

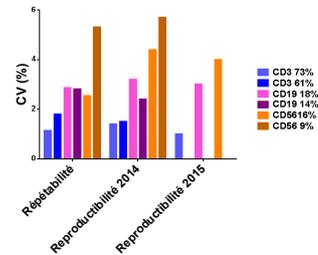
### Accréditation Phénotypage Lymphocytaire B, T ,NK (1)



- ✓ **Vérification sur site** : variabilité intra-run (répétabilité), inter-run (reproductibilité), sur plusieurs niveaux de valeurs (haute, basse, normale...), nombre de passages à évaluer (en fonction du coût des réactifs, du nombre de tests) Etude de la contamination?
- ✓ **Suivre les CQI** : courbes de Levey-Jennings (moy + 2ET, et CV), application des règles de Westgard
- Les différents CIQ sont passés par les techniciens tous les matins, sur tous les appareils (Question : combien de niveaux?)
- Après validation des résultats par ces derniers, les courbes de Levey Jennings générées par le cytomètre, sont imprimées et montrées au biologiste valideur, elles sont agrafées avec les feuilles de résultats de la série du jour.
- En cas de validation, la feuille est signée par le biologiste.
- En cas de rejet, des instructions sont données au technicien pour aider à lever le rejet (changement de lot de réactif, intervention du biomédical et/ou du fournisseur). Chaque intervention est tracée (déclaration de non-conformité).
- Aucun dosage n'est réalisé tant que les CIQ ne sont pas validés, la série est clôturée par un CIQ.

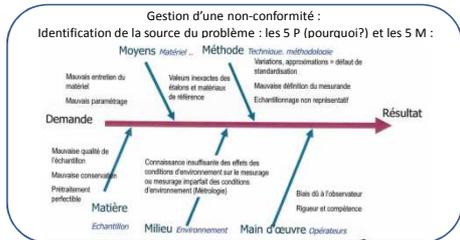
### Les CV du phénotypage lymphocytaire B, T et NK à l'HEGP

- Machines : NAVIOS BECKMAN-COULTER, AS 06030 ,
- Réactifs : Cytostat tétraCHROME™ ref 6607073, IMMUNOPREP Reagent System Whole Blood Lysing ref 7546946



### Accréditation Phénotypage Lymphocytaire B, T ,NK (1)

- ✓ **Suivi des résultats d'EEQ** pour chaque analyte +++ gestion en cas de non-conformité : analyse d'impact : pas de possibilité de repasse des échantillons, analyse des causes, mise en place de mesures correctives, curatives, préventives Attention une NC d'EEQ peut nécessiter une déclaration de réacto-vigilance auprès de l'ANSM



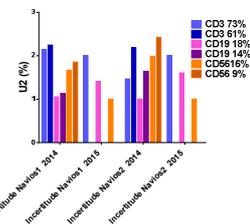
- ✓ **Calcul des incertitudes de mesure** pour chaque analyte (et recalculs tous les ans : suivi des performances)...

### Les résultats des EEQ du phénotypage lymphocytaire B, T et NK à l'HEGP

- UK Neqas :



- Incertitudes de mesure



### Accréditation d'une analyse quantitative (3)

**Attention : si modification du protocole fournisseur, passage en portée B**

Recalcul sur site de nombreux paramètres :

- Limite de détection, de quantification, de linéarité
- Etablissement des seuils de positivité
- Etude des interférences analytiques

Et plus si nécessaire...(ex : anticorps « maison » : étude de stabilité du réactif)

### Accréditer « l'environnement de l'analyse »

**Maîtrise du pré-analytique** : attention aux reco fournisseurs +++

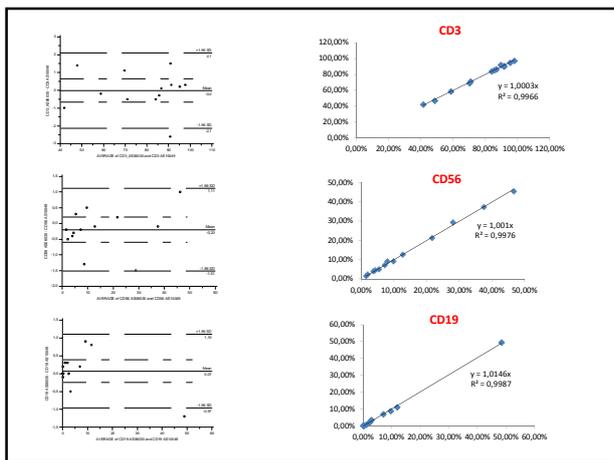
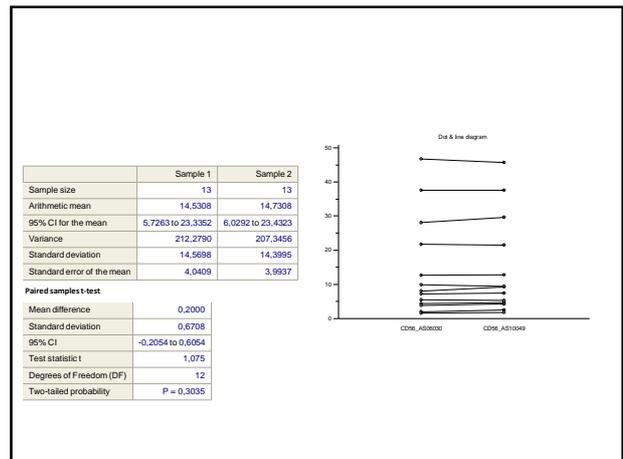
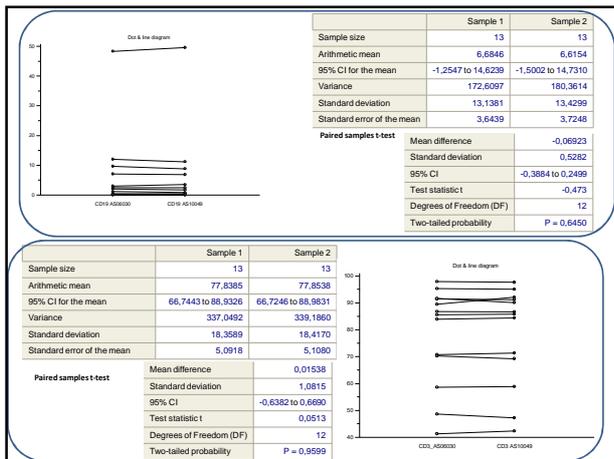
**Rédaction**: des modes opératoires (attention suivi fiche fournisseur), des fiches de postes



**Documents de l'appareil** : suivi de toutes les maintenances

**Qualification des réactifs** : à chaque changement de lot/livraison avant la fin des réactifs précédents

**Procédures en cas de panne** : Prévoir le back-up++  
Validation des appareils en miroir (étude de corrélation), Passer les CIQ et les EEQ ++



**Accréditer « l'environnement de l'analyse » (2)**

**Métrie** : températures (cartographies, enregistrements...), centrifugations, volumes,

**L'habilitation du personnel** :

- PNM : Habilitation initiale + Suivi des validations analytiques, des CQI, suivi nominatif des EEQ
- PM : Habilitation individuelle initiale et suivi des compétences (validations biologiques et EEQ)

**Transmission du résultat** : Validation du circuit informatique++, du circuit de rendu du CR

**Prestation de conseil** :

- Homogénéité inter-biologiste de l'interprétation des résultats,
- Commentaires pré-définis (« Livres de l'interne »),
- Valeurs normales en fonction de l'âge (sur le CR)
- Informations sur le délai de redondance

Si **conservation des échantillons** : faire la preuve des conditions adéquates (capacité à rendre des résultats similaires)

**Conclusions**

Bien qu'issue d'une approche « très biochimique » la démarche COFRAC est applicable à toutes les analyses, pour peu qu'on soit :

- Logique
- Pragmatique
- Et un peu imagitatif !



La partie purement analytique n'est pas la plus dure à mettre en place !  
 L'accréditation de l'environnement peut être valable pour plusieurs groupes d'analyses et pas à re-faire à chaque fois!




**RIHN CYTOKAL**

**Dosage de cytokines et assimilés dans les Liquides biologiques**

**(K054** : Dosage d'une cytokine ou d'un récepteur de cytokines par ELISA ;  
**K055** : Dosage d'une cytokine par cytométrie en flux (technique billes) ;  
 cotation BHN 140)

**Nom et prénom de l'investigateur-coordonateur**  
 Dr. Sébastien VIEL

Laboratoire d'Immunologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon

Co-investigateurs :

1 LE GARFF-TAVERNIER Magali	Paris	Pitié-Salpêtrière
2 PICARD Capucine	Paris	Necker
3 VELY Frédéric	Marseille	Conception
4 LABALETTE Myriam	Lille	CHRU Lille
5 CHRETIEN Pascale	Paris	Bicêtre
6 LACROIX Romaric	Marseille	Conception
7 EVRARD Bertrand	Clermont	Gabriel Montpied
8 GHILLANI Pascale	Paris	Pitié-Salpêtrière
9 CHATENOUX Lucienne	Paris	Necker

### Lymphomes oculo-cérébraux : dosage de l'IL-10 et de l'IL-6

Étude de cohorte prospective sur 2 ans (+ étude de cohorte rétrospective pour certains centres)

- recensement des prescriptions de dosages d'IL-6 et d'IL-10
- collecte des données cliniques pour chaque patient ayant bénéficié de l'approche (diagnostic retenu ; histologie si accessible ; traitement)

#### DUREE DE LA PARTICIPATION DE CHAQUE PATIENT

24 mois

#### DUREE PREVISIONNELLE DU RECRUTEMENT

12 mois

#### NOMBRE ATTENDUS DE PATIENTS ELIGIBLES PAR CENTRE

	Centre	Investigateur		Pays	Nombre Prélevement/mois	Total
		Nom	Prénom			
1	Paris (Pitié)	LE GARFF- TAVERNIER	Magali	France	100	1200
2	Lyon	VIEL	Sébastien	France	34	810
3	Lille	LABALETTE	Myriam	France	10	240
4	Marseille	VELY	Frédéric	France	12	260
5	Paris (Necker)	CHATENOUD	Lucienne	France	24	288

### APPLICATION A CERTAINS DEFICITS IMMUNITAIRES

#### POPULATION D'ETUDE

Patients suspects ou atteints de SAM/ALPS pour lesquels sont prescrits les dosages de FasL, d'IL-10 et de CD25s (cf diagnostic/suivi thérapeutique).

#### PLAN EXPERIMENTAL

Étude de cohorte prospective sur 2 ans (+ étude de cohorte rétrospective pour certains centres)

- recensement des prescriptions de dosages de FasL, IL-10 et CD25s
- collecte des données cliniques pour chaque patient ayant bénéficié de l'approche (diagnostic retenu ; traitement)

#### NOMBRE ATTENDUS DE PATIENTS ELIGIBLES PAR CENTRE

	Cytokine	Centre	Investigateur		Pays	Recrutement attendu/mois	Total
			Nom	Prénom			
1	Fas Ligand	Paris (Necker)	PICARD	Capucine	France	23	552
2		Marseille	VELY	Frédéric	France	1	24
1	IL-10	Paris (Necker)	PICARD	Capucine	France	23	552
2		Marseille	VELY	Frédéric	France	6	144
						1	
2	CD25s	Marseille	VELY	Frédéric	France	2	48

### APPLICATION A CERTAINES MALADIES RARES (POEMS et LAM)

#### POPULATION D'ETUDE

Patients suspects ou atteints de LAM/POEMS pour lesquels sont prescrits les dosages de VEGF-A ou de VEGF-D (cf diagnostic/suivi thérapeutique).

#### PLAN EXPERIMENTAL

Étude de cohorte prospective sur 2 ans (+ étude de cohorte rétrospective pour certains centres)

- recensement des prescriptions de dosages des VEGF-A et -D
- collecte des données cliniques pour chaque patient ayant bénéficié de l'approche (diagnostic retenu ; histologie si accessible ;

#### NOMBRE ATTENDUS DE PATIENTS ELIGIBLES PAR CENTRE

	Cytokine	Centre	Investigateur		Pays	Recrutement attendu/mois	Total
			Nom	Prénom			
1	VEGF-A	Paris (Bichat)	CHRETIEN	Pascale	France	23	552
2		Paris (Pitié)	GHILLANI	Pascale	France	100	1200
3		Lyon	VIEL	Sébastien	France	13	312
4		Marseille	LACROIX	Romanc	France	7	172
5		Clermont	EVRAUD	Bertrand	France	10	250
3	VEGF-D	Lyon	VIEL	Sébastien	France	10	240
4		Marseille	LACROIX	Romanc	France	6	142