

*Validation des méthodes*

# Beckman Coulter®

**Vitesse  
de  
Sédimentation**

# Procédure de validation du TEST 1

## 1. Vérifications « MENU TECHNIQUE » « SETUP »

Touche 5, **Mixing cycle** → 180 (*clear et saisir valeur*)

Touche 6, **Mixing speed** → 2 si tube < 4 ml ou 3 si tube 4ml et plus. (*taper la valeur*)

PS : Un mot de passe protège l'accès à ce menu, voir le manuel d'utilisation.

## 2. Fidélité (précision)

Deux méthodes peuvent être utilisées, les séries appariées ou la répétabilité sur un même tube. Cette dernière doit être limitée à 7 perçages consécutifs, car, au-delà, des particules de bouchon risquent de gêner le prélèvement.

### a. Séries appariées

Prendre 30 tubes EDTA prélevés au laboratoire et analysés préalablement sur l'équipement d'hématologie. Retenir pour cette série des VS correctement distribuées sur une plage allant de 10 à 117 mm/h.

Recommandations :

- Ces tubes ne doivent pas avoir été ouverts
- Ces tubes doivent être correctement remplis.
- Privilégier des tubes prélevés dans le laboratoire.
- Si les tubes ont sédimentés 2 heures ou plus les ré-homogénéiser pendant au moins 10 mns en utilisant l'option Premix de l'Alifax ou un agitateur.
- Prendre de préférence la série du matin.

Effectuer une analyse de ces tubes sur l'Alifax et relever les résultats.

Effectuer une 2° analyse de ces tubes et relever les résultats.

Paramètre	Unité	N (minimum)	Population Minimum	Population Maximum	Difference myenne	ET des Differences
VS	mm/h	30	10	117	-1<M>1	<4

### b. Répétabilité (intra-série)

La précision intra-série est mesurée à partir de 7 passages d'échantillons de sang total prélevés sur K3EDTA et de valeurs de VS comprises entre 10 mm/h et 117 mm/h. Les résultats statistiques des CV% calculés en fonction des niveaux doivent se situer dans les limites ci-dessous. Lors du test de vérification choisir 3 niveaux différents.

Paramètre	Niveau mm/h	Limites
VS	2 à 10	≤ 15 % CV
VS	11 à 20	≤ 15 % CV
VS	21 à 40	≤ 12 % CV
VS	41 à 80	≤ 10 % CV
VS	81 à 120	≤ 8 % CV

### 3. Contamination

Elle est évaluée par analyse comparative d'échantillons de faible valeur de VS et de forte valeur selon le protocole ci-dessous :

- Analyser 3 fois consécutivement la valeur élevée. Les résultats sont identifiés respectivement H1, H2, H3.
- Analyser 3 fois consécutivement la valeur faible. Les résultats sont identifiés respectivement B1, B2, B3.
- Le taux de contamination en % est calculé de la façon suivante :

$$\frac{(B1 - B3)}{(H3 - B3)} \times 100$$

Taux de contamination  $\leq$  %, %

### 4. Corrélation par rapport à la méthode du laboratoire

La comparaison entre les deux méthodes se base sur 31 patients, sélectionnés parmi les échantillons du jour, sur toute la durée de l'évaluation. Les prélèvements choisis sont constitués d'échantillons sans codes de rejet, et situant dans les plages analytiques des deux méthodes. Une comparaison entre la méthode du laboratoire et l'instrument testé est menée par une analyse de corrélation et un calcul de l'équation de la droite de régression, selon la méthode des moindres carrés.

Les résultats de la corrélation entre le Test1 T et la méthode du laboratoire sont résumés dans le tableau ci-dessous.

	Test 1 TH	Méthode laboratoire
Moyenne de la série en mm/h		
Plages de valeurs en mm/h		
Nombre d'échantillons		
Coefficient de corrélation		
Equation de la droite de régression		

Limites d'acceptation :

1. A cause des limitations de la méthode de Westergren et des méthodes dérivées, la corrélation avec le TEST1 peut donner des résultats variables. Si les deux méthodes utilisent des sangs prélevés sur EDTA, le coefficient de corrélation est alors compris entre 0.83 to 0.98.
2. Si les échantillons analysés par la méthode de Westergren ou par une méthode dérivée sont prélevés sur anticoagulant à base de sodium citraté, le coefficient de corrélation avec le TEST1 peut être compris entre 0.70 et 0.80.

### 5. Calcul du biais

Afin d'évaluer la dispersion, le biais moyen entre la méthode du laboratoire et le Test1 T, les deux séries de résultats sont comparées par la méthode de Bland Altman.

Le biais moyen obtenu est calculé et associé à un intervalle de confiance fixé à 95%.

## 6. Autres paramètres de validation

Les autres paramètres requis ne nécessitent pas des tests in-situ et peuvent être documentés par rapport à la bibliographie, voir tableau ci-dessous :

Paramètres à vérifier	Recherche bibliographie	Vérification labo.	TEST
Spécificité	OUI	NON	N/A
Fidélité	OUI	OUI	Test à l'installation
Justesse	OUI	OUI (si possible)	Calcul du Biais test de corrélation
Domaine d'analyse	OUI	Si besoin	Voir spécifications
Sensibilité	OUI	Si besoin	Voir spécifications
Linéarité	OUI	Si besoin et si possible	Voir spécifications
Contamination inter-échantillon	OUI	OUI	Test à l'installation
Stabilité	OUI	Si besoin	Bibliographie
Robustesse	OUI	NON	Bibliographie
Interférences	OUI	Si besoin	Voir spécifications et limites
Valeurs de référence	OUI	(plus tard)	Bibliographie
Corrélation avec méthode de référence	OUI	NON	Bibliographie
Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo	OUI (si existe)	OUI (si possible)	Test à l'installation

## 7. Limitation des méthodes

### a. Limitations de la méthode Westergren et méthodes dérivées

<b>Température</b>	Si l'échantillon est stocké à température ambiante (+18°C to +25°C), le test doit être réalisé dans les 4 heures. Si il est stocké à +4 °C, il doit être remis à température ambiante et le test réalisé dans les 12 heures.
<b>Prélèvement</b>	Tubes sur EDTA. Tubes sur citrate, avec dilution de 4 volumes de sang et 1 volume de citrate. Remarque : Certaines méthodes travaillent avec 9 volumes de sang + 1 volume d'anticoagulant. Cette pratique n'est pas acceptable. (recommandations NCCLS).
<b>Materiels</b>	Diamètre du tube pour la VS, voir recommandations. Plastique utilisé pour les tubes à VS Vibrations et Verticalité des tubes
<b>Citrate</b>	La dilution due à l'anticoagulant citrate induit une imprécision.
<b>Homogénéisation</b>	L'agitation des tubes est importante pour la reproductibilité. Pour des tubes standards (10x12 mm x 75 mm), contenant 5 ml de sang avec une bulle d'air équivalente à 20% du volume du tube) il faut un minimum de 12 inversions complètes avec la bulle d'air se déplaçant du haut vers le bas du tubes.
<b>Hématocrite</b>	Un hématocrite inférieur à 35% provoque une augmentation de la VS.
<b>VMC</b>	Un VMC inférieur à 80 fl induit une sous-évaluation de la VS, Un VMC supérieur à 90 fl induit une augmentation de la VS liée à la viscosité du sang et à la morphologie des cellules érythrocytaires.

## **b. Limitations de la méthode TEST 1**

<b>Agglutinines froides</b>	L'enceinte de mesure est régulée, limitant l'influence des agglutinines froides. Cette influence est directement liée au titrage de ces dernières.
<b>Hématocrite&lt;20%</b>	Le résultat est signalé par une * (astérisque) pour alerter l'opérateur d'un éventuel hématocrite bas (moins de 20%). Les TEST 1 ne mesurent pas l'hématocrite mais en font l'estimation. Vérifier l'hématocrite avant de rendre le résultat.
<b>Volume de sang</b>	TEST1 est conçu pour travailler sur des tubes bouchés de 5 ml. Pour des tubes contenant plus de 3 ml de sang un passage sur l'analyseur d'hématologie pour mise à l'atmosphère est recommandé avant analyse sur le TEST 1.
<b>Dimensions des tubes</b>	Les dimensions des tubes sont celles des tubes standards 13 x 75 mm. Si des tubes différents sont utilisés, il est recommandé de vérifier leur compatibilité avec le TEST 1 avant de démarrer l'analyse.