

Maîtrise du processus analytique de la Numération Formule Sanguine : comment et pourquoi ?

Mastering the analytical process of the Complete Blood Count: how and why?

Djinane Bouhsane¹
Noussaiba Bernous²
Rouaissa Mokrane²
Hana Chaguetmi²
Ines Ouchetati²
Imen Houar¹
Farah Chouia³
Khaled Bouzenda¹
Raouf Zouiten⁴
Khalil Reggam⁴

¹ Département de pharmacie, Faculté de médecine, Université de Constantine, Service d'hémobiologie et Centre de transfusion sanguine, CHU Constantine, Algérie
<djinane.bouhsane@univ-constantine3.dz>

² Département de pharmacie, Faculté de médecine, Université de Constantine, Algérie

³ Service d'hémobiologie et Centre de transfusion sanguine, CHU Constantine, Algérie

⁴ Département de pharmacie, Faculté de médecine, Université de Constantine, Unité d'hémobiologie, Laboratoire central, Hôpital militaire régional universitaire HMRU, Constantine, Algérie

Résumé. Ce travail représente une étude prospective réalisée au service d'hémobiologie et centre de transfusion sanguine du centre hospitalier universitaire (CHU) Dr Ben Badis de Constantine, durant une année (du 1^{er} janvier au 31 décembre 2018). Le travail a porté sur la maîtrise des processus analytiques de la NFS nécessitant une démarche obligatoire portant sur les compétences techniques et organisationnelles du laboratoire tout en respectant la norme ISO 15189. Cela passe par une maîtrise des processus supports (ressources humaines, informatique, matériels, locaux, réactifs et gestion documentaire) indispensables au bon fonctionnement des procédures analytiques, une évaluation des performances des analyseurs d'hématologie (Advia® 2120i I et II et 560) et une mise en place et une gestion du contrôle de qualité (interne et externe). L'évaluation des performances analytiques des analyseurs Advia a fourni des résultats fiables, reproductibles et stables pour une utilisation de l'automate de routine. On observe une bonne corrélation inter-machine et une bonne performance du laboratoire en termes d'évaluation externe de la qualité avec le laboratoire de l'hôpital militaire.

Mots clés : hémogramme, qualité, processus analytique, ISO 15189, système de management de la qualité

Abstract. This is a prospective study realized at the level of the hematology department and blood transfusion center of the University Hospital Center (CHU) of Dr Ben Badis of Constantine and spread out over a period of one year (from January 1st to December 31st). The work focused on the analytical processes mastery of the NFS needs a compulsory step concerning technical and organizational laboratory skills respecting the ISO 15189 laws going through a mastery of support processes (human resources, informatics, materials, documents, management) indispensable for the good function of analytic proceedings, a performance evaluation of the hematology analyzer Advia (2120 I and II and 560) and quality control management (intern, extern). The analytic performance evaluation of Advia gives reliable results reproducible and stable for use of the routine automatised good inter-machine correlation and laboratory performance in terms of the quality extern evaluation with military hospital laboratory.

Key words: blood count, quality, analytical process, ISO 15189, quality management system

Article reçu le 12 novembre 2019,
accepté le 23 décembre 2019

Correspondance : D. Bouhsane
<djinane.bouhsane@univ-constantine3.dz>

L'hémogramme (NFS) est l'examen d'hématologie le plus prescrit en raison de ses indications très nombreuses. La qualité de l'hémogramme a été améliorée par les analyseurs d'hématologie cellulaires (AHC) en donnant des résultats précis et reproductibles rapidement. C'est pourquoi la recherche de la qualité est devenue une préoccupation essentielle et constante du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire [1]. Étant donné les contraintes de la pratique courante de l'hématologie automatisée, provoquées par la non disponibilité et/ou le problème de conservation limités des CIQ, tout laboratoire de biologie médicale (LAM) doit avoir une stratégie définie en matière de maîtrise des différents processus en particulier analytique [2]. Ceci nous a conduit à évaluer la maîtrise du processus analytique de la NFS au laboratoire d'hémobiologie selon la norme ISO 15189 (processus supports, validation de méthodes, contrôle de qualité) [3] afin d'assurer en permanence la qualité de rendu des résultats.

Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude prospective, réalisée au niveau du service d'hémobiologie et centre de transfusion sanguine, CHU Dr Ben Badis de Constantine (CHUC), étalée sur une période d'une année (janvier-décembre 2018).

Le travail consiste à :

- étudier les processus support de laboratoire indispensables au bon fonctionnement des procédures analytiques : ressources humaines (étude de la composition de l'équipe du laboratoire et la qualification du personnel (laborantins de santé publique, biologistes) à l'aide d'une fiche d'évaluation des compétences [4] ; locaux, matériels et

Tableau 1. Principaux résultats de l'évaluation des processus support.

Exigences	Résultats
Locaux et conditions environnementales ?	Conformes
Équipement de laboratoires, réactifs et consommables ?	Conformes
Informatique	Non conformes
Maîtrise des documents	Conformes

réactifs, informatiques et gestion documentaire à l'aide d'une fiche d'évaluation du respect des exigences techniques selon la norme ISO 15189 :2012 [5] ;

- évaluer les performances des AHC Advia® 2120i (I, II) ; Advia 560 avec une comparaison de méthodes tout en respectant les recommandations du comité international pour l'évaluation d'automates d'hématologie (ICSH : *international council for standardization in haematology*) [6]. L'évaluation porte sur la répétabilité, la reproductibilité, la contamination inter-échantillons, la stabilité, et la comparaison de méthodes selon Bland et Altman ;

- mettre en place et gérer le contrôle de qualité de l'hémogramme automatisé (interne et externalisé) en utilisant des échantillons biologiques (prélevés sur tubes EDTA) de sujets adultes et pédiatriques hospitalisés et ambulatoires. La sélection des échantillons est faite en respectant les niveaux de concentration des paramètres (haut, normal, bas). Les passages des CIQ se font au démarrage, après maintenance et après changement de réactifs. Les données sont ensuite extraites et compilées sur un fichier Excel permettant l'évaluation des coefficients de variation [7-9]. Les résultats de la moyenne mobile [10] sont extraits de l'Advia

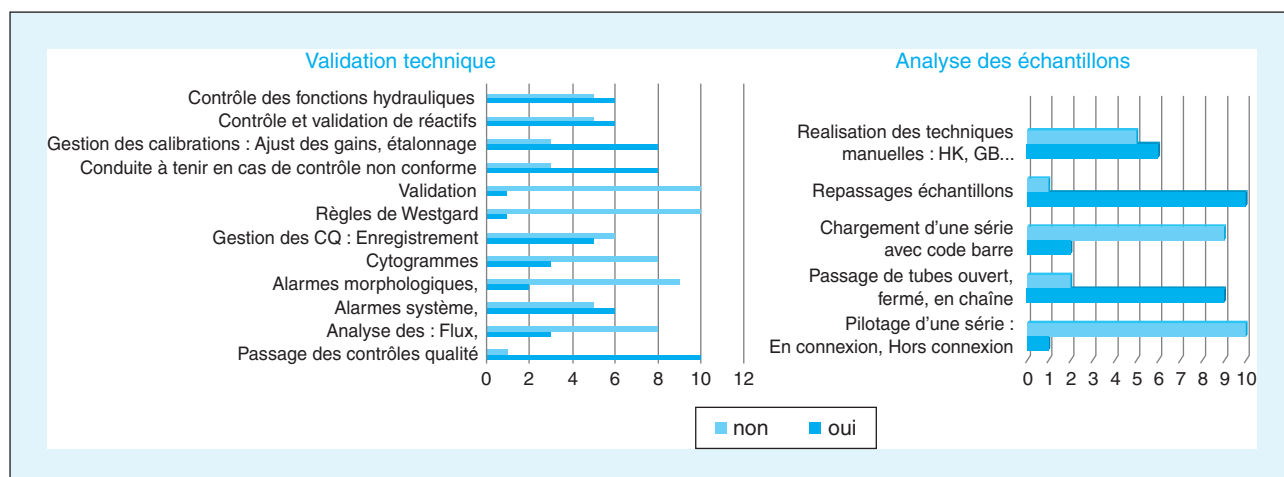


Figure 1. Résultats de l'évaluation des compétences du personnel sur le processus analytique.

Tableau 2. Résultats de l'évaluation de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire.

Paramètre	Répétabilité		Fidélité intermédiaire		Conclusion
	CV (%)	CV (%) Ricos	CV (%)	CV (%) Ricos	
GB (G/L)	2,40	4,1	1,61	5,5	Conforme
	2,01		3,35		
	2,12		3,42		
GR (T/L)	1,19	1,2	2,06	2,4	Conforme
	0,76		1,13		
	1,12		1,88		
Hb (g/L)	1,19	1,6	0,48	1,4	Conforme
	0,72		0,67		
	1,55		0,51		
VGM (fL)	0,57	0,70	0,48	0,7	Conforme
	0,51		0,47		
	0,70		0,30		
CCMH (%)	0,60	0,6	0,60	1,3	Conforme
	0,56		0,63		
	0,46		0,73		
Retic (G/L)	3,86	6,2	0,30	8,3	Conforme
	0,57		0,75		
	0,89		0,76		
PLQ (G/L)	4,55	5,1	4,44	4,6	Conforme
	2,42		1,75		
	3,08		2,98		
NEUT (G/L)	2,87	6	4,40	8,1	Conforme
	3,19		0,93		
	3,98		3,55		
LYM (G/L)	4,74	5,9	4,55	5,2	Conforme
	4,10		4,18		
	5,93		2,81		
MONO (G/L)	9,12	10	10,59	13,4	Conforme
	5,83		5,89		
	9,41		3,64		
EOS (G/L)		11,8	15,05	15,8	Conforme
	10,39		15,05		
	4,33		4,81		

GB : globules blancs ; GR : globules rouges ; Hb : hémoglobine ; VGM : volume globulaire moyen ; CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; Retic : réticulocytes ; PLQ : plaquettes ; NEUT : polynucléaires neutrophiles ; LYM : lymphocytes ; MONO : monocytes ; EOS : éosinophiles

2120i. Le contrôle inter-machines [11] est réalisé au quotidien sur les trois automates du service et les résultats des moyennes, des écarts types et des coefficients de variation sont comparés aux données Ricos. Des cartes de contrôle sont ensuite exploitées à l'aide des règles de Westgard. Le contrôle interne externalisé est fait en collaboration avec le laboratoire central de l'Hôpital Militaire régional Univer-

sitaire de Constantine (HMRUC) (Beckmann LH780) en analysant cinq échantillons de sang, de patients, de différents niveaux de concentration (haut, bas et normal) avec une fréquence fixée à une fois par mois. Les paramètres étudiés sont ceux mesurés et calculés et les résultats des moyennes, des écarts types, la justesse et la fidélité sont ensuite comparés [12-15].

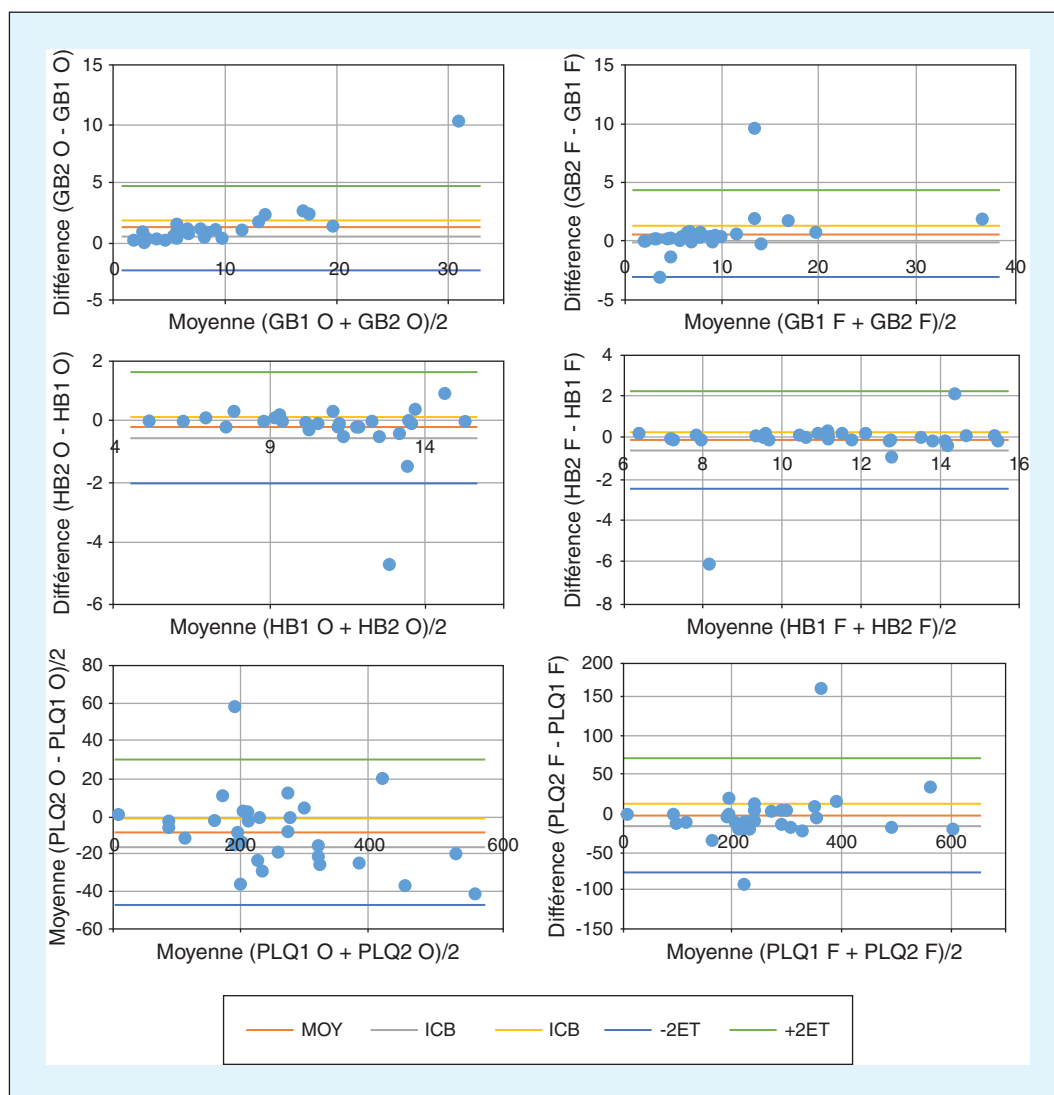


Figure 2. Résultats de la comparaison de méthodes.

Résultats

Maîtrise des processus support

L'exploitation des données a permis de montrer une bonne gestion des différentes phases (pré-analytique, analytique et post-analytique) par le personnel malgré l'expérience courte (une année pour la moitié du personnel) (figure 1), un respect des normes applicables aux locaux et conditions environnementales (sauf étanchéité). Les automates sont installés en respectant les exigences des fournisseurs. Les réactifs sont vérifiés et stockés selon les exigences du fabricant tout en assurant la traçabilité des entrées et des sorties (fiches de stock). La gestion documentaire est bien assurée pour le processus. (tableau 1).

Évaluation des performances analytiques des HAC

Dans l'ensemble, les données de répétabilité obtenues pour tous les paramètres sont conformes aux CV limites Ricos. Les performances de reproductibilité se sont avérées conformes à celles attendues pour tous les paramètres de l'hémogramme (tableau 2). La contamination inter-échantillons est absente pour tous les paramètres en mode fermé (< 1 %). Nous avons évalué directement l'accord entre les automates grâce à l'intervalle de confiance à 95 % des biais. Centré sur la moyenne des différences, il s'étend de +2 à -2 écarts types. Une meilleure corrélation entre les deux automates Advia 2120i est constatée pour les deux modes (tube ouvert et tube fermé) sur presque tous les paramètres (figure 2).

Tableau 3. Résultats du contrôle de qualité inter machines (mois de mars).

Mars	Niveau	CV		Moyenne des CV	CV Ricos
		Advia 2120i 1	Advia 560		
GB	N	0,73	1,43	1,08	5,5
	H	4,28	2,25	3,27	
GR	B	0,78	0,38	0,58	2,4
	N	1,3	1,35	1,33	
	H	0,35	1,24	0,80	
Hb	N	0,08	0,52	0,30	1,6
VGM	B	0,34	0,45	0,40	0,7
	N	0,34	0,82	0,58	
	H	0,31	0,52	0,42	
PLQ	B	4,53	3,73	4,13	5,1
	N	2,4	2,22	2,31	
	H	4,45	3,48	3,97	

GB : globules blancs ; GR : globules rouges ; Hb : hémoglobine ; VGM : volume globulaire moyen ; PLQ : plaquettes ; N : niveau normal ; H : niveau élevé ; B : niveau bas.

Contrôle de la qualité de l'hémogramme automatisé

Les résultats des coefficients de variation (CV) pour le contrôle interne de qualité (CIQ) sont inférieurs ou égaux aux CV Ricos pour tous les mois étudiés (conformes), à l'exception du niveau haut des globules blancs (GB) du mois de février. Les résultats de la moyenne mobile du taux corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH) sont normaux seulement pour une petite série homogène. Pour le contrôle inter-machine, les CV sont inférieurs aux CV Ricos (conformes) à l'exception de l'Advia 2120i 1 et Advia 560 respectivement pour les GB et les globules rouges (GR) niveau haut (*tableau 3*).

En utilisant les règles de Westgard (*figure 3*), les valeurs de la majorité des paramètres sont comprises dans l'intervalle de conformité (moyenne +/- 2 écarts types), à l'exception de quelques valeurs.

Pour le CIQ externalisé (*tableau 4*), les calculs de fidélité ont montré que les deux Advia 2120i représentent une performance équivalente ou supérieure à celle du Beckmann LH 780. Les calculs de justesse ont montré des valeurs proches de 0 pour tous les paramètres, ce qui traduit l'absence du biais par rapport au groupe.

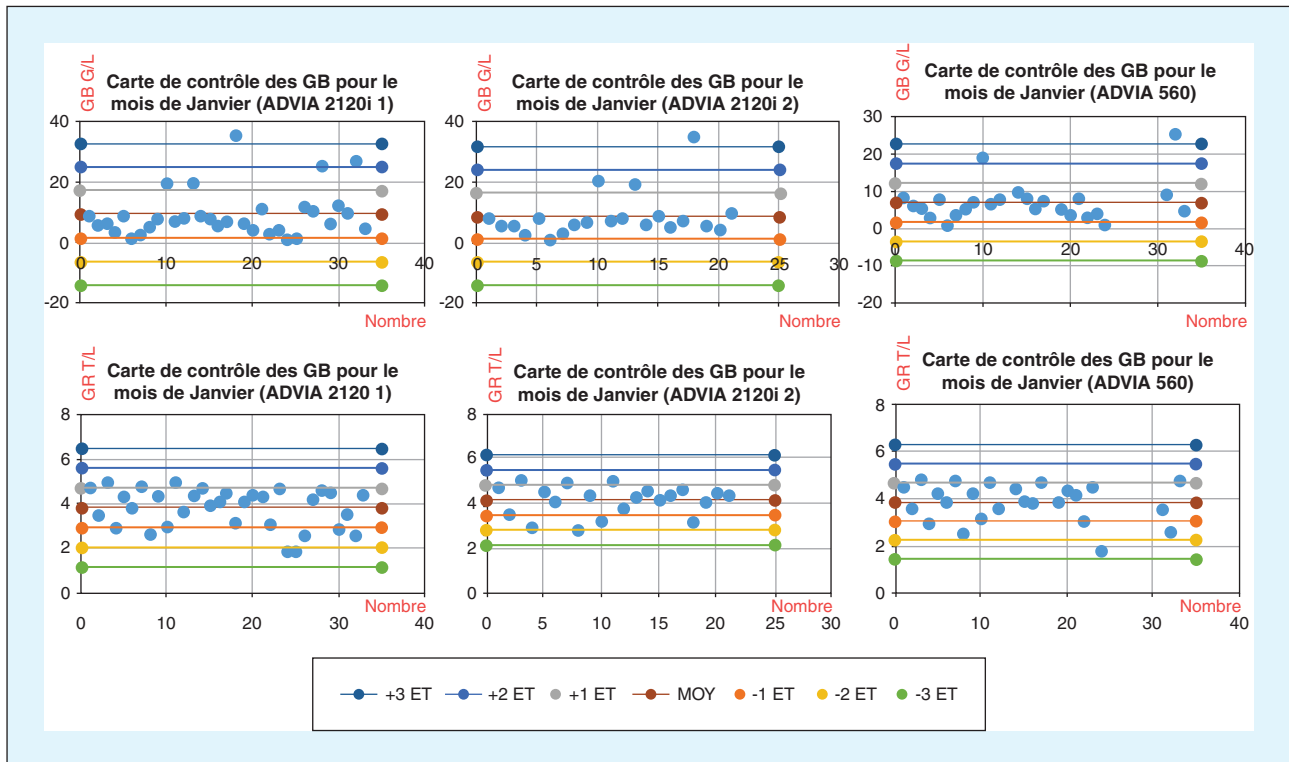


Figure 3. Cartes de contrôles de Westgard appliquées au contrôle inter-machines.

Tableau 4. Résultats du CIQ externalisé (comparaison inter-laboratoires pour le mois de mai).

Paramètres et niveaux de contrôle		Moyenne CHU	Moyenne du groupe	ET CHU	ET du groupe	justesse	fidélité
GB	B	3,85	2,9	0,21	1,37	0,66	0,15
	N	7,16	7,28	2,62	2,52	-0,05	1,03
	H	11,98	12,14	1,25	0,22	-0,70	0
GR	B	3,4	3,12	0,52	0,62	0,44	0,82
	N	4,88	4,72	0,54	0,3	0,39	1,38
Hb	B	9,72	9,18	1,35	1,73	0,31	0,77
	N	14,6	14,12	1,41	1,16	0,40	1,21
Hte	B	30,33	28,07	4,88	6,02	0,37	0,81
	N	45,6	42,42	4,54	2,30	0,37	0
VGM	B	76	76,15	5,37	6,43	-0,02	0,83
	N	90,8	89,11	5,52	5,67	0,29	0,97
CCMH	B	24,55	26,94	2,75	4,3	-0,55	0,64
	N	31,16	36,73	1,84	18,67	-0,29	0,09
	H	37,5	19,1		25,92	0,70	0
Lym	B	0,80	0,78	0,10	0,12	0,16	0,80
	N	2,21	2,26	0,94	0,87	-0,05	1,07
Mono	B	0	0,05		0,07	-0,70	0
	N	0,52	0,49	0,15	0,20	0,16	0,74
	H	0,71	0,59		0,30	0,38	0
Baso	N	0,006	0,02	0,01	0,03	-0,56	0,42
Neut	B	2,1	2,46		3,26	-0,11	0
	N	3,74	3,65	1,57	1,48	0,06	1,06
	H	8,47	8,21	1,59	1,21	0,21	1,31
Eosi	B		0,003		0,005	-0,57	0
	N	0,12	0,14	0,10	0,12	-0,15	0,85
	H	0,6	0,55		0,06	0,70	0
PLQ	B	46,5	40	47,31	43,72	0,14	1,08
	N	265,16	258,90	60,50	56,79	0,11	1,06

GB : globules blancs ; GR : globules rouges ; Hb : hémoglobine ; Hte : hématocrite ; VGM : volume globulaire moyen ; CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; Lym : lymphocytes ; Mono : monocytes ; Baso : basophiles ; Neut : neutrophiles ; Eosi : éosinophiles ; PLQ : plaquettes ; ET : écart type.

Discussion

Évaluation des processus supports

La gestion des ressources humaines est un point crucial dans la démarche qualité. Le laboratoire comporte une population hétérogène de personnel de différents corps et grades. Notre interrogatoire était destiné aux biologistes et aux paramédicaux. Sur 13 personnes, 11 ont accepté d'être questionnées. La maîtrise des différentes phases du processus analytique est très satisfaisante grâce à des formations en continu, en fonction des anomalies constatées et concernant toutes les phases du processus d'analyse pour mieux actualiser les connaissances et maîtriser ce processus. Le laboratoire respecte les normes applicables aux locaux des laboratoires d'analyses médicales décrits dans la norme ISO 15 189.

Le problème d'instabilité électrique a été résolu par l'installation de stabilisateurs et d'onduleurs. Le problème d'étanchéité est désormais résolu.

Le laboratoire n'utilise pas de système informatique, mais cela fait partie des projets d'amélioration des processus de la réception des demandes des NFS jusqu'au rendu des résultats. Aujourd'hui, on utilise des registres d'activité de routine et d'urgences, des registres de contrôles de qualité et des feuilles de postes.

La gestion documentaire est assurée par des procédures et des modes opératoires de réception, de vérification et d'analyse des échantillons, des programmes de maintenances spécifiques à chaque automate et des contrôles de qualités avec leurs résultats.

Qualité des procédures analytiques

L'étude des performances analytiques des Siemens Advia (2120i, 560) est une exigence de la norme ISO 15 189. Elle s'est révélée satisfaisante, de façon concordante avec plusieurs autres études [16, 17].

La comparaison de méthodes est faite selon Bland et Altman dans un but de déterminer si les AHC installés rendent des valeurs cliniquement équivalentes. La concordance parfaite entre les deux Advia 2120i est confirmée par d'autres études [18]. L'homogénéité des techniques utilisées par les deux automates est certainement à l'origine des faibles biais observés.

Contrôle de la qualité de l'hémogramme automatisé

La moyenne mobile a été évaluée uniquement pour la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH). La moyenne mobile ne peut être utilisée pour un CIQ en routine suite à des variations très importantes (séries hétérogènes), et cela concorde avec l'étude de Veyrat [11]. Le contrôle inter-machine a révélé une légère augmentation des CV pour GB niveau H de l'Advia 560, ainsi que les PLQ niveau H, de l'Advia 2120i II, ce qui a nécessité l'intervention des ingénieurs spécialisés. Une bonne corrélation inter-machines a été confirmée à partir du mois de mars. Ces résultats sont proches des ceux obtenus par Branger en 2014 [19].

Selon Westgard, les résultats sont parfaits à l'exception d'une seule valeur hors limite en mois de février nécessitant une vérification de la calibration.

Pour la comparaison inter-laboratoires, toutes les valeurs de fidélité sont inférieures à 2 et les valeurs de justesse sont proches de 0, concordant avec celles de Veyrat [11].

Une collaboration étroite entre les deux laboratoires en matière d'évaluation externe de la qualité doit être mise en place avec définition des niveaux de contrôles, les fréquences et les mesures correctives à prendre pour une amélioration continue.

Conclusion

Pour parvenir à l'amélioration de la qualité des résultats d'un laboratoire, il faut s'appuyer sur des documents officiels (normes, référentiels...) afin de suggérer des protocoles adaptables aux conditions générales de chaque laboratoire.

Bien qu'ayant avancé dans sa démarche portant sur les différentes compétences, notre laboratoire doit continuer dans la mise en place des différents processus et des moyens nécessaires à l'amélioration.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Marchal N. La démarche qualité au laboratoire de biologie médicale. *Arch Inst Past Madagascar* 1998 ; 64 : 85-7.
2. Iobagiu C, Nehar D, Denis I, de Saint-Trivier A, Boyer M. Vers les objectifs analytiques pertinents pour les paramètres de l'hémogramme. *Ann Biol Clin* 2014 ; 72(6) : 705-14.
3. Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189 : 2012 SH REE 02.
4. Système de gestion de la qualité au laboratoire. Outil de formation WHO/HSE/IHR/LYO/2009.
5. Charbonnier E, Vaubourdolle M, Pernet P, Gerrier F. Qualité et accréditation en biologie médicale *Ann Biol Clin* 2013 ; 71 (hors série n° 1) : 191-218.
6. Briggs C, Culp N, Davis B, D'onofrio G, Zini G, Machin SJ. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. *Intern J Lab Hematol* 2014 ; 36 : 613-27. <http://www.icsch.org>.
7. Cofrac. Guide technique d'accréditation en biologie médicale. SH GTA 01. Cofrac, 2012.
8. Afnor. <https://www.afnor.org>.
9. Cofrac. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. LAB GTA 06 Révision 00 – Juillet 2005.
10. Lahcene F, Petit J. Evaluation et amélioration de la qualité des soins, vers un « modèle » français. *Soins* 2008 ; 729 : 29-33.
11. Veyrat B. Le plus d'une accréditation en hématologie. Groupe francophone d'hématologie cellulaire. Février 2012. Disponible sur www.gfhc.fr.
12. Moel G, Piton A, Pontzière C. Assurance qualité : contrôle de qualité interne et évaluation externe de la qualité. *Ann Biol Clin* 2000 ; 58 : 103-10.
13. Libeer JC. External quality assessment in clinical laboratories. European perspectives: today and tomorrow. Antwerpen, 1993 : 636.
14. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. A multi rule Shewart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1981 ; 27 : 493-501.
15. Aillaud MF. Norme NF EN ISO 15189 : Gestion, organisation et les normes de contrôle de qualité dans un laboratoire d'hémostase accrédité. Laboratoire de biologie médicale AP-HM, Service hématologie biologique, CHU Timone, DIU Hémostase biologique, Lyon, 26 Janvier 2015.
16. Melet L, Chaigneau C, Lefevre Pettazzoni M. L'évaluation des performances analytiques de l'Advia 2120i dans le laboratoire de biologie médicale du groupe hospitalier public du Sud de l'Oise, France en 2013. *Ann Biol Clin* 2013 ; 71 : 679-91.
17. Nguyen VTP, Vancles P, Rozen L, Noubououssie D, Demulder A. Évaluation de l'automate d'hématologie Sysmex XN-2000® pour une utilisation en routine : comparaison avec l'Advia 2120i®. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2013 ; 28 : 125-32.

18. Harris N, Jou JM, Devoto G, Lotz J, Pappas J, Wranovics D, *et al.* Performance evaluation of the ADVIA 2120 hematology analyzer: an international multicenter clinical trial. *Lab Hematol* 2005 ; 11 : 62-70.

19. Branger M. Démarche qualité en hématologie : application à la maîtrise du processus analytique de la numération formule sanguine. Université de Nantes, UFR sciences pharmaceutiques et biologiques, 2014.