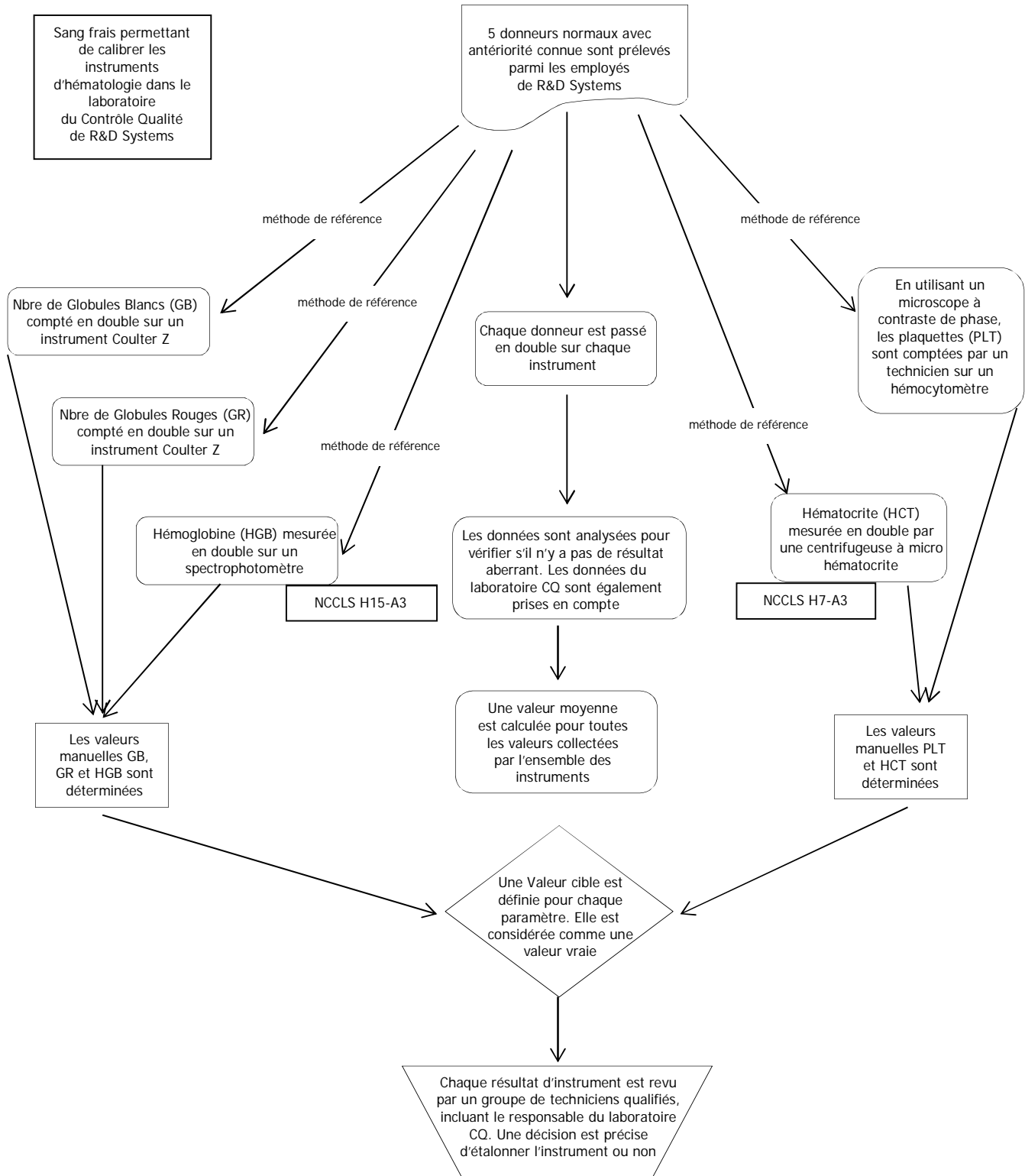


**EXPRESSION DE LA TRACABILITE ET DE L'INCERTITUDE
DE L'ETALON HORIBA Medical**

L'objectif de ce document est de décrire la traçabilité métrologique des valeurs cibles de l'étalon d'HORIBA Medical : ABX Minocal, réf. 2032002 et d'estimer l'incertitude sa valeur cible.

Détermination des valeurs de référence à l'échantillon de sang frais



Méthodes de Référence en Hématologie

Les analyseurs d'hématologie du laboratoire d'assurance qualité de R&D Systems sont étalonnés avec des valeurs obtenues en utilisant les méthodes de références standards sur du sang frais. Les échantillons de sang frais obtenus auprès de donneurs normaux et en bonne santé sont collectés sur de l'anticoagulant EDTA et analysés moins de six heures après le prélèvement.

GB : une dilution à 1/500 est préparée en utilisant un flacon Class A de 200 ml rempli avec du diluant isotonique. On enlève 2,4 ml de diluant. L'échantillon est ajouté au flacon en utilisant une micropipette T.C. de 400 µL, à laquelle on ajoute 2.0 ml de lyse. Le comptage est effectué avec un instrument Coulter de la série Z. Tous les comptages sont corrigés pour s'affranchir des phénomènes de coïncidences.

GR : une dilution à 1/50 000 est préparée en utilisant un flacon Class A de 1 000 ml rempli avec du diluant isotonique. L'échantillon est ajouté au flacon en utilisant une micropipette T.C. de 20 µL. Le comptage est effectué avec un instrument Coulter de la série Z. Tous les comptages sont corrigés pour s'affranchir des phénomènes de coïncidences.

HGB : une dilution à 1/251 est préparée en utilisant un flacon Class A de 100ml rempli avec le réactif recommandé par le NCCLS pour la méthode de cyanméthémoglobine (1). L'échantillon est ajouté au flacon en utilisant une micropipette T.C. de 400 µL. L'échantillon est filtré avec un filtre de 0,2 µm immédiatement avant lecture. Les lectures sont faites à 540 nm dans un spectrophotomètre calibré selon les recommandations NCCLS H15-A3 et ICSH (1).

HCT : Les tubes en verre de micro hématocrite (sans anticoagulant) sont remplis avec un échantillon, scellés avec de la cire spéciale et centrifugés pendant 5 minutes dans une centrifugeuse à micro hématocrite conformément au document du NCCLS H7-A3 (2). Après la centrifugation, la longueur de la colonne entière comprenant le plasma et la longueur de la colonne de globules rouges est observée et mesurée en utilisant un microscope avec des graduations et un micromètre oculaire. L'hématocrite est calculé comme le rapport des deux mesures. Aucune correction n'est faite pour le plasma retenu.

VGM : Sur certains instruments, le VGM est le paramètre calibré au lieu de l'HCT. Le VGM est calculé à partir de l'HCT et des GR en utilisant la formule : $VGM = HCT \times 10/GR$

PLT : une dilution 1/126 est préparée en utilisant un flacon Class A de 50ml rempli avec 1% d'ammonium oxalate filtré. L'échantillon est ajouté au flacon en utilisant une micropipette T.C. de 400 µL. La dilution est déposée sur un hémocytomètre de type Neubauer propre et sec. L'hémocytomètre est laissé dans une chambre humide pendant 10 minutes. En utilisant un microscope à contraste de phase, les plaquettes présentes dans le carré central d'une surface de 1mm² et sur deux de ses bords sont comptées. Les deux calculs sont ramenés à une moyenne que l'on multiplie par 1 260 (facteur de dilution 126 x facteur de volume 10 = 1260).

BIBLIOGRAPHIE :

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference and Selected Procedures for the Quantitative Determination of Hemoglobin in Blood : approved standard-third edition. NCCLS document H15-A3. Wayne, PA : NCCLS, 2000.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedure for determining packed cell volume by the microhematocrit method: Approved Standard, NCCLS document H7-A3. NCCLS, Wayne, PA : NCCLS, 2001.

Tous les produits et étiquettes sont les marques de fabrique ou les marques agréées de leurs entreprises respectives.

Détermination de l'incertitude (composant de l'étalon)

L'incertitude associée à l'étalonnage de l'analyseur HORIBA Medical avec l'ABX Minocal doit être estimée en ajoutant les sources d'incertitude suivantes :

L'incertitude des équipements utilisés pour déterminer les valeurs de référence : fiole, pipette, compteur individuel par impédance (GB, GR), hémocytomètre par contraste de phase (PLT), spectrophotomètre (HGB) et la mesure de l'hématocrite (règle).

L'incertitude est une valeur absolue :

Paramètre	Incertitude
GB (G/L)	0.09
GR (T/L)	0.03
HGB (g/dL)	0.06
HCT (%)	0.45
PLT (G/L)	5.4

Détermination de l'incertitude totale

L'incertitude totale est définie comme la quantité d'erreur associée aux résultats patient rapportée par les analyseurs d'hématologie HORIBA Medical pour référencer les méthodes lorsque les analyseurs sont étalonnés en utilisant le l'étalon ABX Minocal.

Trois éléments contribuent à l'incertitude totale :

- Le système d'étalonnage (les étalons actifs, les étalons principaux et secondaires, les procédures de mesures de référence)
- La procédure (réactifs, instruments et le personnel du laboratoire...)
- L'échantillon

L'expression globale de l'incertitude est donc :

$$U_{\text{résultat}} = \sqrt{U_{\text{cal}}^2 + U_{\text{methode}}^2 + U_{\text{échantillon}}^2 + U_{\text{autre}}^2}$$