

# SEED Hématologie



## Matériaux de contrôle qualité: mieux vous les traitez, plus vous pouvez vous fier à vos résultats hématologiques

Le contrôle de qualité interne (CQI) est un élément essentiel de l'assurance qualité. Il est utilisé pour garantir la cohérence quotidienne d'un processus analytique et permet de déterminer si les résultats des patients sont suffisamment fiables pour être diffusés. Le CQI permet également au laboratoire de contrôler et de documenter la qualité de son travail. Dans la plupart des pays, les réglementations nationales imposent la réalisation d'un CQI.

### Le CQI a quatre objectifs principaux:

1. Contrôler l'ensemble du processus analytique.
2. Détecter les erreurs immédiates dues
  - a) à une défaillance du système analytique,
  - b) à des conditions environnementales défavorables, ou
  - c) aux performances de l'opérateur; par exemple, les procédures de maintenance sont exécutées différemment en raison d'un changement d'opérateur, etc.
3. Contrôler les performances à long terme du test qui peuvent être influencées par des changements dans les performances de l'appareil.
  - a) système analytique,
  - b) conditions environnementales et
  - c) variance inter-opérateurs.
4. Fournir la preuve d'un niveau de qualité adéquat à long terme et se conformer aux exigences réglementaires.

Le CQI est réalisé en utilisant un ou plusieurs matériaux de contrôle sur le système d'analyse qui doit être vérifié. Les contrôles qualité sont soumis à une procédure analytique identique à celle appliquée aux échantillons de patients. Les résultats sont reportés sur des diagrammes de contrôle tels que décrits par Levey-Jennings, et ces diagrammes sont interprétés de la manière habituelle.

Cela semble simple? Eh bien, ce n'est pas tout à fait le cas. Certains facteurs doivent être soigneusement pris en compte si l'on veut que le système CQI représente correctement les opérations analytiques de routine d'un laboratoire.

### Exigences auxquelles les matériaux de contrôle qualité doivent satisfaire

Les contrôles sont des matériaux qui contiennent une quantité déterminée de la substance à tester – l'analyte. Les contrôles doivent être testés en même temps et de la même manière que les échantillons de patients. L'objectif du contrôle est de valider la fiabilité du système d'analyse et d'évaluer la performance de l'opérateur et les conditions environnementales susceptibles d'avoir un impact sur la qualité de l'analyse. Il est particulièrement important de sélectionner des matériaux de contrôle qualité appropriés.

Les meilleurs matériaux pour le CQI sont des échantillons typiques de test de routine, en supposant qu'ils sont suffisamment stables pour cet objectif. Le tableau 1 énumère les propriétés recommandées pour les matériaux de contrôle de qualité, conformément aux recommandations de la Hong Kong Association of Medical Laboratories (HKAML) [1].

**Tableau 1** Propriétés recommandées d'un contrôle de qualité

1. Il doit ressembler à un échantillon humain (sang, plasma, sérum, LCR, etc.).
2. La concentration de l'analyte doit se situer à des niveaux médicalement significatifs. Elle doit couvrir la plage cliniquement importante de la concentration d'un analyte.
3. La matrice du matériau doit être aussi proche que possible de l'échantillon humain.
4. Les constituants doivent être stables pendant une longue période.
5. Après l'ouverture du flacon et la préparation du matériel, le flacon doit rester stable pendant la période d'utilisation.
6. Le contrôle de qualité doit être prêt à l'emploi et ne nécessiter qu'une préparation minimale.
7. Des tailles pratiques d'aliqots/flacons peuvent être préparées et la variabilité d'un flacon à l'autre devrait être faible.
8. Le contrôle de qualité doit être testé de la même manière que les échantillons de patients.

## Matériel de contrôle qualité de Sysmex

La fabrication de matériaux de contrôle de qualité pour l'hématologie est un défi par rapport aux contrôles pour la chimie clinique si tous les points mentionnés ci-dessus sont couverts. Les cellules natives ont naturellement un taux de survie très limité. Pour prolonger la durée de vie d'une cellule, une stabilisation efficace est nécessaire. Pour cette raison, le matériel de contrôle de qualité hématologique est différent des échantillons de patients fraîchement prélevés. Cela signifie qu'il faut s'assurer que le contrôle a été utilisé correctement lors de l'interprétation des résultats du contrôle de qualité.

Les contrôles de qualité Sysmex comprennent des globules rouges humains stabilisés (RBC), des globules blancs (WBC), des plaquettes (PLT) et des globules rouges nucléés (NRBC) dans un milieu de conservation. Ils sont exempts de tout composant artificiel simulant des cellules, tel que des particules de latex. Cependant, il n'est pas possible d'effectuer une différenciation microscopique des globules blancs avec ce matériel, car les globules blancs ont été traités pour améliorer leur stabilité. Cela signifie qu'ils ne se coloreront pas pour démontrer la morphologie cellulaire typique connue de la coloration de May-Grünwald-Giemsa. Mais en ce qui concerne la lyse et la coloration avec les

réactifs de l'analyseur, les cellules stabilisées ne présentent que de petites différences par rapport aux cellules sanguines fraîches. Ces différences sont la raison pour laquelle l'analyseur utilise un mode QC pour produire et afficher les résultats des mesures.

Les contrôles de qualité Sysmex sont prêts à l'emploi. Tous les contrôles sont livrés dans des flacons contenant suffisamment de matériel pour la période de contrôle et sont mesurés avec le même principe de mesure que les échantillons de patients.

Pour tous les paramètres diagnostiques du sang total, Sysmex fournit des contrôles dans la gamme analytique basse, normale et haute et pour vérifier les paramètres des liquides biologiques, nous proposons deux niveaux de contrôle.

Pour la fabrication de nos contrôles de qualité hématologique, nous faisons confiance au producteur réputé Streck, Inc. (Nebraska, USA), qui est reconnu dans le monde entier comme le leader de la stabilisation cellulaire. La compétence principale de Streck est le développement de matériaux de contrôle de qualité qui sont adaptés aux besoins des clients.

## Transport, conditions de stockage et durée de conservation

Le contrôle de qualité hématologique Sysmex doit être stocké avec un bouchon fermé à une température comprise entre 2 et 8°C. Une augmentation à court terme de la température, qui peut se produire pendant le transport, n'affecte pas la qualité du produit. Tous les matériaux de contrôle qualité hématologique doivent être protégés de la congélation. Ainsi manipulés, les produits sont garantis stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage et les flacons. Une fois que les flacons ont été ouverts ou échantillonnés en perçant le bouchon, ils conservent leur stabilité – selon le type de produit – comme indiqué dans le tableau 2.

**Tableau 2** Stabilité des contrôles hématologiques Sysmex

Matériel de contrôle	Période d'utilisation	Stabilité des flacons ouverts
Eightcheck-3WP	84 jours	7 jours
e-Check (XS)	56 jours	14 jours
e-Check (XE)	56 jours	7 jours
XN-L Check	84 jours	15 jours
XN Check	56 jours	7 jours
XN Check BF	56 jours	30 jours

## Préparation des QC XN-Class avant la mesure

Lors du stockage et de la préparation des matériaux de contrôle de la qualité, il est important de respecter scrupuleusement les instructions du fabricant en matière de stockage et d'équilibrage.

1. Sortir le flacon du réfrigérateur et le laisser s'équilibrer à la température ambiante (15 - 30°C) pendant au moins 15 minutes avant de l'utiliser.
2. Faire rouler chaque flacon entre les paumes des mains pendant 15 secondes (voir Fig. 1).
3. En tenant le flacon d'un bout à l'autre entre le pouce et l'index, inverser le flacon 20 fois en faisant un mouvement de rotation très rapide du poignet pendant le mélange. Les détails peuvent être vus dans une vidéo sur le site MySysmex (voir Fig. 2).
4. Analyser le matériel de contrôle de la qualité sur l'instrument conformément au mode d'emploi. Le septum perçable dans le bouchon du flacon permet l'analyse de l'échantillonneur.
5. Les analyses ultérieures au cours de cette période de test peuvent être effectuées en inversant le flacon 5 fois avant l'analyse de l'instrument.
6. Remettre le flacon au réfrigérateur (2–8°C) pour conservation.

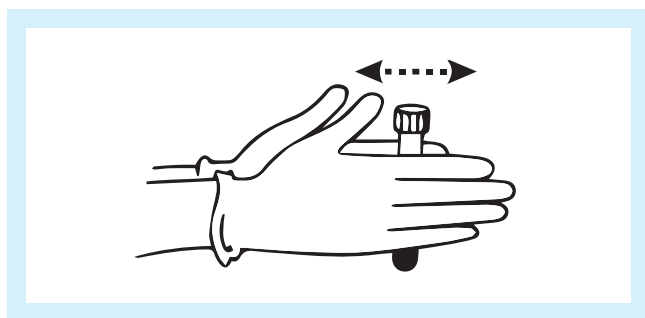


Fig 1 Faire rouler le flacon de QC pendant 15 secondes entre les paumes des mains.

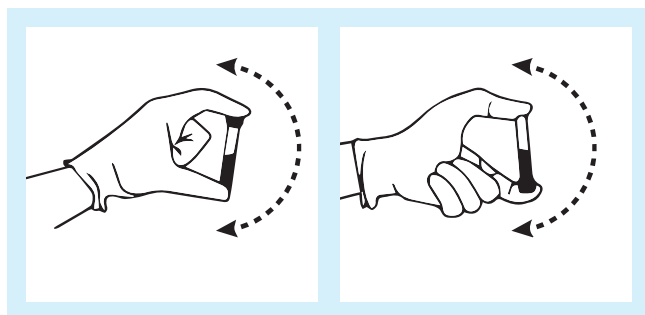


Fig 2 Inverser le flacon 20 fois en la tenant d'un bout à l'autre, en effectuant un mouvement de rotation très rapide du poignet pendant le mélange.

## Une procédure simple avec un grand impact

Lorsque le résultat d'une mesure QC sort de ses limites, l'analyse doit être interrompue, les résultats du patient conservés et le système d'analyse examiné. Dès que les sources d'erreur ont été identifiées et que des corrections ont été apportées, la mesure du contrôle qualité doit être répétée. Si les résultats sont corrects, il convient de répéter les échantillons de patients (ceux de la période comprise entre la dernière mesure QC correcte et la découverte et la résolution de l'erreur QC), ainsi qu'un autre échantillon de contrôle qualité. Il ne faut pas simplement répéter le test sans rechercher les sources d'erreur et prendre des mesures correctives.

**Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les problèmes possibles à prendre en compte sont les suivants [3]:**

- Dégradation des réactifs ou des kits
- Contrôler la dégradation des matériaux
- Erreur de l'opérateur
- Non-respect des instructions du fabricant
- Un manuel de procédures obsolète
- Défaillance de l'équipement
- Erreur d'étalonnage

En hématologie, on observe généralement qu'un grand nombre de résultats de QC problématiques découlent d'une manipulation incorrecte ou d'un stockage inadéquat du matériel. L'utilisation de matériaux périmés ou de flacons dont le volume restant est trop faible conduit également à des résultats erronés. Les contrôles hématologiques en particulier méritent un traitement précis avant la mesure, car ils contiennent des cellules sanguines qui doivent être homogénéisées avant la mesure.

On trouvera ci-dessous quelques exemples où les résultats sont sortis de leur fourchette en raison d'un mauvais traitement du contrôle qualité. Des modifications des résultats numériques, en particulier de l'hémogramme et des paramètres réticulocytaires, peuvent être observées. La vérification de la distribution des cellules dans les histogrammes et les scattergrammes peut également contribuer à révéler des différences par rapport aux résultats obtenus avec du matériel correctement traité. Des exemples de mesures et des images de scattergrammes de tous les niveaux de contrôle se trouvent sur le CD-ROM ou la clé USB qui accompagne toujours le contrôle qualité à des fins de comparaison.

## Mélange incorrect et ses effets

L'identification des problèmes de mélange est généralement difficile car elle dépend à la fois de l'intensité et de la durée du mélange. Cependant, en examinant de plus près les deux extrêmes (mélange insuffisant ou excessif), on s'aperçoit que les résultats numériques de la formule leucocytaire, des globules rouges et des plaquettes peuvent être faussés en raison de l'utilisation d'une procédure de mélange incorrecte.

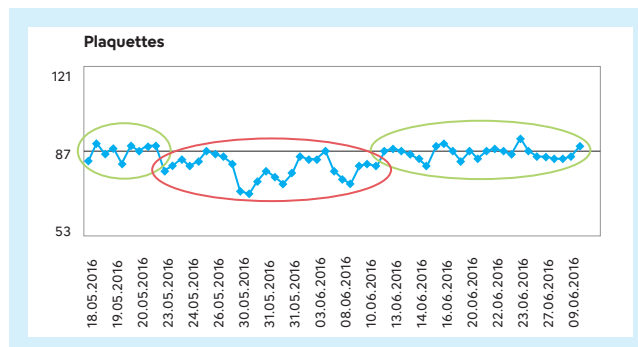
Un échantillon surmélangé est généralement plus difficile à identifier et se produit plus rarement. Si l'échantillon est mélangé trop longtemps et à grande vitesse, on peut observer une numération leucocytaire légèrement élevée ainsi qu'une numération des cellules plasmatiques nettement plus élevée. Ne jamais mélanger les flacons d'hématologie QC sur un rouleau ou un dispositif de mélange automatisé!

En revanche, les échantillons qui ne sont pas suffisamment mélangés peuvent être identifiés par une augmentation marquée du nombre de RBC et des paramètres associés (HGB, HCT) et une diminution du nombre de WBC et un faible nombre de PLT-I, en particulier au niveau 1, avec des valeurs de coefficient de variation (CV) accrues. Le tableau 3 compare les résultats des échantillons QC mal mélangés.

**Tableau 3** Résultats des échantillons QC mal mélangés

Non mélangé	Surmélangé
WBC ↓	WBC (↑)
RBC, HGB, HCT ↑↑	RBC, HGB, HCT pas d'influence marquée
PLT-I (niveau 1) ↓	PLT-I ↑↑
L'aspiration du sédiment permet de mesurer davantage de globules rouges, mais les globules blancs sont sous-représentés ou absents.	Les globules rouges sont détruits et tombent par leur taille dans la zone de PLT, où elles sont alors comptées comme des plaquettes.

L'application d'une procédure de mélange incorrecte entraîne une augmentation des valeurs de CV pour la plupart des paramètres, comme le montrent la figure 3 et le tableau 4. Il s'agit d'une expérience visant à démontrer l'influence de la procédure de mélange sur les résultats des plaquettes. Deux procédures de mélange différentes ont été utilisées. Pour les mesures des phases 1 et 3 (○), la procédure de mélange correcte a été appliquée, tandis que dans la phase 2 (○), le contrôle qualité a été mélangé moins intensément que ce qui est décrit dans la notice. Les résultats concernant les plaquettes étaient plus imprécis et significativement inférieurs à la valeur moyenne de l'essai.



**Fig 3** Résultats de l'expérience utilisant XN Check Niveau 1 avec deux procédures de mélange différentes.

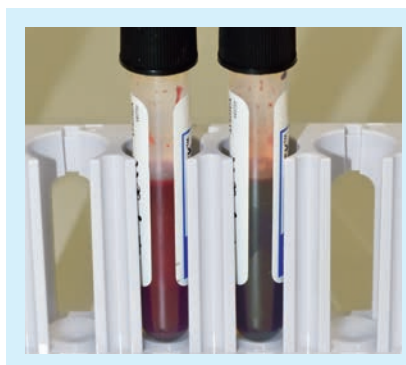
**Tableau 4** Analyse quantitative des résultats de l'expérience

	Phase 1 (mélange correct)	Phase 2 (mélange insuffisant)	Phase 3 (mélange correct)
Moyenne de l'essai pour les plaquettes	87	87	87
Moyenne	87,0	80,2	86,3
Écart (%) par rapport à la moyenne de l'essai	0,0	-7,8	-0,8
Écart-type (SD)	2,8	4,7	2,4
CV (%)	3,3	5,9	2,8

## L'effet des températures incorrectes sur le matériel de contrôle qualité

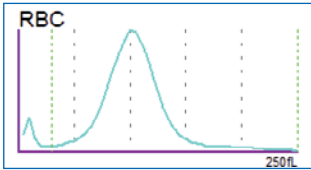
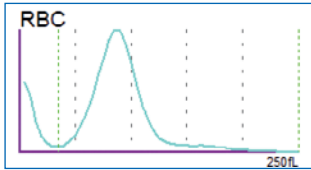
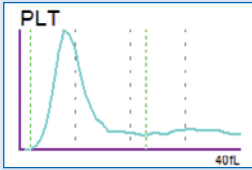
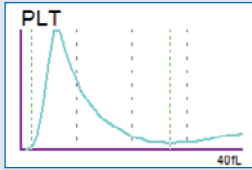
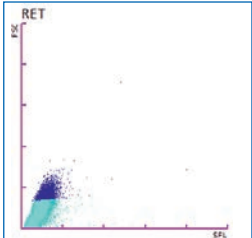
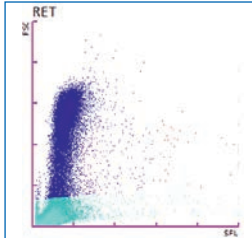
Le mélange, mais aussi la température, ont une influence sur les résultats obtenus à partir des matériaux de contrôle de qualité. Les contrôles hématologiques doivent être conservés au réfrigérateur, mais ne peuvent être utilisés qu'après avoir été équilibrés à la température ambiante pendant au moins 15 minutes. Le stockage des contrôles qualité à une température inférieure à 2°C, même à court terme, a un impact immédiat sur les cellules et entraîne une hémolyse, comme le montre le tableau 5.

Un QC hémolysé peut être reconnu par un changement de couleur du rouge au noir brunâtre à l'intérieur du flacon, comme le montre la figure 4.



**Fig 4** Comparaison d'un échantillon QC non hémolysé (à gauche) avec un échantillon QC hémolysé (à droite).

Tableau 5 Résultats des échantillons de contrôle qualité stockés à des températures incorrectes

Surchauffe		Congelé	
HGB ↑, MCV (↑), MCH ↑		RBC ↓, MCV ↑, MCH ↑, RDW-SD ↑, RDW-CV ↑	
PLT ↑↑↑  Pas de distribution anormale des plaquettes visible		PDW, MPV (↑), P-LCR (↑), PCT ↑  Distribution anormale des plaquettes visible	
RET ↓		RET ↓↓↓, RET-He ↓↓↓, RBC-He ↓↓↓	

Les membranes des globules rouges sont endommagées pendant la congélation, ce qui entraîne une hémolyse et donc des numérations plus faibles ainsi qu'une perturbation des paramètres des globules rouges. Bien que l'histogramme des PLT soit clairement perturbé par des particules plus grosses résultant de l'éclatement des RBC, la numération des PLT peut toujours se situer dans la zone de test. L'HGB reste stable puisque pour la mesure de l'hémoglobine, les globules rouges doivent de toute façon être lysés. La mesure des réticulocytes est totalement perturbée et les résultats de RET-He et RBC-He sont beaucoup trop bas.

En raison de la surchauffe, les protéines de l'échantillon sont dénaturées et sont reconnues par l'analyseur comme de petites particules, qui sont incluses dans la mesure des plaquettes. De plus, la turbidité de l'échantillon augmente, ce qui perturbe également la mesure photométrique de l'HGB.

L'augmentation des débris peut également être observée dans le scattergramme des réticulocytes. L'ensemble de la population se déplace vers le bas.

## Conclusion

Les petites choses peuvent avoir un impact important. C'est le cas de la procédure de mélange des contrôles qualité en hématologie! Comme on l'a vu plus haut, elle influence grandement les résultats des mesures de QC. Les dommages subis par le flacon ne reflètent ni un défaut de l'analyseur ni la nécessité d'un étalonnage. Il est donc de la plus haute importance de stocker et de traiter les matériaux de contrôle de qualité de la manière décrite par le fabricant.

L'objectif principal d'un laboratoire est de fournir des résultats d'analyse fiables, rapides et précis aux personnes qui en font la demande. Pour y parvenir jour après jour, il est nécessaire de contrôler et d'évaluer de manière cohérente les performances du laboratoire et, en cas de non-conformité aux procédures, de mettre en œuvre des actions correctives et d'en assurer le suivi. Une mauvaise approche peut conduire à la validation de résultats non corrects pour les patients, ce qui peut déclencher toute une série de scénarios indésirables et, dans le pire des cas, des actions en justice.

## Références

- [1] **Phang R et al. (2009):** A Practical Guide to Internal Quality Control (IQC) for Quantitative Tests in Medical Laboratories. Lignes directrices proposées.
- [2] **CLSI C24 - A3 (2006):** Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and definitions – Approved Guideline.
- [3] **Fiche de contenu de l'OMS 7 - 1:** Overview of Quality Control for Quantitative Tests.