

## Validation du bilan d'hémostase, intervalles de référence et performances

*Silmara Montalvão*

### SUJETS ABORDÉS

- ✓ Méthode de préparation du plasma normal poolé
- ✓ Comment valider l'équipement et les tests de coagulation
- ✓ Échantillons pour les processus de validation de l'équipement/des réactifs
- ✓ Validation ou vérification
- ✓ Fidélité et exactitude
- ✓ Établissement d'un intervalle de référence
- ✓ Validation versus vérification de l'intervalle de référence
- ✓ Analyse statistique de l'intervalle de référence
- ✓ Contrôle interne de qualité et évaluation externe de la qualité

Le plasma normal poolé (PNP) est un composant essentiel pour le laboratoire d'hémostase, car il est utilisé dans différents protocoles de test, de l'évaluation d'un TCA allongé à l'évaluation d'inhibiteurs spécifiques et non spécifiques. Il peut également être utilisé comme matériel de référence pour l'étalonnage et comme solution de contrôle normale si des conditions idéales sont observées à cette fin. Suit un protocole pour la préparation de PNP.

**Tableau 4.** Exigences pour la préparation de PNP

Personnes donneuses	Au moins 20 personnes saines qui ne prennent aucun médicament interférant avec les facteurs et la réaction de coagulation. Les femmes prenant des contraceptifs oraux sont admis-sibles. Un nombre approximativement égal d'hommes et de femmes est souhaitable. La tranche d'âge court de 20 à 50 ans.
Anticoagulant	Citrate dihydraté trisodique 0,109 M (3,2 %) tamponné avec de la N-2-hydroxyéthylpipérazine. Acide N-2-éthanesulfonique (HEPES) à 5 g pour 100 ml de citrate trisodique.
Collecte	Le sang est prélevé entre 9 h et 11 h au moyen de seringues jetables en plastique de 60 ml et d'aiguilles de ponction veineuse de calibre 21.

### Méthode de préparation du PNP :

- ✓ Prélever 54 ml de sang et le mélanger avec 6 ml d'anticoagulant dans des récipients en plastique.
- ✓ Conserver l'échantillon sur de la glace fondante pendant la préparation du pool.
- ✓ Centrifuger à 4 °C pendant 15 minutes à 2500 g.
- ✓ Pooler le plasma dans un récipient sans contact en plastique.
- ✓ Aliquoter en portions de 0,5 ml dans des tubes en plastique de 1,5 ml.
- ✓ Congeler rapidement sur de la glace carbonique si disponible. Sinon, placer immédiatement sur une étagère ouverte à -70 °C.
- ✓ Effectuer la procédure décrite ci-dessus dans un délai de quatre heures.
- ✓ Stable à -70 °C pendant plus de six mois.

Un plasma normal poolé préparé de cette façon aura des taux situés autour de 1 U/ml ou de 100 U/dl pour les facteurs II, V, VII, IX, X, XI et XII, le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) et la prékallicréine (PKK), bien que les taux de facteur VIII et de facteur Willebrand (FW) varient grandement d'un PNP à l'autre. Ce PNP local doit être étalonné en unités internationales (UI), puisque des normes internationales existent désormais pour les facteurs de coagulation susmentionnés, à l'exception du facteur XII. Le pool

peut être utilisé non étalonné avec une puissance présumée de 100 U/dl ou de 1 U/ml pour le facteur XII. Pour l'étalonnage en UI, il est nécessaire soit d'obtenir des préparations de référence étalonnées de l'Organisation mondiale de la santé (conservées au *National Institute for Biological Standards and Control*, à South Mimms, Potters Bar, Herts, au RoyaumeUni), soit d'acheter un plasma de référence commercial approprié qui a été étalonné en UI par le fabricant. Il faut tenir compte du fait qu'un pool doit être remplacé tous les 12 à 18 mois, sauf si les résultats obtenus lors des contrôles internes de qualité démontrent qu'il a conservé sa stabilité.

#### Méthode d'étalonnage du PNP local :

- ✓ Obtenir un étalon de référence, p. ex. étalon de référence international de l'OMS (minimum deux flacons).
- ✓ Deux jours différents, utiliser un flacon de l'étalon de référence international et quatre aliquotes du PNP local.
- ✓ Le premier jour, doser dans l'ordre : étalon de référence international, pool local, pool local, pool local, pool local, étalon de référence international, et répéter cette série en utilisant des dilutions fraîchement préparées de chacun de ces plasmas.
- ✓ Le deuxième jour, doser dans l'ordre : pool local, pool local, étalon de référence international, étalon de référence international, pool local, pool local, pool local et répéter cette série en utilisant des dilutions fraîchement préparées de chacun de ces plasmas.

Calculer la teneur de chaque aliquote de l'étalon local en la comparant à la moyenne des résultats obtenus avec les deux étalons de référence internationaux.

- ✓ La valeur moyenne des résultats des 4 aliquotes  $\times$  2 dilutions  $\times$  2 jours ( $n = 16$ ) est considérée comme étant celle de l'étalon local.

**Comment valider l'équipement et les tests de coagulation :** avant d'utiliser une nouvelle méthode, il est essentiel qu'elle soit évaluée pour déterminer si elle convient à l'usage prévu. Cette partie fournit des recommandations générales sur la façon de planifier et de mettre en œuvre les processus nécessaires à la sélection et à l'évaluation des analyseurs d'hémostase et des systèmes de test. Ces recommandations ne visent pas à remplacer les réglementations ou les normes, mais plutôt à fournir des orientations sur les étapes nécessaires pour respecter les bonnes pratiques de laboratoire.

L'étendue de l'évaluation d'un système de test dépendra de plusieurs facteurs, notamment : a) l'utilisation prévue du système de test, b) si le système de test a été approuvé pour un usage clinique par un organisme régional ou par la législation, c) les ressources disponibles du laboratoire. Lors du choix d'un système de test, des recherches doivent être effectuées pour déterminer quels analyseurs d'hémostase sont disponibles. Une liste d'exigences doit être établie pour identifier le meilleur système pour son laboratoire, détaillant les caractéristiques physiques du laboratoire ainsi que les performances requises de l'équipement. La planification de la validation, étape importante, est liée aux résultats obtenus, car une bonne planification peut générer une validation techniquement adéquate. Il est donc important d'établir un calendrier réaliste pour l'évaluation, en fonction des ressources disponibles et de la portée de l'évaluation. Il convient de définir les détails du processus d'évaluation (par étapes), qui doit être examiné et approuvé par le responsable du secteur. Le plan de validation doit détailler le paramètre d'évaluation (l'imprécision par exemple), le ou les tests à effectuer et le résultat souhaité (les limites statistiques par exemple). Comme certains systèmes de test peuvent nécessiter des échantillons inhabituels ou pour ceux couvrant une large gamme de valeurs, il peut être conseillé de commencer à prélever et à congeler des échantillons des semaines, voire des mois à l'avance. Les quantités de consommables (y compris les réactifs) nécessaires à l'évaluation du système de test doivent être estimées avec une marge de manœuvre pour les plans d'urgence, au cas où des travaux supplémentaires seraient nécessaires. Le laboratoire doit documenter chaque étape du processus d'évaluation, y compris la maintenance préventive des instruments, les évaluations de la température et les données générées lors des étapes de validation ou de

vérification. Le responsable du laboratoire doit analyser les données et consigner le résultat de l'analyse. Il est conseillé d'avoir un registre électronique prévu et nommé à cet effet pour la validation et l'évaluation du système. Quoi qu'il en soit, toute forme d'évaluation du système de test doit être à disposition s'il est nécessaire de vérifier l'adéquation du laboratoire.

**Échantillons pour les processus de validation des équipements/réactifs** : le traitement des échantillons utilisé dans le processus de validation doit être le même que pour les échantillons à tester du patient. Pour le TP, des études montrent que la stabilité du plasma traité est de 24 heures lorsqu'il est conservé à température ambiante, cependant, plus il est traité rapidement, meilleure est l'assurance qualité. Les échantillons de plasma pour d'autres tests doivent être traités dans les quatre heures suivant le prélèvement. Si les échantillons ne peuvent pas être analysés dans des limites de stabilité acceptables, des échantillons de plasma pauvre en plaquettes (PPP) doivent être produits, aliquotés et conservés à -70 °C (Favaloro et al., 2008). Avant l'analyse, les échantillons congelés doivent être décongelés à 37 °C (trois à cinq minutes pour les aliquotes jusqu'à 1 ml) et mélangés immédiatement avant le test (Kitchen et al., 2021).

**Validation ou vérification** : de manière générale, la validation est un processus qui doit être effectué sur des systèmes de test entièrement nouveaux ou un test développé au laboratoire. La vérification, en revanche, est un processus qui peut être appliquée à des systèmes déjà validés récemment introduits sur le marché du diagnostic. La vérification peut également être appliquée à l'évaluation après le déplacement de l'équipement. Si un système de test a été autorisé par l'autorité de réglementation régionale, seul le processus de vérification du système peut être effectué en local. Dans ce cas, la vérification peut être définie comme une preuve objective qu'un système de test donné répond localement aux spécifications définies par le fabricant. L'écart par rapport au mode d'emploi du fabricant pour un système de test nécessitera un suivi pour la validation du système (Castellone, 2017).

**Fidélité et exactitude** : après l'installation de l'équipement, il est important d'évaluer dans quelle mesure les résultats de test d'un même cycle ne sont pas fidèles. Cette pratique est utile pour identifier les valeurs aberrantes et la variabilité du système. Le nombre de tests requis pour une évaluation dépendra du fait que le ou les systèmes nécessitent une validation ou une vérification (Gardiner et al., 2021a). Pour les études d'exactitude, les échantillons analysés dépendront du type d'échantillons de patients qu'il est prévu d'analyser en laboratoire. L'exactitude est une évaluation importante, définie comme la concordance entre une valeur mesurée et une valeur vraie. Elle est généralement établie en comparant de nouveaux instruments ou systèmes de réactifs à une méthode existante ou prédéterminée (Eusebi, 2013). La comparaison entre les systèmes doit être effectuée à l'aide d'une analyse statistique. La comparabilité entre les systèmes peut être analysée à l'aide d'une régression linéaire (normale, pondérée, de Deming ou de Passing-Bablok, selon le cas), de graphiques de tendance Bland-Altman et de tests t appariés (ou tests U de Mann-Whitney si les données ne sont pas normalement distribuées) (Jensen et Kjelgaard-Hansen, 2006). Les critères d'acceptabilité seront spécifiques au test. Pour le test de TCA par exemple, deux systèmes distincts utilisant des réactifs différents pourraient générer des résultats présentant des différences cliniquement significatives (Montalvão et al., 2020). Les évaluations de la sensibilité, de la spécificité et de la valeur prédictive négative et positive du test sont également des informations pertinentes et fondamentales pour certaines analyses. Les dosages calibrés pour lesquels il existe une norme internationale (par exemple le facteur VIII) et une méthodologie standardisée devraient produire une droite de régression avec une pente proche de 0,90-1,10, avec une forte corrélation ( $r > 0,95$ ) et aucun biais cliniquement significatif (Gardiner et al., 2021b). Le nombre exact d'échantillons pour l'évaluation statistique du processus de vérification/validation dépendra des critères d'acceptabilité pour chaque test. La participation à un programme d'EEQ peut être utile pour établir l'exactitude du système avant une utilisation de routine chez les patients (Montalvão et al., 2022).

**Établissement d'un intervalle de référence** : l'établissement d'un intervalle de référence normal est l'une des tâches les plus importantes effectuées en laboratoire, car la plupart des décisions médicales sont prises sur la base des résultats biologiques. Les tests de coagulation présentent un ensemble de problématiques unique. Les réactifs utilisés en routine peuvent avoir différentes sensibilités à la coagulation

en fonction de la concentration et du type de phospholipides et d'activateurs. Un exemple classique est celui des réactifs destinés au test de TCA ; ils font appel à des particules (p. ex. kaolin, cérite, silice) ou à des produits chimiques (p. ex. acide ellagique) qui affectent directement la sensibilité et la spécificité. Dans ce contexte, les différentes particules, ainsi que la classe des phospholipides et la composition des acides gras, ne sont pas standardisées. Les réactifs de fournisseurs différents peuvent ainsi avoir des compositions différentes. L'ensemble des propriétés des réactifs doivent être prises en compte lors de l'établissement d'un intervalle de référence normal. Il est donc essentiel que le laboratoire détermine en local la plage de référence normale afin que l'ensemble des réactifs, des équipements et des procédures puissent être pris en compte lors de l'évaluation du patient. La santé n'est pas un état bien défini et est souvent un terme relatif. Dans certains cas, le groupe idéal pourrait être étroitement lié à la population étudiée concernant l'âge et le sexe. Cette sélection minutieuse n'est toutefois pas essentielle pour de nombreux tests de coagulation. Dans la réalité, la sélection de sujets sains normaux pour l'établissement d'une plage normale sera influencée par des considérations pratiques. On peut faire appel à des membres du personnel hospitalier qui ne prennent aucun traitement médicamenteux et à des personnes donneuses de sang. Sont repris ci-après les aspects importants dont il faut tenir compte pour les plages normales. L'état de santé des sujets normaux lors du prélèvement sanguin peut influer sur les résultats obtenus. Il s'agit notamment de passer en revue les éléments probants concernant les effets du stress physique (p. ex. persistance jusqu'à 10 heures d'un FVIII/FW multiplié par 2,5), du stress mental (p. ex. augmentation du FVIII et du FW après un stress mental aigu), des effets hormonaux, des variations circadiennes et des effets de la posture et de l'alimentation. Des recommandations générales, qui ne se limitaient pas à l'investigation de patientes, ont été formulées. Il s'agissait des éléments suivants :

- ✓ S'abstenir de tout exercice physique intense dans les 24 heures précédent la ponction veineuse.
- ✓ Prévoir un environnement où le stress physique et mental est réduit.
- ✓ S'abstenir de consommer des aliments gras et de fumer le matin de la ponction veineuse.
- ✓ Prélever des échantillons tôt le matin (entre 7 h 00 et 9 h 00), après que la personne est restée assise, en position détendue, pendant 20 à 30 minutes.

**Validation versus vérification de l'intervalle de référence** : les résultats de l'intervalle de référence font l'objet d'une évaluation statistique, dont le type repose sur le nombre d'individus auquel il a été fait appel. Le processus peut inclure une validation ou une vérification complète lorsque l'intervalle de référence est préalablement établi. La validation nécessite un minimum de 120 personnes, tandis que la vérification n'en nécessite que 20 pour démontrer qu'un test fonctionne comme précédemment établi. L'intervalle de référence doit être vérifié avec tout changement de réactif, de numéro de lot et d'instrument ou de dispositif de prélèvement. La moyenne et l'écart type peuvent être calculés (Gardiner et al., 2021a).

**Analyse statistique de l'intervalle de référence** : l'écart type (ET) est la dispersion des données autour de la moyenne. Plus les données sont dispersées, plus l'écart est important. L'intervalle de confiance mesure le niveau d'incertitude. Si le niveau de confiance à 95 % est choisi, les intervalles seront estimés aux 2,5<sup>e</sup> et 97,5<sup>e</sup> centiles de la distribution des résultats. Cela est la garantie que l'intervalle de confiance des valeurs contient la vraie moyenne de 95 % de la population. Des niveaux de confiance plus élevés auront des intervalles de référence plus larges, tandis que des intervalles de confiance plus faibles sont plus étroits (Henny et al., 2016).

Différentes méthodes statistiques peuvent être utilisées pour évaluer les données :

- 1) Méthode paramétrique : utilisée lorsque la répartition de la population est normale ou gaussienne.
- 2) Méthode non paramétrique : ne nécessite pas de lois de probabilité en raison d'une sélection minutieuse des sujets et d'un nombre suffisant ( $\geq 120$ ) d'individus testés.

3) Méthode robuste : à utiliser sur un nombre limité d'individus sans que la distribution soit nécessairement gaussienne. Mesure la position (emplacement) et la dispersion (propagation) au lieu de la moyenne et de l'écart type.

Les compteurs de position trient les données en parts égales par ordre croissant, tandis que la dispersion analyse la distance des valeurs de la distribution par rapport au centre. Pour les valeurs aberrantes, il est possible de visuellement inspecter et évaluer les données selon une méthode proposée par Dixon (Henny et al., 2016). Pour un échantillon de 20 sujets (vérification de l'intervalle de référence), deux valeurs aberrantes sont autorisées. S'il y a plus de deux valeurs aberrantes, 20 échantillons supplémentaires doivent être analysés. S'il y a à nouveau deux valeurs aberrantes, d'autres sources d'erreur (réactifs, problèmes d'analyseur, variation biologique, etc.) doivent être étudiées (Henny et al., 2016). Il peut être nécessaire d'effectuer un intervalle de référence complet.

**Contrôle interne de qualité et évaluation externe de la qualité :** l'assurance qualité (AQ) est un terme général qui peut servir à décrire l'ensemble des mesures prises pour assurer la fiabilité des analyses et des rapports de laboratoire. Elle comprend le choix du test, le prélèvement d'un échantillon conforme auprès du patient, l'analyse du spécimen et la saisie correcte des résultats dans les délais, l'interprétation des résultats le cas échéant et la communication de ceuxci aux cliniciens demandeurs. Le contrôle interne de qualité (CIQ) et l'évaluation externe de la qualité (EEQ) (parfois appelés « essais d'aptitude ») sont deux composantes distinctes, mais complémentaires, du programme d'assurance qualité d'un laboratoire. Le CIQ vise à établir si une série de techniques et de procédures montrent des résultats uniformes sur une période donnée. Il sert donc à assurer l'uniformité quotidienne du laboratoire. L'EEQ permet d'identifier le degré de concordance entre les résultats obtenus par un laboratoire et ceux obtenus par d'autres.

Contrôle interne de qualité : le CIQ vise à établir si une série de techniques et de procédures montrent des résultats uniformes sur une période donnée. L'expression « contrôle qualité » est couramment utilisée pour décrire l'ensemble des procédures servant à s'assurer que les résultats des expériences en laboratoire sont suffisamment fiables pour aider le clinicien à prendre des décisions, à assurer le suivi thérapeutique et à déceler les anomalies hémostatiques. Les procédures de contrôle qualité doivent être appliquées de manière à assurer un contrôle immédiat et constant de la production des résultats.

Dans le cadre d'un laboratoire, la qualité des résultats obtenus dépend de nombreux facteurs, notamment :

- Collecte et manipulation appropriées des échantillons
- Sélection des techniques appropriées et maintien à jour d'un manuel des procédures opérationnelles standard
- Utilisation de réactifs et de matériel de référence fiables
- Sélection d'une automatisation appropriée et d'un entretien adéquat
- Enregistrement approprié des données
- Système de communication des résultats

En outre, la qualité des résultats obtenus dans la pratique courante dépend fortement de la sélection, de la formation et de la motivation de personnels dûment qualifiés avec des effectifs appropriés.

Le CIQ est particulièrement utile pour identifier le degré de fidélité d'une technique particulière, la fidélité étant le degré de concordance entre les mesures répétées sur un même échantillon. Pour s'assurer que les résultats obtenus en laboratoire sont fiables, les analyses doivent être précises. Le CIQ garantit l'uniformité quotidienne d'un processus analytique et aide ainsi à déterminer si les résultats des patients sont suffisamment fiables pour être diffusés. Un programme de CIQ doit faire référence aux institutions qui soutiennent les lignes directrices de qualité des laboratoires, telles que l'Organisation internationale de normalisation (ISO) ou le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Les tests de laboratoire doivent être en mesure d'identifier les résultats physiologiques et pathologiques, quel que soit le moment où le test est effectué. Dans les recommandations de la norme ISO 15189:2022, le laboratoire doit disposer

d'une procédure de CIQ pour surveiller en continu la validité des résultats d'examen, conformément aux critères spécifiés. Cette procédure permet de vérifier que la qualité prévue est atteinte et de garantir la validité constante des résultats vis-à-vis de la prise de décision clinique. Le CIQ doit être effectué à une fréquence basée sur la stabilité et la robustesse de la méthode d'examen et sur le risque de préjudice pour le patient en cas de résultat erroné. Dans le document H47-A2 volume 28 n° 207.8 du CLSI, pour tous les systèmes d'analyse de la coagulation non manuels, le laboratoire doit inclure au moins deux niveaux de matériau de contrôle toutes les huit heures de fonctionnement et chaque fois qu'un réactif est changé.

**Matériaux de contrôle interne de qualité :** pour évaluer la fidélité d'une méthode particulière, il est nécessaire d'effectuer des analyses répétées des aliquotes du même échantillon. Il est important d'inclure des échantillons de contrôle qualité (CQ) avec des valeurs normales et anormales pour s'assurer qu'une méthode est sous contrôle à différents niveaux d'un analyte particulier, car des changements relativement mineurs dans un processus analytique peuvent être plus apparents lors du test d'un contrôle anormal. Le matériau de contrôle doit avoir des propriétés similaires à celles des échantillons à tester et être analysé simultanément. Les matériaux de contrôle qualité d'origine humaine sont plus susceptibles de ressembler étroitement aux échantillons humains à tester. Tous les flacons ou aliquotes du matériau de contrôle doivent en pratique être identiques, de sorte que toute variation des résultats ne soit pas une conséquence d'une variation entre les flacons. Le matériau de contrôle qualité doit également être stable pendant la période d'utilisation prévue. En ce qui concerne les tests et dosages hémostatiques, les échantillons de plasma doivent être congelés (de préférence à -35 °C au moins) ou lyophilisés afin d'assurer une stabilité adéquate pour une utilisation en tant que matériau de CQ. Pour la reconstitution des échantillons lyophilisés, il est important d'utiliser de l'eau distillée à un pH de 6,8fl7,2 et de prévoir au moins cinq minutes pour la reconstitution. Tout matériau de CQ du commerce doit être reconstitué conformément aux instructions du fabricant à l'aide d'un système de pipetage précis. Un matériau de CQ congelé doit être décongelé rapidement à 37 °C pendant cinq minutes. Lors de la sélection du matériau de CQ, le risque de transmission de virus transmissibles par le sang doit être pris en compte. Un matériau à haut risque ne doit pas être utilisé. Au moins un matériau de CQ doit être inclus avec chaque groupe de tests de dépistage ou de dosages. Pour les tests de dépistage, il peut être plus approprié d'inclure un CQ normal de cette manière et de tester les matériaux de CQ anormaux une fois par jour ou par équipe ou en cas de doute sur une méthode. Un matériau de CQ à taux réduit doit être inclus avec les tests utilisés pour le diagnostic et la surveillance des états de déficit congénital associés aux saignements. Dans tous les cas, si cela est possible, le matériau de contrôle doit être traité exactement comme des échantillons à tester.

**Limites de variation acceptables :** pour les CIQ disponibles dans le commerce, les fabricants fournissent souvent une plage cible de valeurs acceptables. Dans le cas de tests de dépistage et d'analyses occasionnelles, les résultats obtenus dépendront des réactifs et du système de détection du point final utilisés. La plage cible doit tenir compte de ces effets. Lorsqu'une plage cible n'est pas disponible pour une technique particulière, elle peut être établie localement. Le matériau de CIQ est testé à plusieurs reprises (au minimum 10 fois) des jours différents lorsque la méthode est considérée sous contrôle (comme indiqué par exemple par des résultats dans la cible sur un autre matériau de CQ). La moyenne et l'ET de ces résultats sont ensuite calculés. L'ET est la racine carrée de la somme de  $d^2$  divisée par  $n-1$ , où  $d$  représente la différence entre chaque résultat et la moyenne et  $n$  le nombre de déterminations. L'ET est une mesure de la dispersion des résultats : plus l'écart type est grand, plus les résultats sont dispersés. Un autre paramètre important est le coefficient de variation (CV), qui est l'expression de l'écart type sous forme de pourcentage de la moyenne ( $CV = ET \text{ divisé par la moyenne, multiplié par } 100\%$ ). Le CV des résultats obtenus des jours différents pour le temps de prothrombine et le temps de céphaline activée d'un échantillon de CQ devrait toujours être inférieur, voire très inférieur, à 8 %. Pour les dosages comme le FVIII:C et le FIX, des CV inférieurs à 10 % devraient être atteignables pour les tests effectués sur un certain nombre de jours. Dans la plupart des cas, les résultats obtenus avec un échantillon de CIQ présenteront une distribution normale (gaussienne). Il est courant de définir la plage cible des résultats de CIQ comme la moyenne  $\pm 2$  ET, puisque cela devrait inclure 95 % des valeurs. Les résultats individuels doivent être consignés dans un tableau qui identifie la plage cible. Les résultats en dehors de cette plage indiquent que le matériau

de CQ est dégradé ou a été mal manipulé, ou que la méthode n'est pas correctement maîtrisée. Un test avec du matériau de CQ supplémentaire permettra de différencier ces deux possibilités : des résultats qui se situent à niveau hors limites confirmeront que l'analyse n'est pas maîtrisée.

**Évaluation externe de la qualité :** dans des programmes d'EEQ de grande envergure, l'analyse rétrospective des résultats obtenus par les laboratoires participants permet d'identifier non seulement les mauvaises performances de certains laboratoires, mais aussi les réactifs et les méthodes qui donnent des résultats peu fiables ou erronés. La fonction principale de l'EEQ est de soumettre à des essais d'aptitude les analyses de chaque laboratoire. Le programme international d'évaluation externe de la qualité (*International External Quality Assessment Scheme* ou IEQAS) de la Fédération mondiale de l'hémophilie (FMH) comprend des analyses d'une pertinence particulière pour le diagnostic et la prise en charge des troubles de la coagulation (pour plus de renseignements, s'adresser à la FMH). Les résultats obtenus par ce programme ont été publiés dans les ouvrages suivants :

- Jennings I, Kitchen S, Woods TAL, Preston FE. Development of a World Federation of Hemophilia External Quality Assessment Scheme: results of a pilot study. *Haemophilia* 1996; 2: 4-46.
- Jennings I, Kitchen S, Woods TAL, Preston FE. Laboratory performance of haemophilia centres in developing countries: 3 years' experience of the World Federation of Hemophilia External Quality Assessment Scheme. *Haemophilia* 1998; 4: 739-746.
- Jennings I, Kitchen DP, Woods TA, Kitchen S, Walker ID, Preston FE. Laboratory performance in the WFH EQA programme 2003-2008. *Haemophilia*. 2009; 15:571-7.
- Silmara Montalvão, Ian Jennings, Christopher Reilly-Stitt, Dianne Kitchen, Steve Kitchen. Quality of diagnosis and lab monitoring of people with hemophilia and other bleeding disorders across the continents: WFH IEQAS programme 2016-2023.

L'IEQAS a été lancé en 2004 pour contrôler et améliorer les performances des laboratoires dans les centres de traitement de l'hémophilie (CTH) du monde entier. Les laboratoires peuvent participer à ce programme pour évaluer leurs systèmes d'assurance qualité et la fiabilité de leurs résultats de test. L'IEQAS améliore et standardise le diagnostic de laboratoire en vérifiant l'efficacité des systèmes internes d'assurance qualité en place et en évaluant les compétences du laboratoire. Le programme est géré par le *National External Quality Assessment Service* (UK NEQAS) britannique, basé à Sheffield, qui a été inspecté par United Kingdom Accreditation Service Ltd (UKAS) et a reçu la certification à la norme ISO 17043 pour tous les tests répertoriés. L'IEQAS de la FMH a pour mission de fournir une EEQ pour les tests de coagulation sanguine et de promouvoir des normes élevées de performances et de pratiques. L'EEQ, ainsi que les procédures de CIQ, sont des éléments essentiels de l'assurance qualité globale des laboratoires. En outre, l'IEQAS propose un service de conseil aux participants par le biais d'échanges sur le diagnostic de laboratoire, y compris une réunion des participants lors du *Congrès mondial* biennal de la FMH et des visites sur site/ virtuelles à des fins de formation, selon les besoins. Le comité IEQAS de la FMH est chargé de superviser le programme. Il est composé d'une présidence indépendante nommée par la FMH, d'un directeur ou d'une directrice du programme, du personnel du programme IEQAS dans les *Sheffield Teaching Hospitals* (établissement hôte), ainsi que du personnel et des bénévoles de la FMH. Il supervise tous les aspects opérationnels du programme, examine la participation au programme, analyse les résultats, surveille les performances des laboratoires mondiaux et fournit un soutien consultatif aux centres qui adhèrent au programme. Les enquêtes de l'IEQAS sont envoyées trois fois par an, généralement en mars, juillet et novembre. Toutes les enquêtes englobent généralement le TP, le TCA et les dosages des facteurs VIII et IX. Deux des trois enquêtes comprennent le dosage de l'antigène du FW et le dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine/FW. Une des trois enquêtes comprend deux autres tests de facteurs afin que les tests de FII, FV, FVII, FX et FXI et de fibrinogène soient tous évalués à un moment donné. Pour plus de détails, contacter [neqas@coageqa.org.uk](mailto:neqas@coageqa.org.uk).

## Références

- Castellone DD. Establishing reference intervals in the coagulation laboratory. *Int J Lab Hematol* 2017; 39 Suppl 1: 121–127.
- Eusebi P. Diagnostic accuracy measures. *Cerebrovasc Dis.* 2013; 36(4): 267–272.
- Favaloro EJ, Lippi G, Adcock DM. Preanalytical and postanalytical variables: the leading causes of diagnostic error in hemostasis? *Semin Thromb Hemost* 2008; 34(7): 612–634.
- Gardiner C, Coleman R, de Maat MPM, Dorgalaleh A, Echenagucia M, Gosselin RC, Ieko M, Kitchen S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) laboratory guidance for the evaluation of haemostasis analyser-reagent test systems. Part 1: Instrument-specific issues and commonly used coagulation screening tests. *Int J Lab Hematol* 2021a; 43(2): 169–183.
- Gardiner C, Coleman R, de Maat MPM, Dorgalaleh A, Echenagucia M, Gosselin RC, Ieko M, Kitchen S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) laboratory guidance for the verification of haemostasis analyser-reagent test systems. Part 2: Specialist tests and calibrated assays. *Int J Lab Hematol* 2021b; 43(5): 907–916.
- Henny J, Vassault A, Boursier G, Vukasovic I, Mesko Brguljan P, Lohmander M et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54(12): 1893–1900.
- Jensen AL, Kjelgaard-Hansen M. Method comparison in the clinical laboratory. *Vet Clin Pathol* 2006; 35(3): 276–286.
- Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for processing of blood samples for coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(6): 1272–1283.
- Montalvão SAL, Francisco AP, da Silva BLQ, Huber SC, Aguiari HJ, Fernandes MCGL et al. From hemophilia to deep venous thrombosis patient samples: How to perform an easy coagulometer validation process according to available guidelines. *Clin Appl Thromb Hemost* 2020; 26: 1076029620915512.
- Montalvão SAL, Lowe A, Kitchen S. Advantages of external quality assessment-EQA programs. *Haemophilia* 2022; 28(4): 679–686.