèvement du LBMMS Version 1 Cf : MU-PréA-PG-003 Formation e-learning
	<b>Matière</b> : échantillons sanguins	Identification de l'échantillon	Cf : Mode opératoire LMX : Enregistrement des analyses
	<b>Matériel de prélèvement</b> : Type d'échantillons primaires : Sang artériel, sang veineux, artère ombilicale, veine ombilicale, capillaire  Type de récipient utilisé : seringues RADIOMETER	Seringue héparinée Remplissage correct de la seringue Caillot Volume minimum	Manuel de prélèvement du LBMMS Version 1 Cf : MU-PréA-PG-003

	<b>Méthode de prélèvement</b>	Purge suffisante du cathéter en réanimation Pas de bulles dans la seringue Caillot dans l'échantillon Sang artériel mélangé au sang veineux Instabilité du patient Agitation douce de la seringue pendant 20 à 30s Température du patient noté Oxygénothérapie précisée Volume suffisant Heure du prélèvement noté	Manuel de prélèvement du LBMMS Version 1 Cf : MU-PréA-PG-003  Eviter les erreurs pré-analytiques liées aux analyses de gaz du sang. Cf : NB-PréA-EX-001-01
<b>Transport</b>	<b>Méthode</b>	Conditions de transport	
	<b>Milieu</b>	Température de transport d'échantillon	Transport à température ambiante (34)
<b>Réception</b>	<b>Main d'oeuvre</b>	Réception du prélèvement	
		Enregistrement du prélèvement	Cf : Reception tri enregistrement des examens MU-PréA-MT-003-01
	<b>Méthode</b>	Délai de transmission	Cf : Mode opératoire LMX : Enregistrement des analyses
		Identification	Cf : Mode opératoire LMX : Enregistrement des analyses
	<b>Milieu</b>	Température entre 15 et 30°C Humidité entre 20 et 80 %	Suivi des températures des locaux

## 1.1.2 Phase Analytique

**Tableau 6 : analyse de risques de la phase analytique du dosage des gaz du sang**

MAITRISE DES RISQUES			
Etape	5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>Réalisation du gaz du sang</b>	<b>Main d'oeuvre :</b> Techniciens du poste GDS Interne Biologiste	Maitrise de l'ABL 825 Connaissance des procédures	Habilitation du personnel Médical et non médical à l'ABL 825 Cf : NB-RH-DE-021-001  Cf : Mode opératoire NB-ANA-MT-054-01
	<b>Matière</b>	Seringue héparinée Remplissage correct de la seringue Caillot Volume minimum Absence de bulle Absence de caillot	Manuel de prélèvement du LBMMS Version 1 Cf : MU-PréA-PG-003
	<b>Matériel</b>	Utilisation du réactif :  Utilisation des bons réactifs  Date de péremption  Limite d'utilisation après ouverture	Lecture du code barre des réactifs  Dates de péremption gérées par la CARF  Utilisation au-delà de la date de péremption et de la durée limite de stabilité à bord bloquée par l'analyseur Cf : Mode opératoire NB-ANA-MT-054-01
		Utilisation de l'ABL 825 FLEX Radiometer	Manuel de l'opérateur Radiometer

		Maintenance ABL 825	Radiometer par le contrat de maintenance d'une durée de 7 ans.
		Exigences métrologique et Exigences informatiques spécifiques	Cf : Manuel d'utilisation de MPLV5. Lab production manager v5.5.2  Habilitation du personnel Médical et non médical à l'ABL 825 Cf : NB-RH-DE-021-001
	<b>Méthode de mesure</b>	Agitation manuelle Homogénéisation sans délai	Agitation mécanique : Bille dans la seringue SafePICO agitée mécaniquement dans l'agitateur, du passeur de l'ABL800 FLEX Cf : Mode opératoire NB-ANA-MT-054-01  Agitation manuelle Cf : feuille en cours de réalisation
		Matériau de référence : Utilisation des bonnes solutions de calibration  Date de péremption  Limite d'utilisation après ouverture	Lecture du code barre des solutions de calibrations  Dates de péremption gérées par la CARF  Utilisation au-delà de la date de péremption et de la durée limite de stabilité à bord bloquée par l'analyseur.
	<b>Milieu</b>	Température entre +15 et +30°C Humidité entre 20 et 80 %	Relevé des températures de la pièce O-03-44 Procédure de suivi des températures avec le logiciel SIRIUS : MU-ACHAT-PG-001 avec Locaux chauffés et climatisés

### 1.1.3 Phase post-analytique

**Tableau 7 : Analyse de risque de la phase post-analytique du dosage des gaz du sang**

MAITRISE DES RISQUES			
Etape	5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>Rendu du résultat</b>	<b>Main d'œuvre :</b> interne ou biologiste	Validation biologique	Procédure d'habilitation du personnel Cf : Manuel d'utilisation de MPLV5. Lab production manager v5.5.2
	<b>Matière</b>	Résultat de l'analyse	Vérification à la validation biologique
	<b>Matériel</b>	Validation technique des résultats sur PGP	Cf : Mode opératoire PGP utilisation en routine
<b>Elimination des déchets</b>	<b>Main d'œuvre</b>	Elimination des déchets par le personnel	Formation élimination des déchets et DASRI
	<b>Matériel</b>	Poubelles, sacs poubelles	MO gestion des déchets : MO DEC 001
	<b>Méthode</b>	Application procédure	MO gestion des déchets : MO DEC 001

Dans le cas de cette thèse les moyens de maîtrise les plus souvent retrouvés sont :

1. L'habilitation et la formation du personnel de santé
2. Les suivis et procédures mis en place
3. Les informations fournies par le fournisseur à l'aide des manuels
4. Les données qualité

## 2 Répétabilité

L'essai de répétabilité est mené sur 3 niveaux de contrôles choisis en fonction de leurs valeurs physiopathologiques. Les échantillons de contrôle ont été fournis par RADIOMETER. Pour chacun des paramètres testés un niveau bas, moyen et élevé (valeurs physiopathologiques) sont utilisés. 30 essais sont réalisés pour chaque niveau sur une période de 11 jours du 31/05/2013 au 10/06/2013 afin d'obtenir une valeur statistique élevée. Afin de diminuer l'erreur due à l'opérateur une seule personne a été en charge des essais de répétabilité.

Puis les moyennes, CV et écart types sont calculés pour ensuite être comparés à des valeurs limites. A l'époque où cette vérification de méthodes a été réalisée, les données limites fournisseurs n'étaient pas encore déterminés. Les limites ont donc été choisie parmi des données de la littérature. Le choix du laboratoire a été les CV limites de la SFBC.

**Tableau 8 : Résultats de la répétabilité sur le paramètre pCO<sub>2</sub> sur l'ABL LABO 1**

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (kPa)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) limite SFBC	CV (%) fournisseur	CV (%) limite RICOS	Conclusion
Echantillon niveau 1 BAS	30	1,68	0,0478	2,85	4,5	N.A	4,8	Conforme
Echantillon niveau 2 MOYEN	30	5,14	0,0445	0,87	3,8	N.A	4,8	Conforme
Echantillon niveau 3 HAUT	30	8,50	0,0683	0,80	3,8	N.A	4,8	Conforme

Les CV obtenus suite aux essais pour tous les niveaux d'échantillon sont inférieurs aux CV limites fixés et donc conformes. La meilleure performance possible de l'appareil dans des conditions optimales est jugée satisfaisante.

### 3 Reproductibilité

L'essai de reproductibilité est mené sur 4 niveaux de concentrations choisis en fonction de leurs valeurs physiopathologiques. Les échantillons de contrôle sont fournis par RADIOMETER. Pour chacun des paramètres testés un niveau extrême, bas, moyen et élevé (physiopathologiquement parlant) est utilisé. 30 essais sont réalisés pour chaque niveau sur une période de 30 jours du 19/06/2013 au 19/07/2013 afin d'obtenir un résultat statistiquement significatif. Afin de générer des données et d'évaluer la fidélité intermédiaire, plusieurs conditions sont testées faisant intervenir un opérateur, un appareil et un échantillon de façon aléatoire.

Puis les moyennes, CV et écart types ont été calculés pour ensuite être comparés à des valeurs limites. A l'époque où cette validation a été réalisée, les données limites fournisseurs n'étaient pas encore déterminés. Les limites ont donc été choisie parmi des données de la littérature. Le choix du laboratoire a été les CV limites de la SFBC.

**Tableau 9 : Résultats de reproductibilité sur le paramètre pCO<sub>2</sub> sur l'ABL LABO 1**

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (kPa)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) limite SFBC	CV (%) fournisseur	CV (%) limite RICOS	Conclusion
Echantillon niveau 1	30	1,63	0,0922	5,65	6,0	N.A	5,3	Conforme
Echantillon niveau 2	30	5,14	0,0784	1,53	5,0	N.A	5,3	Conforme
Echantillon niveau 3	30	8,68	0,0681	0,78	5,0	N.A	5,3	Conforme
Echantillon niveau 4	30	12,25	0,1796	1,47	5,0%	N.A	5,3%	Conforme

Les CV obtenus suite aux essais pour tous les niveaux d'échantillons sont inférieurs aux CV limites fixés et donc conformes. La méthode utilisée sur les ABL 825<sup>®</sup> pour le dosage de la pCO<sub>2</sub> est donc robuste.

## 4 Evaluation de la justesse

La justesse n'a pas été évaluée pour cette validation de méthode. Les analyseurs venant d'être installés, aucune donnée n'était encore disponible sur les résultats de CIQ externalisés et pour les EEQ lors de la réalisation de plan d'expérience de cette thèse en 2013.

## 5 Incertitudes de mesure

L'incertitude de mesure n'a pas été évaluée pour cette validation de méthode. Les analyseurs venant d'être installés, aucune donnée n'étaient encore disponible pour les EEQ lors de la réalisation de plan d'expérience de cette thèse en 2013.

## 6 Intervalle de mesure

Les gammes de mesure que l'analyseur est physiquement capable de mesurer pour chacun des paramètres sont les suivantes (35). L'appareillage étant marqué CE, ces valeurs sont issues du manuel de référence RADIOMETER

**Tableau 10 : Gamme de mesure pour les paramètre Hb, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub> et pH (35)**

Paramètre	Gamme de mesure
Hb	0,00-27,7 g/dL
pO <sub>2</sub>	0,00-107 kPa
pCO <sub>2</sub>	0,67-33,3 kPa
pH	6,300-8,000

## 7 Contamination

La méthode utilisée est de portée A, l'évaluation de la contamination n'a pas été réalisée.

## 8 Interférences

Les tests d'interférences réalisés avec le fournisseur RADIOMETER sont fournis dans la manuel de référence de l'appareil et ne montrent aucune interférence sur la mesure des gaz du sang et de l'hémoglobine.

## 9 Intervalle de référence

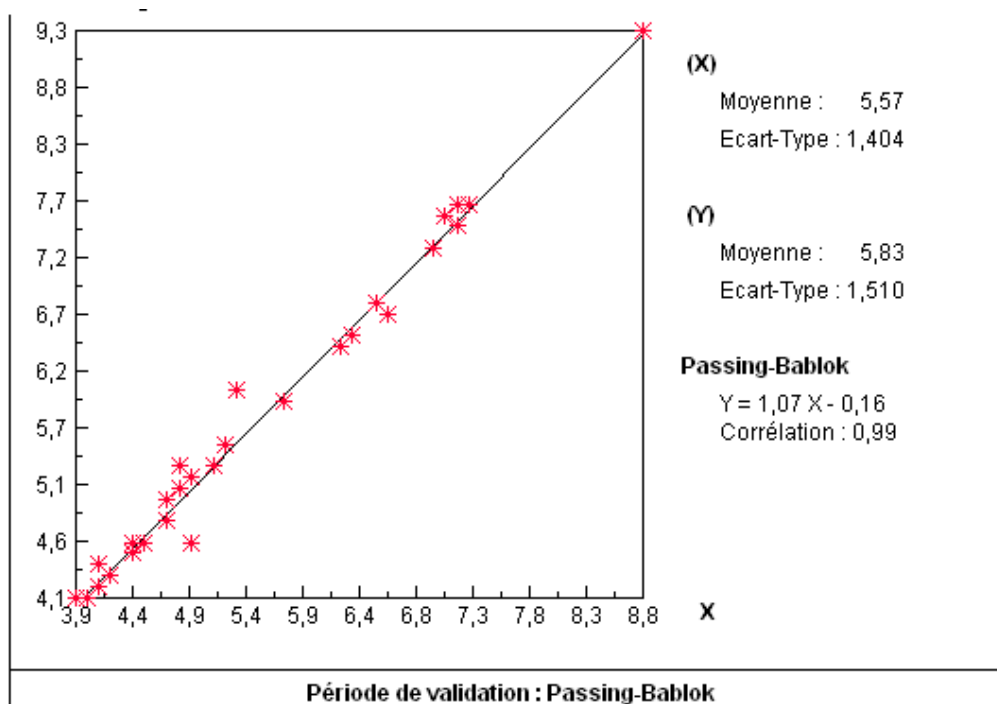
Les intervalles de référence sont fournis dans la partie Matériel et Méthodes - 1.4 de cette présente thèse (tableau 3 p61).

## 10 Comparaison de méthode

### 10.1 Comparaison de méthode ABL 1/ABL 2

Une fois la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la justesse et l'intervalle de mesure vérifiés, il est possible de réaliser la comparaison de méthode. Dans un premier temps une corrélation entre les deux ABL 825<sup>®</sup> est réalisée afin de vérifier la parfaite corrélation entre les résultats rendus par les deux appareils ABL 825<sup>®</sup> du service de biochimie. Pour cela 30 échantillons patients sont testés durant un mois du 10/06/2013 au 11/07/2013.

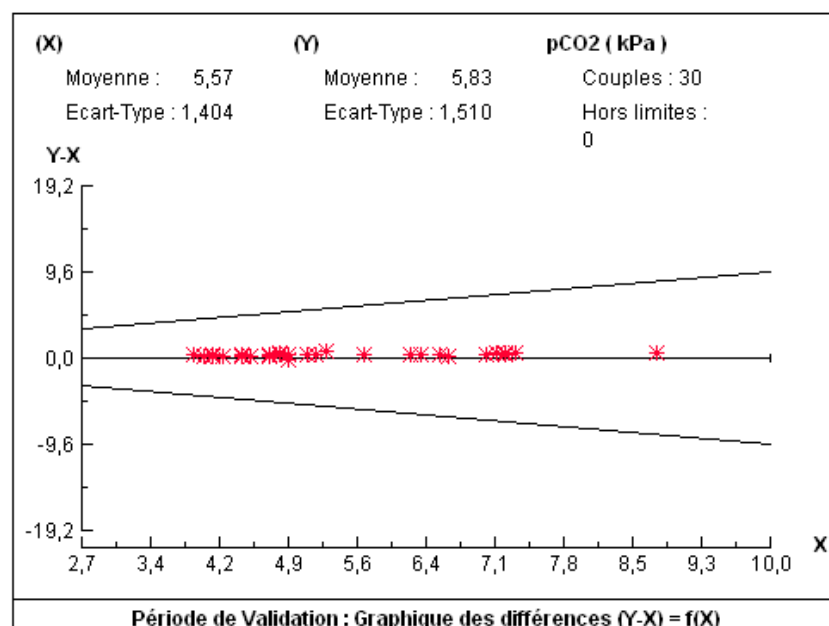
Les données pertinentes sont apportées par l'équation de la droite de régression dont «la pente et l'ordonnée exprimeront la similitude des méthodes comparées» (43). La similitude optimale est obtenue avec une pente égale à 1 et une ordonnée à l'origine égale à 0, comme illustré par la comparaison de méthode réalisée sur le paramètre pCO<sub>2</sub>. X étant les valeurs obtenues après passage des 30 échantillons sur l'ABL 1 et Y celle après passage de ces mêmes 30 échantillons sur l'ABL 2.



**Figure 17: Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 1 et 2 pour le paramètre pCO<sub>2</sub> à partir de la droite de régression**

La similitude entre les résultats rendus par l'ABL 1 et l'ABL 2 est donc vérifiée et conforme pour le paramètre pCO<sub>2</sub>.

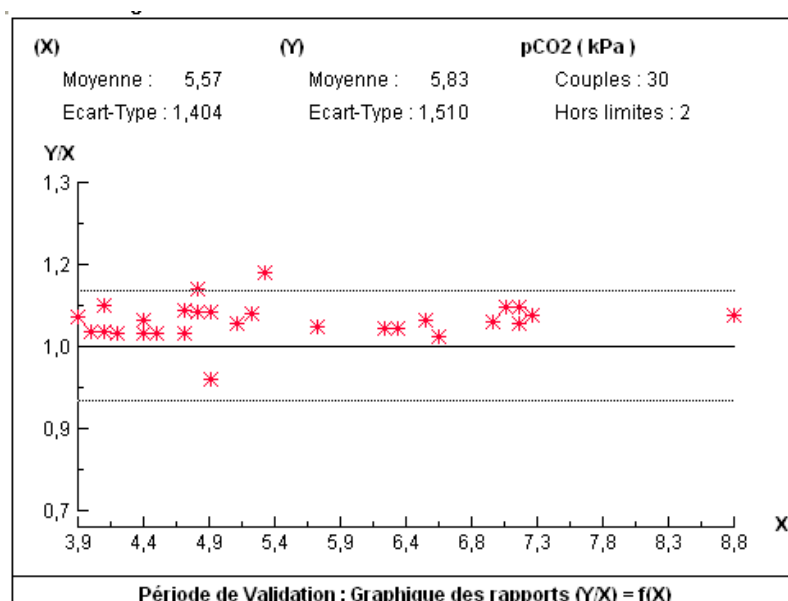
A l'aide du logiciel Valtec et des écart-types obtenus lors de l'évaluation de la répétabilité, les limites de suivis sont calculés. A partir de ce moment, différents graphiques peuvent être réalisés. Le graphique des différences permet de déterminer le nombre de couples hors limites, c'est à dire ceux dont la différence entre les résultats obtenus sur l'ABL1 et l'ABL2 sortent des limites de suivi.



**Figure 18 : Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 1 et 2 pour le paramètre pCO<sub>2</sub> à partir du graphique des différences**

Le % de couples hors limites est de zéro pourcent, il est donc acceptable.

Quant au graphique des rapports entre les résultats de l'ABL1 et l'ABL2, il permet d'étudier ceux qui s'éloigne de la valeur 1. En effet un rapport de 1 signifie que les résultats sont identiques.



**Figure 19 : Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 1 et 2 pour le paramètre pCO<sub>2</sub> à partir du graphique des rapports**

Le % de couples hors limites est acceptable. Avec les résultats obtenus, la comparaison de méthode entre l'ABL 1 et l'ABL 2 est jugée conforme dans le cadre de la mesure de la pCO<sub>2</sub>.

## 10.2 Comparaison de méthode ABL 2/ ABL 3

Un troisième appareil Radiometer pour le dosage des gaz du sang a été installé au sein du service biochimie de l'hôpital Croix rouge. une comparaison de méthode a donc été réalisé entre l' ABL 2 et l'ABL 3 sur le paramètre de la pCO<sub>2</sub>. les résultats obtenus sont les suivants à l'aide du logiciel Valtec :

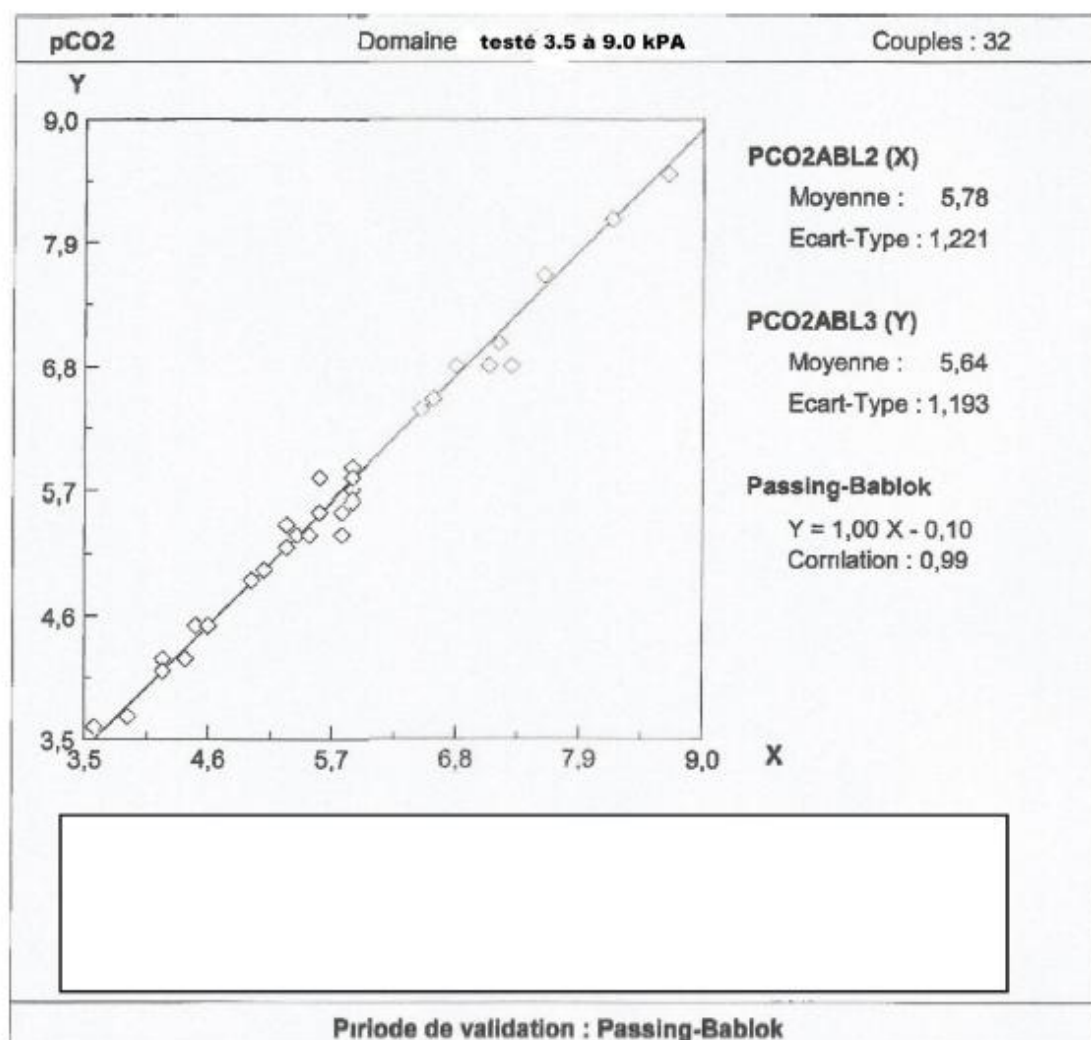


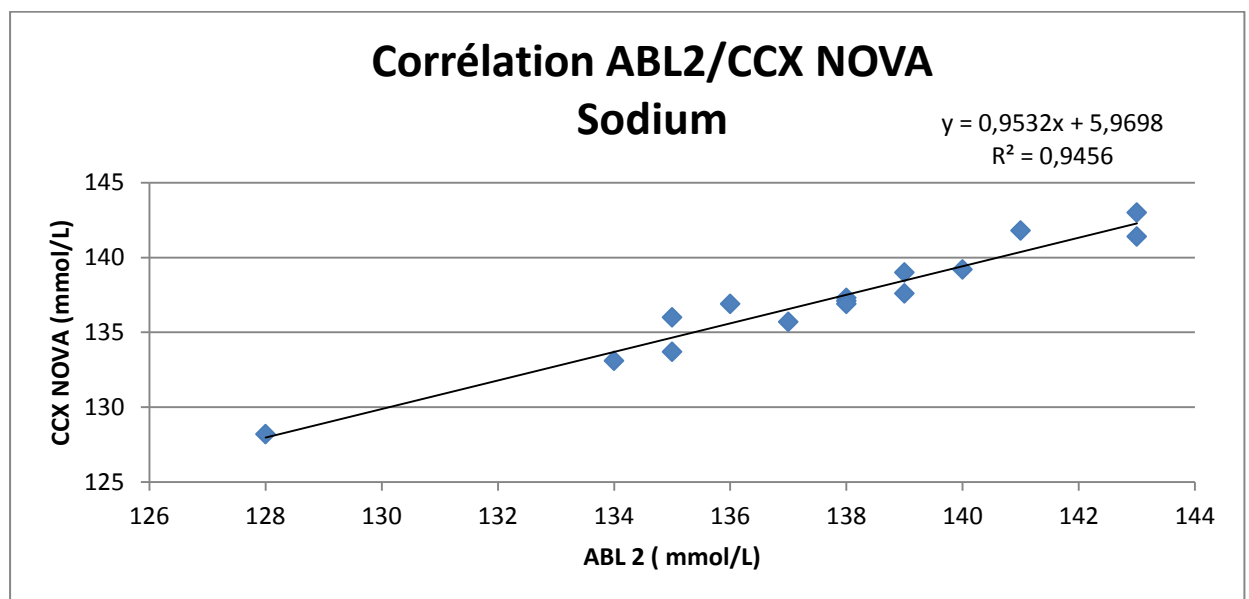
Figure 20: Résultats de la comparaison de méthode entre les ABL LABO 2 et 3 pour le paramètre pCO<sub>2</sub> à partir de la droite de régression

La pente de la droite de régression de Passing Bablock obtenue est proche de 1 et l'ordonnée à l'origine proche de zéro. La comparaison de méthode entre ces deux ABL est donc conforme et la similitude entre les deux appareils est donc vérifiée.

### 10.3 Comparaison de méthode ABL/NOVA (ancien analyseur)

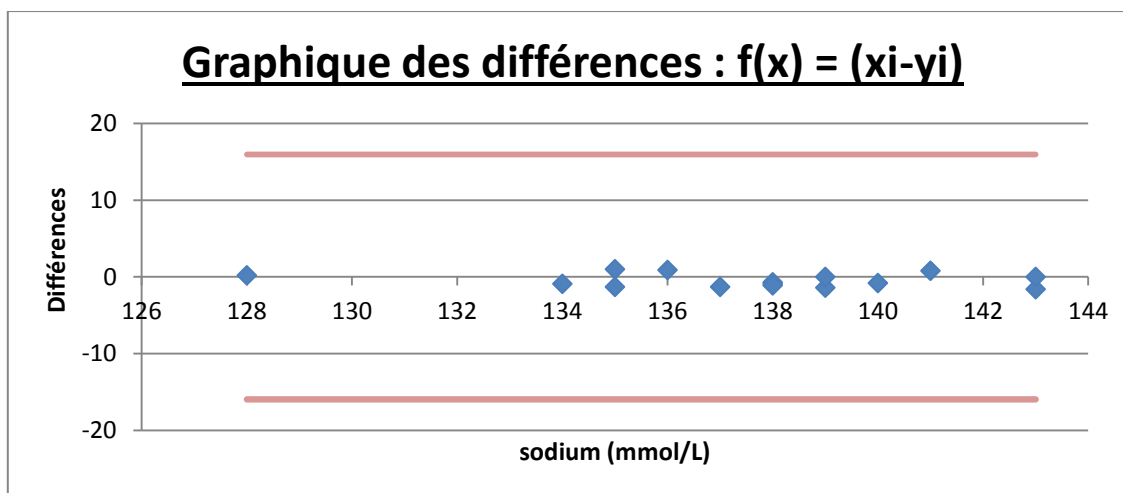
Une fois la similitude démontrée entre les deux ABL, un des deux ABL a été comparé avec un ancien appareil des gaz du sang présent dans le service : l'appareil CCX NOVA, sur un paramètre dont la méthode et le rendu des valeurs (unité de mesures) étaient communs : le sodium. L'outil utilisé est Excel.

15 échantillons patients ont été passés sur l'ABL 2 et le CCX NOVA entre le 10/06/2013 et le 01/07/2013. Les résultats obtenus sont les suivants et la limite de suivi obtenue pour ce paramètre est de 15,94.

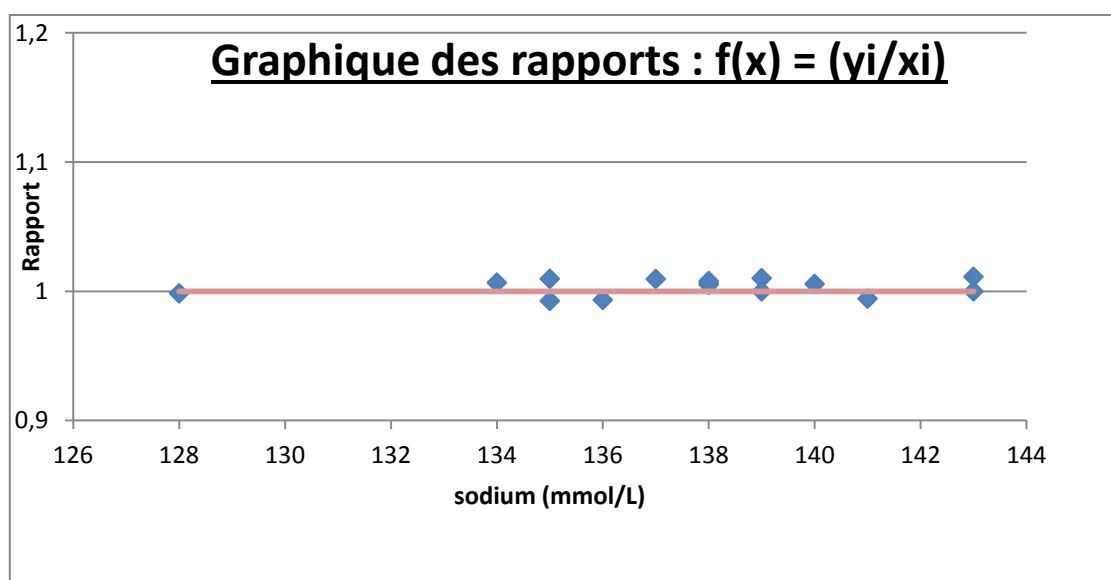


**Figure 21 : Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 2 et le CCX NOVA pour le paramètre sodium à partir de la droite de régression**

La pente de la droite de régression est proche de 1. La similitude entre les résultats rendus par l'ABL 2 et le CCX NOVA est donc vérifiée et conforme pour le paramètre sodium



**Figure 22 : Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 2 et le CCX NOVA pour le paramètre  $pCO_2$  à partir du graphique des différences**



**Figure 23 : Résultats de la comparaison de méthode entre l'ABL 2 et le CCX NOVA pour le paramètre  $pCO_2$  à partir du graphique des rapports**

Pour le graphique des différences et celui des rapports, aucun couple n'est retrouvé hors limite. Cette comparaison de méthode entre la méthode utilisée par les ABL et celle utilisée par le CCX NOVA est donc conforme. Cette analyse n'est pas présentée et non prise en compte dans le rapport de validation de méthode. La comparaison n'a pas pu être réalisée sur le paramètre de la  $pCO_2$ , car l'unité de mesure n'était pas la même lors du rendu des résultats et non comparable à cause du manque de données sur la pression et la température de mesure, ce qui aurait permis de réaliser la conversion de ces unités.

## DISCUSSION



## 1 Analyse des résultats

Tout au long de ce dossier de vérification de méthode, nous avons démontré que la méthode de dosage de la  $p\text{CO}_2$  sur les ABL est conforme aux exigences du laboratoire dans les conditions opératoires du laboratoire et permet l'obtention de résultats sûrs et fiables pour le patient. De plus les comparaisons de méthode entre l' ABL 1, l'ABL 2 et l'ABL 3 ont montré que les trois appareils fournissent des résultats équivalents.

Une fois les performances sur site vérifiées et tracées dans le dossier, il est déclaré que la méthode de dosage de la  $p\text{CO}_2$  sur les ABL 825<sup>®</sup> Radiometer est apte et conforme à l'utilisation par le LBM pour les patients concernés, au regard des critères d'acceptation initialement fixés.

La méthodologie de vérification de méthode portée flexible A quantitative a été présentée au travers de l'exemple de la  $p\text{CO}_2$ , ceci a été vérifié pour d'autres paramètres des gaz du sang : la pH, la  $p\text{O}_2$  et l'hémoglobine totale.

## 2 Retour d'expérience sur les analyseurs ABL 825<sup>®</sup> de Radiometer

L'analyseur de gaz du sang ABL800 FLEX est utilisé pour mesurer jusqu'à 18 paramètres, avec un délai de rendu des résultats très court. Cela favorise le diagnostic et la prise en charge rapide des patients des services de réanimation de l'hôpital de la Croix-Rousse.

L'analyseur de gaz du sang ABL800 FLEX possède un module FLEXQ qui permet d'homogénéiser les échantillons et de passer automatiquement jusqu'à trois échantillons à la suite. L'homogénéisation se réalise en 7 secondes. Cela améliore la fiabilité des résultats en diminuant les erreurs dues aux manipulations par le personnel lors du passage des gaz du sang sur ces analyseurs.

Ce module permet une cadence analytique élevée tout en libérant du temps technique. En effet avec ce module FLEXQ, il est inutile que le technicien attende les résultats des patients auprès de l'analyseur. De plus à chaque dépôt d'échantillon dans le module, celui-ci est automatiquement scanné afin d'enregistrer les données du patient.

Gain d'efficacité et travail en flux font donc de cet analyseur un outil de travail performant.

### 3 Le rôle du fournisseur

La norme NF EN ISO 15189 établie des exigences pour les LBM, et les performances annoncées par les fournisseurs leur sont devenues opposables. En effet cette norme NF EN ISO 15189 décrit aussi les exigences liées au processus et produits des fournisseurs utilisés par les LBM : «Le laboratoire doit sélectionner et approuver les fournisseurs en fonction de leur capacité à fournir des services externes, matériels, réactifs et consommables conformément aux exigences du laboratoire» (3). Les fournisseurs doivent être conscients de son existence et des impacts sur les laboratoires et sur eux-mêmes. Ces derniers ont donc besoin que les interlocuteurs, que représentent les fournisseurs, soient formés à la norme NF EN ISO 15189 et soient capables de les accompagner dans leur démarche d'accréditation.

Les fournisseurs de DMDIV n'ont pas attendu cette norme et le caractère rendu obligatoire de l'accréditation pour mettre en place, de façon volontaire, des systèmes de management de la qualité. Dans les années 2000, ils ont été amenés à évoluer dans un système réglementaire européen, suite à la publication de la directive 98/79/CE et ils ont dû soumettre leur produit au marquage CE. Le marquage CE a certes donné le droit à la libre circulation des produits sur l'ensemble du territoire européen mais il a aussi induit un changement dans le système de management de la qualité des fournisseurs de Dispositifs Médicaux de Diagnostic In Vitro (DMDIV).

«Aujourd'hui, du fait du développement de l'accréditation obligatoire des LBM en France, les fournisseurs de DMDIV sont sollicités par les LBM en quête d'aide dans leur démarche d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189.» (44) Les fournisseurs s'efforcent donc d'accompagner au mieux les LBM à travers différents produits et services.

Ils peuvent proposer des formations au personnel des LBM pour l'utilisation des dispositifs médicaux comme cela a été réalisé avant la validation de méthode et la mise en service des ABL 800 au sein du service de biochimie de l'hôpital de la Croix-Rousse.

D'après la NF EN ISO 15189 «Il appartient au biologiste de s'appuyer sur la documentation technique du fournisseur (notices, fiches techniques, références bibliographiques, ...)» (19). Différents documents sont donc fournis avec les produits tels que la notice et les manuels de référence et d'utilisation et doivent répondre à la directive 98/79/CE. Des références bibliographiques pertinentes doivent figurer dans les notices et les manuels d'utilisation. De plus en plus, ces manuels contiennent les aides pour l'accréditation et les validations de méthodes. C'était le cas pour la documentation des ABL 800 de Radiometer.

Le chapitre 5 du manuel de référence Radiometer décrit les spécifications des performances des analyseurs pour chaque paramètre mesuré. Elles «sont obtenues par comparaison des analyseurs ABL800 FLEX avec les méthodes de référence primaire, et par comparaison des analyseurs ABL800 FLEX et de l'analyseur ABL735» (35). Pour tous les paramètres sauf la créatinine, les spécifications étaient données par le Biais soit la différence moyenne entre les résultats ou par la mesure de la déviation standard. Dans le cadre de la validation de méthode, le rendu des résultats passe par le calcul du CV, les spécifications des performances proposées par Radiometer n'étaient donc pas exploitables et utilisables en tant que «CV fournisseur» et le laboratoire n'a donc pas pu s'en servir pour cette vérification de méthode.

Pour que les biologistes puissent apprécier dans le temps la documentation fournisseur, ce dernier doit mettre en place un système d'information de ses clients en cas de changement entraînant une modification significative ou ayant un impact sur le mode opératoire et / ou sur les performances.

Ces différents exemples prouvent qu'il est préférable que les fournisseurs choisis par les LBM possèdent de nombreuses certifications de la part d'organismes ou d'agences gouvernementales telles que la FDA aux USA (QSR) ou l'ISO (ISO 9000-2005 ou ISO 13485), ainsi que le marquage CE. La recommandation est donc d'éviter de s'approvisionner auprès de fournisseurs qui opèrent sans système d'assurance qualité, afin que ceux-ci puissent être capables de répondre aux interrogations du laboratoire et d'apporter des réponses techniques et des documentations adaptées qui faciliteront la mise en place des procédures qualité.

# CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR : Mme BERNARD Delphine

La mesure des gaz du sang permet à partir d'un prélèvement sanguin d'apprécier en urgence la fonction respiratoire et l'équilibre acido-basique du patient. Cet examen est couramment réalisé dans les services de réanimation sur des patients dans des états graves nécessitant une prise en charge rapide.

L'arrivée de trois nouveaux analyseurs des gaz du sang : les ABL 825 de Radiometer dans le service de Biochimie de l'hôpital Nord HCL dans un contexte d'accréditation a abouti à la vérification des performances de ces automates sur le site. Depuis la réforme de la biologie en 2010 suite aux rapports IGAS et Ballereau, l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 est rendue obligatoire au sein des laboratoires de biologie médicale. Elle prévoit de manière explicite la validation/vérification des méthodes analytiques tels que la mesure des gaz du sang. L'objectif de cette réforme est d'apporter la garantie aux patients que les laboratoires sont aptes à réaliser les analyses dans les meilleures conditions et donc à fournir des résultats fiables.

Cette vérification de méthode pour le dosage des gaz du sang s'est déroulée en plusieurs phases et un formulaire, le SH FORM 43 doit être impérativement utilisé. Les recherches bibliographiques à l'aide des données fournisseurs et de l'état de l'art ont été indispensables pour définir les critères attendus de performance et les limites d'acceptabilité. Cette étape a démontré l'important rôle du fournisseur de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro tant dans le support technique qu'il peut apporter mais aussi dans les informations qu'il fournit au laboratoire.

Dans le cadre de cette vérification nous avons réalisé une analyse de risques permettant de mettre en évidence les points critiques à maîtriser. Il en est ressorti l'importance de la formation et l'habilitation du personnel, ainsi que la mise en place de procédures et d'un système de management de la qualité appliqués par tous. Enfin la réalisation du plan d'expérimentation réalisé au sein même du laboratoire à l'aide de préparations de contrôles, de contrôles fournisseurs et d'échantillons patients ont permis

de vérifier l'aptitude de la méthode et la conformité des résultats rendus entre les trois nouveaux analyseurs du service.

La vérification/validation de la méthode de dosage pour la mesure des gaz du sang présentée dans cette thèse couplée à une procédure analytique plus fiable (passeur automatique) garantie aujourd'hui aux patients une rapidité et une fiabilité des résultats de gaz du sang rendus par le laboratoire de Biochimie. Cette démarche du laboratoire participe à une meilleure prise en charge du patient.

**Le Président de la thèse,**

Nom : *C. Vinciguerra*

Signature :



Vu et permis d'imprimer, Lyon, le 5.11.15

Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,



**Professeure C. VINCIGUERRA**

## BIBLIOGRAPHIE

1. Collectif. *Code de la Santé Publique*. s.l. : Dalloz, 2015.
2. Arrêté du 26 novembre 2009 relative à la bonne exécution des analyse de biologie médicale (GBEA). 1999. MESP9923609A. JO du 11 décembre 1999 n°287.
3. AFNOR. NF EN ISO 15189:2012. *Laboratoire d'anayse de biologie médicale - Exigence concernant la qualité et la compétence*. décembre 2012.
4. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Le contole national de qualité des analyses de biologie médicale. *ansm santé*. [En ligne] 2014. [http://ansm.sante.fr/Activites/Controle-national-de-qualite-des-analyses-de-biologie-medicale-CNQ/CNQ-Dernieres-mises-a-jour/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Activites/Controle-national-de-qualite-des-analyses-de-biologie-medicale-CNQ/CNQ-Dernieres-mises-a-jour/(offset)/0).
5. Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Manuel d'accréditation des établissement de santé. PARIS : s.n., 1999. 2-910653-46-3.
6. Lalande F, Laconde C, Yeni I. La biologie médicale libérale en France: bilan et perspectives. [En ligne] 2006. [http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport\\_IGAS\\_2006.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_IGAS_2006.pdf). Rapport n°2006 045.
7. M, Ballereau. Rapport pour un projet de réforme de la biologie médicale. [En ligne] 23 Septembre 2008. [http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport\\_pour\\_la\\_biologie\\_medicale.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_pour_la_biologie_medicale.pdf).
8. Ordonnance n°2010-49 relative à la biologie médicale. 13 janvier 2010. JO n°0012 jan 15, 2010.
9. LOI n°2013-442 du 30 mai 2013 portant sur la réforme de la biologie médicale. JO n°0124 mais 30, 2013.
10. Ministère de l'économie, des finances et de l'industrie. Guide sur le bon usage de l'accréditation dans la réglementation. [En ligne] octobre 2011. <http://www.entreprises.gouv.fr/files/files/guides/guides-accreditation.pdf>.
11. COFRAC. Reconnaissance internationale. *le portail de l'accréditation en France*. [En ligne] <http://www.cofrac.fr/fr/cofrac/reconnaissance.php>.
12. C, Lelievre. Validation de méthode qualitative en continu. *IXème journées professionnelles de l'AFTLM*. Paris : s.n., 2012.
13. Réseau mère-enfant de la francophonie. Hospices Civils de Lyon. [En ligne] 2012. [http://www.rme francophonie.org/Hospices-Civils-de-Lyon\\_a60.html](http://www.rme francophonie.org/Hospices-Civils-de-Lyon_a60.html).
14. Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes. Définitions et Principes Généraux. *sante.gouv.fr*. [En ligne] 15 juillet 2010. <http://www.sante.gouv.fr/definitions-et-principes-generaux.html>.
15. Laboratoire de Biologie Médicale Multi Sites du CHU de LYON. MANUEL QUALITE. 2013.

16. *Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale*. SFBC. 2010, Annales de la biologie clinique.
17. Thompson, Michael, Ellison, Stephen et Wood, Roger. The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. *IUPAC technical report*. s.l. : Pure Appl. Chem, 2006.
18. Hôpitaux universitaires est parisien. Manuel qualité. *pole de biologie médicale et pathologie*. s.l. : Assistance publique hôpitaux de paris.
19. COFRAC. Guide technique d'accréditation/validation des méthodes en biologie médicale. *SH GTA 04*. avril 2015.
20. COFRAC. Guide technique d'accréditation. *document SH GTA 01*. mai 2011.
21. COFRAC. Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des labotaires de biologie medicale selon la norme NF EN ISO 15189. *SH REF 02*. 2007.
22. COFRAC. Expression et évaluation des portées d'accréditation. *Document LAB REF 08*. 2011.
23. COFRAC. Guide technique d'accréditation/validation des méthodes en biologie médicale. *SH GTA 04*. 2011.
24. Danze, J.M. L'ionisation de l'oxygène.
25. Baud, Laurent. Physiologie respiratoire. *Transport des gaz dans le sang*. s.l. : Université Pierre & Marie CURIE, Janvier 2003.
26. Baele, Ph et Van der Linden, Ph. Le transport de l'oxygène par le sang. *Notion de transport du CO2 et des ions hydrogène*. février 2002.
27. Radiometer. *Le guide des gaz du sang*.
28. *Les acides et les bases : une question d'équilibre*. Woods, Philippe. 2007, Le Médecin du Québec, pp. 31-40.
29. Levy, Patrick. Chapitre 1: Equilibre Acido-Basique. s.l. : Université Joseph Fourier de Grenoble, 2010/2011.
30. Baele, Ph. L'équilibre acide-base. s.l. : UCL St Luc, 1996.
31. Negny, Vincent, David. Cours sur l'Acidose métabolique dans deshydratation avec accumulation de D-Lactates chez le veau nouveau-né. s.l. : Ecole nationale vétérinaire Toulouse, 2002.
32. National Commitee for clinical Laboratory Standard. Blood gas preanalytical considérations: specimen collection, clibration and controls. s.l. : NCCLS Document, 1993.
33. Carrano, P et Plebani, M. *Errors in a Stat Laboratory: Types and Frequencies 10 years later Clinical Chemistry*. 2007. 1338-1342.
34. Mahoney, J, et al. Changes in oxygen measurements when whole bloog is stored in iced plastic or glass syringes. s.l. : Clinical Chemistry, 1991.



35. Radiometer. *Manuel de référence de l'ABL 800 FLEX*. 2011.
36. OIV. Recueil des méthodes internationales d'analyses. *Recommandations harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un seul laboratoire*. 2005.
37. COFRAC. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. *LAB GTA 06*. juillet 2005.
38. ANFOR. *ISO 9000: Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire*. 2005.
39. COFRAC. Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale. [En ligne] 2011. <https://www.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-14>.
40. Fraser, C.G, et al. Proposed Quality Specifications for the Imprecision and Inaccuracy. *Quality specifications for imprecision and inaccuracy*. s.l. : Walter de Gruyter & C, 1992.
41. Vassault, A, et al. Analyses de biologie médicale: spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. s.l. : Annales de biologie clinique, 1999. 57 : 685-95.
42. COFRAC. Liste des organisateurs de comparaisons interlaboratoires. *Document LAB Inf 19*. 2009.
43. COFRAC. Guide technique d'accréditation/validation des méthodes en biologie médicale. *SH GTA 04*. avril 2011.
44. Syndicat de l'industrie du diagnostic in vitro. Les fournisseurs de DMDIV et la norme NF EN ISO 15189. Paris : SFRL, 2011.

## ANNEXE A : SH FORM 43 pCO<sub>2</sub> sur ABL 825<sup>®</sup> FLEX

### EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :

#### Gaz du sang : pCO<sub>2</sub> sanguin sur ABL 825 FLEX LABO 1

### DESCRIPTION DE LA METHODE

<b>Analyte/Mesurande :</b>	pCO <sub>2</sub> sang total
<b>Principe de la Mesure :</b>	Potentiométrie directe
<b>Méthode de mesure :</b>	Electrode de pH combinée à une électrode de référence Ag/AgCl montée dans une enveloppe en plastique remplie de solution électrolytique de bicarbonate + membrane de silicone.
<b>Type d'échantillon primaire :</b>	Sang artériel, sang veineux, artère ombilicale, veine ombilicale, sang capillaire
<b>Type de récipient, Additifs :</b>	Seringues RADIOMETER héparinées Self-fill 956-610 lot JR53
<b>Prétraitement de l'échantillon:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Agitation manuelle</li> <li>Homogénéisation par bille à l'intérieur de la seringue SafePICO</li> </ul>
<b>Unités :</b>	kPa
<b>Intervalles de référence :</b>	Cf bulletin Radiometer N° 44  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">918-717_Bulletin_44 _fr.pdf</div>
<b>Marquage CE (Oui/Non) :</b>	<div style="text-align: center;">   Marquage Ce  ABL800 Flex 2009.pd </div> Oui
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe) :</b>	WRO
<b>Instrument (analyseur automatique, etc.) :</b>	ABL825 FLEX LABO 1: Analyseur de gaz du sang numéro de série 754R1532N007
<b>Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :</b>	Electrode pCO <sub>2</sub> : 945-612 lot JN01 Membrane pCO <sub>2</sub> : 942-063 lot 464 Solution de rinçage : 944-132 lot EW03 Solution de nettoyage : 944-126 lot JR 09
<b>Matériau d'étalonnage / Raccordement métrologique :</b>	Gaz CO <sub>2</sub> Cal1 : 5.60% soit 42,56 mmHg pour une pression de 760 mmHg lot Y08B27 Gaz CO <sub>2</sub> Cal2 : 11.22% soit 85,27 mmHg pour une pression de 760 mmHg lot Y21B34  <div style="text-align: center;">   Certificats de traçabilité ABL800.pd </div>
<b>Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :</b>	Calibration par gaz linéaire en 2 points : Cal1 (S1820) : 42.56 mmHg lot Y08B27 Cal2 (S1830) : 85.27 mmHg lot Y21B34

<b>MISE EN ŒUVRE</b>	
<b>Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :</b>	Bernard POGGI et Delphine BERNARD
<b>Procédure de validation :</b>	PROCEDURE DE VALIDATION/VERIFICATION DES METHODES QUANTITATIVES MU-ANA-DE-001-01 selon les directives du MU-ANA-DE-001-02
<b>Procédure de gestion de la portée flexible :</b>	PROCEDURE DE GESTION DE LA PORTEE D'ACCREDITATION MU-ANA-PG-003
<b>Période d'évaluation :</b>	Du 2 juin au 1 juillet 2013
<b>Date de mise en service :</b>	Le 2 juillet 2013
<b>Autorisation de mise en service par :</b>	Bernard POGGI

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>Pré-analytique :</b>  <b>Prélèvement</b>	Purge suffisante du cathéter en réanimation  Absence de bulles dans la seringue Présence Caillot dans l'échantillon Sang artériel mélangé au sang veineux  Instabilité du patient Agitation douce de la seringue pendant 20 à 30s Température du patient noté Oxygénothérapie précisée Heure du prélèvement noté Volume suffisant	Manuel de prélèvement du LBMMS Version 1 Cf : MU-PréA-PG-003 e-learning  Eviter les erreurs pré-analytiques liées aux analyses de gaz du sang. Cf : NB-PréA-EX-001-01
<b>Transport</b>	Température de transport d'échantillon	Transport à température ambiante Cf : Changes in oxygen measurements when whole blood is stored in iced plastic or glass syringes. Clin Chem 1991; 37: 1244-48.
<b>Laboratoire</b>	Enregistrement des gaz du sang	Cf : Reception tri enregistrement des examens MU-PréA-MT-003-01
<b>Type d'échantillon primaire : Sang artériel, sang veineux, artère ombilicale, veine ombilicale, capillaire</b>  <b>Type de récipient : seringues RADIOMETER</b>	Seringue héparinée Remplissage correct de la seringue Caillot Volume minimum	Manuel de prélèvement du LBMMS Version 1 Cf : MU-PréA-PG-003
<b>Prétraitement de l'échantillon</b>	Echantillon homogène	Agitation mécanique : Bille dans la seringue SafePICO agitée mécaniquement dans l'agitateur, du passeur de l'ABL800 FLEX Cf : Mode opératoire NB-ANA-MT-054-01  Agitation manuelle Cf : feuille en cours de réalisation
<b>Main d'œuvre : Biologiste Technicien du poste GDS Interne</b>	Maitrise de l'ABL 825 Connaissance des procédures Absence de bulle Absence de caillot	Habilitation du personnel Médical et non médical à l'ABL 825 Cf : NB-RH-DE-021-001  Cf : Mode opératoire NB-ANA-MT-054-01

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>Conditions ambiantes requises :</b>	Température entre +15 et +30°C Humidité entre 20 et 80 %	Relevé des températures de la pièce O-03-44 Procédure de suivi des températures avec le logiciel SIRIUS : MU-ACHAT-PG-001 avec Locaux chauffés et climatisés
<b>Référence du réactif :</b>	Utilisation des bons réactifs  Date de péremption  Limite d'utilisation après ouverture	Lecture du code barre des réactifs  Dates de péremption gérées par la CARF  Utilisation au-delà de la date de péremption et de la durée limite de stabilité à bord bloquée par l'analyseur Cf : Mode opératoire NB-ANA-MT-054-01
<b>Matériau de référence :</b>	Utilisation des bonnes solutions de calibration  Date de péremption  Limite d'utilisation après ouverture	Lecture du code barre des solutions de calibrations  Dates de péremption gérées par la CARF  Utilisation au-delà de la date de péremption et de la durée limite de stabilité à bord bloquée par l'analyseur.
<b>Equipements : Exigences métrologique Exigences informatiques spécifiques</b>	Maintenance ABL 825  Validation Analytique des résultats	Sous la responsabilité de Radiometer par le contrat de maintenance d'une durée de 7 ans.  Cf : Manuel d'utilisation de MPLV5. Lab production manager v5.5.2  Habilitation du personnel Médical et non médical à l'ABL 825 Cf : NB-RH-DE-021-001

## EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

La confirmation des performances au laboratoire a été menée sur des échantillons contrôles fournis par la société RADIOMETER, qui est le fabricant des ABL 825 FLEX.

### Répétabilité:

L'essai de répétabilité a été mené sur 3 niveaux de contrôles fournis par RADIOMETER et choisis en fonction de leurs valeurs physiopathologiques.

- contrôle BAS : lot 505
- contrôle MOYEN : lot 446
- contrôle HAUT : lot 528

30 essais ont été réalisés pour chaque niveau sur une période de 11 jours du 31/05/2013 au 10/06/2013 afin d'obtenir une valeur statistique élevée. Les objectifs analytiques fixés sont ceux de la SFBC.

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (kPa)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite SFBC	CV (%) limite RICOS	Conclusion
Echantillon niveau 1 BAS	30	1,68	0,0478	2,85	N.A	4,5	4,8	Conforme
Echantillon niveau 2 MOYEN	30	5,14	0,0445	0,87	N.A	3,8	4,8	Conforme
Echantillon niveau 3 HAUT	30	8,50	0,0683	0,80	N.A	3,8	4,8	Conforme

**Conclusions :** Conforme

### Fidélité intermédiaire :

La fidélité intermédiaire a été établie sur 30 jours du 19/06/2013 au 19/07/2013 sur 4 niveaux. 30 échantillons contrôles ont été mesurés pour chaque niveau. Les objectifs analytiques fixés sont ceux de la SFBC.

- contrôle EXTRÊME : lot 505
- contrôle BAS : lot 530
- contrôle MOYEN : lot 538
- contrôle HAUT : lot 353

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne (kPa)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite SFBC	CV (%) limite RICOS	Conclusion
Echantillon niveau 1	30	1,63	0,0922	5,65	N.A	6,0	5,3	Conforme
Echantillon niveau 2	30	5,14	0,0784	1,53	N.A	5,0	5,3	Conforme
Echantillon niveau 3	30	8,68	0,0681	0,78	N.A	5,0	5,3	Conforme
Echantillon niveau 4	30	12,25	0,1796	1,47	N.A	5,0%	5,3%	Conforme

**Conclusions :** Conforme

### Justesse (approche de la) :

Cas des contrôles internes externalisés

Compte tenu de l'absence de données de qualité internes et externes au moment de la validation initiale, la justesse n'a pas pu être calculée. Elle sera calculée au cours du suivi de la validation de méthode.

#### **Exactitude :**

##### Cas des contrôles externes ponctuels

Compte tenu de l'absence de données de qualité internes et externes au moment de la validation initiale, l'exactitude n'a pas pu être calculée. Elle sera calculée au cours du suivi de la validation de méthode.

### **INCERTITUDES**

Compte tenu de l'absence de données de qualité internes et externes au moment de la validation initiale, l'incertitude de mesure n'a pas pu être calculée. Elle sera calculée au cours du suivi de la validation de méthode.

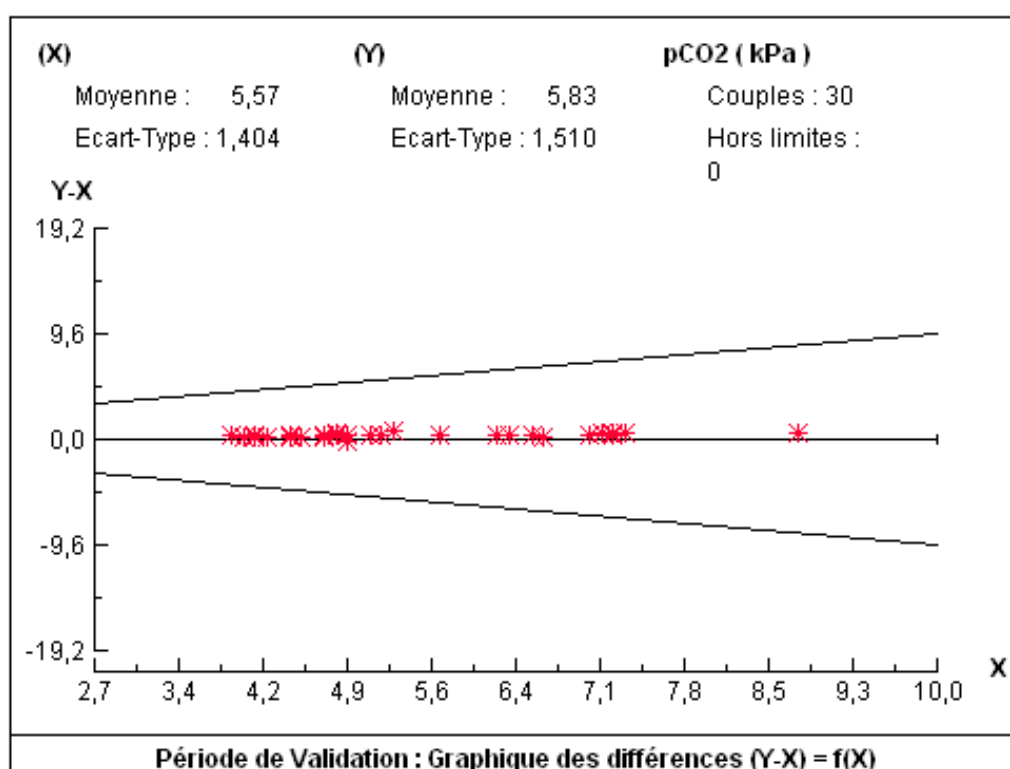
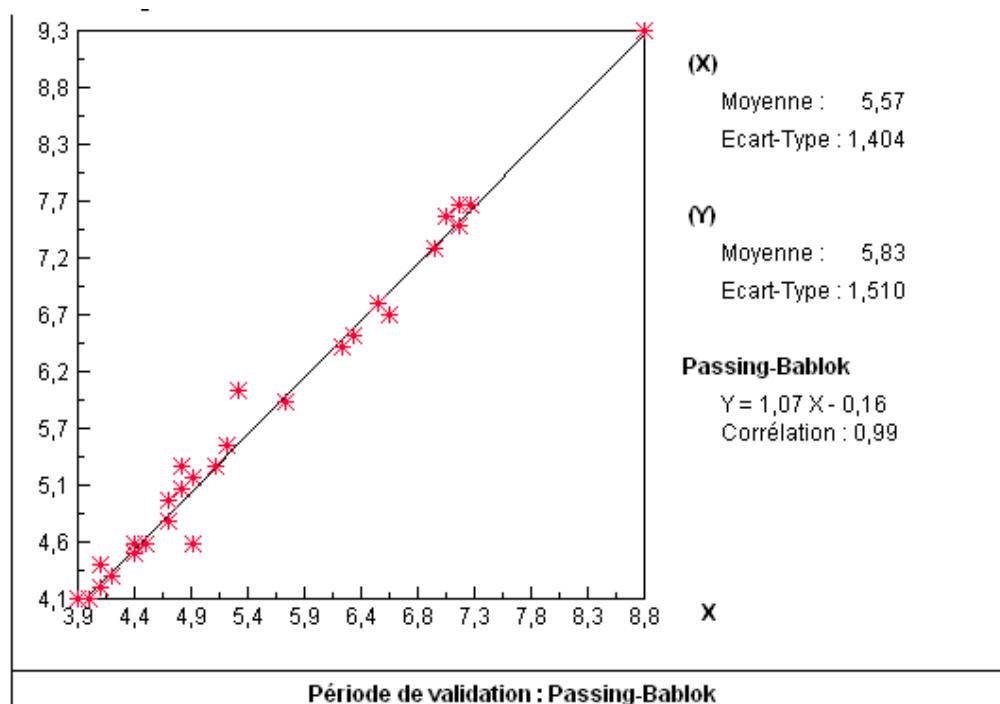
Elle sera évaluée à l'aide des CIQ et CIL (Comparaison Inter Laboratoires).

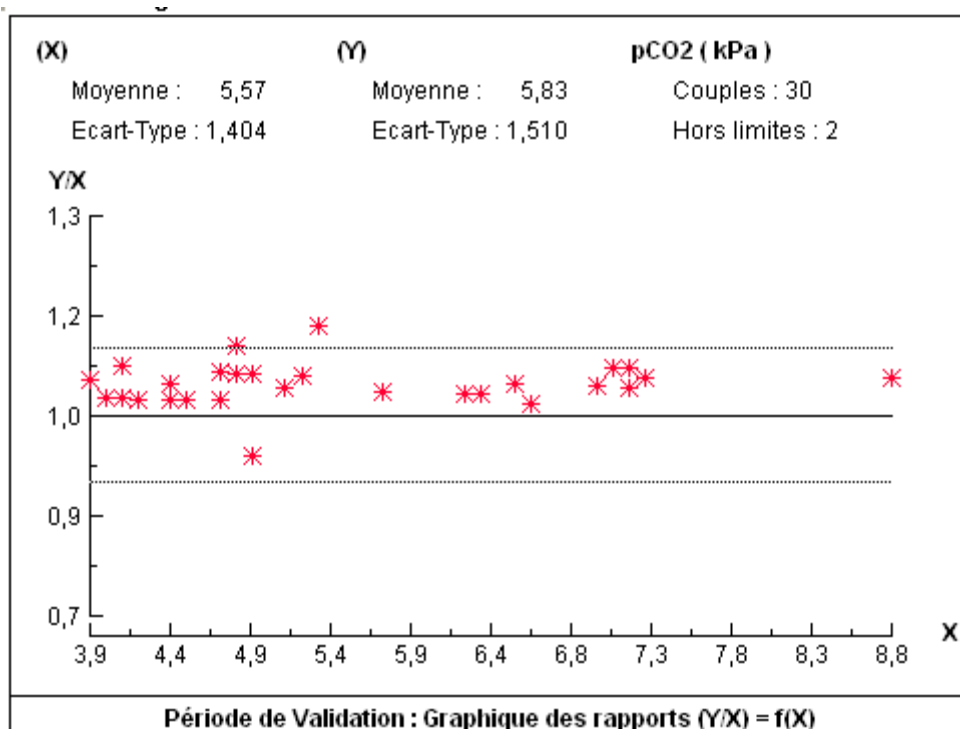
### **COMPARAISON DE METHODES :**

<b>Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :</b>	Les limites de suivi ont été déterminées à partir des écarts-type de 30 échantillons de patients testés sur chacun des deux analyseurs ABL 825 FLEX
<b>Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou EBMD :</b>	Comparaison entre les résultats sur l'ABL LABO1 et sur l'ABL LABO2
<b>Nombre de mesures :</b>	30
<b>Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire :</b>	oui
<b>Méthode d'exploitation des résultats :</b>	Logiciel Excel 2010 et VALTEC
<b>Equation de la droite de régression :</b>	$y = 1.07x - 0.16$
<b>Diagramme des différences :</b>	% de couples hors limite: 0%
<b>Diagramme des rapports :</b>	% de couples hors limite: 7%


**Conclusion :** Les résultats des tests de comparaison entre l'ABL LABO1 et l'ABL LABO2 sont satisfaisants et répondent à nos exigences.

La méthode d'analyse des gaz du sang utilisée par le laboratoire est la méthode de référence. Une étude de comparaison en miroir a été effectuée entre les résultats obtenus sur l'analyseur **ABL 825 LABO 1** et ceux de l'analyseur, le **ABL 825 LABO 2**. Les données fournies pour la comparaison de méthode ont été obtenues à l'aide du logiciel VALTEC et des graphiques suivant :





INTERVALLE DE MESURE (indispensable en portée B) (si possible et pertinent, ex : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH) :	
Mode de détermination :	Bibliographie : Document RADIOMETER
Limite inférieure de linéarité (de quantification)/ Profil de fidélité :	0,67 kPa
Limite supérieure de linéarité :	33,3 kPa

INTERFERENCES (ex : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) :	
Vérification bibliographique :	 Interférences sur ABL700.pdf Pas d'interférence sur la mesure de la pCO2
Vérification :	Non nécessaire

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

**Commentaires éventuels :**

Méthode conforme à l'utilisation au Laboratoire de Biologie médicale pour les patients concernés.

Lyon, le

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon est engagée dans une démarche de lutte contre le plagiat. De ce fait, une sensibilisation des étudiants et encadrants des thèses a été réalisée avec notamment l'incitation à l'utilisation d'une méthode de recherche de similitudes.

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -  
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

**BERNARD Delphine**

**« Evaluation des performances des analyseurs de Gaz du sang ABL 825 dans le service de Biochimie Nord HCL »**

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2015.

**RESUME**

Depuis la réforme de la biologie en 2010, les laboratoires de biologie médicale sont engagés dans une démarche d'accréditation obligatoire dont l'objectif est d'apporter au patient la garantie qu'ils sont aptes à réaliser les analyses dans les meilleures conditions et à fournir des résultats fiables.

L'objectif de ce travail est d'évaluer les performances des analyseurs de gaz du sang : les ABL 825<sup>®</sup> de Radiometer à travers la vérification/validation de la méthode de dosage selon la norme NF EN ISO 15189. L'aptitude de cette méthode se doit d'être vérifiée suite à l'arrivée de trois nouveaux analyseurs dans le service de Biochimie de l'hôpital Nord HCL et au rôle important de cet examen biologique dans la prise en charge des patients en service de réanimation.

Dans un premier temps, les recherches bibliographiques dans l'état de l'art et les données fournisseurs, nous ont permises de fixer les critères attendus de performance, les limites d'acceptabilité et les niveaux des échantillons testés. Dans un deuxième temps, nous avons étudié le fonctionnement des ABL 825 et leur méthode de dosage. De cette étude est ressortie les points critiques à maîtriser des phases pré-analytique, analytique et post-analytique .

La présentation des résultats, suite au plan d'expérience réalisé au sein du laboratoire et leur analyse nous a permis de conclure sur l'aptitude de la méthode de dosage. Enfin, notre discussion s'est portée sur les avantages de ses nouveaux analyseurs et la fiabilité de leur procédure analytique, ainsi que sur le rôle important des données fournisseurs.

**MOTS CLES**

Gaz du sang  
Qualité  
Accréditation  
Validation de méthode

**JURY**

Madame Christine VINCIGUERRA (PU-PH)  
Monsieur Bernard POGGI (PH)  
Monsieur Richard COHEN (PU-PH)  
Monsieur Julien FOUQUE (Directeur qualité site)

**DATE DE SOUTENANCE**

Jeudi 10 Décembre 2015

**ADRESSE DE L'AUTEUR**

8 cours Lafayette, 69003 LYON