

Contrôles hématologiques

De bonnes pratiques pour des résultats fiables

Que sont les contrôles hématologiques ?

Les contrôles hématologiques remplissent trois fonctions : évaluer la précision des analyseurs d'hématologie, garantir la validité des résultats des patients et répondre aux exigences d'accréditation. Dans le cadre du contrôle qualité intra-instrument, il est obligatoire de procéder chaque jour à une mesure des échantillons de contrôle qualité.

Généralement, les fabricants d'instruments fournissent des contrôles hématologiques à deux ou trois niveaux conçus pour ressembler étroitement aux échantillons de patients.¹ Il existe également des contrôles aux valeurs cibles pour l'analyse différentielle en trois et cinq parties, ainsi que des contrôles de la sédimentation des érythrocytes. Ils couvrent de nombreux paramètres sanguins : érythrocytes, plaquettes, granulocytes, lymphocytes, monocytes, hémocrites, hémoglobine et bien d'autres encore.



Pourquoi le contrôle qualité est-il essentiel en hématologie ?

Le contrôle qualité doit être effectué régulièrement pour garantir la fiabilité systématique des résultats des échantillons.² Chaque laboratoire doit établir son propre programme de contrôle qualité conformément aux directives d'accréditation. Le CQ interne a quatre objectifs principaux :

1. Surveiller le processus d'analyse.
2. Détecter les erreurs qui se produisent en raison d'une défaillance du système, de conditions environnementales défavorables ou commises par l'opérateur.
3. Surveiller la performance des tests à long terme.
4. Fournir une preuve du niveau de qualité adéquat à long terme et se conformer aux exigences réglementaires.

L'utilisation de contrôles permet de garantir l'exactitude et la précision des résultats de patient obtenus.

Que nous apprennent l'exactitude et la précision des contrôles hématologiques ?

En hématologie comme dans d'autres domaines du diagnostic in vitro, l'objectif principal du CQ est de contrôler l'exactitude et la précision des mesures.³ L'exactitude désigne la capacité à obtenir le bon résultat, tandis que la précision concerne la capacité à délivrer le même résultat à plusieurs reprises. Lorsqu'on évalue étroitement l'exactitude et la précision, différents scénarios peuvent se produire, selon que le contrôle se situe ou non dans les limites acceptables. C'est en établissant la cause profonde de chaque situation qu'on pourra prendre les mesures correctives appropriées si les contrôles ne répondent pas aux spécifications.

Human

Diagnostics Worldwide

Contrôles hématologiques

L'importance de l'exactitude et de la précision

Exact et précis

La première situation est celle du scénario idéal, affichant des valeurs exactes et précises (figure 1). Les différentes valeurs sont toutes très proches de la cible (exactes), mais aussi proches les unes des autres, avec seulement des variations mineures (précises). Le diagramme de Levey-Jennings, qui représente les valeurs uniques au fil du temps, présente une ligne constante autour de la moyenne.

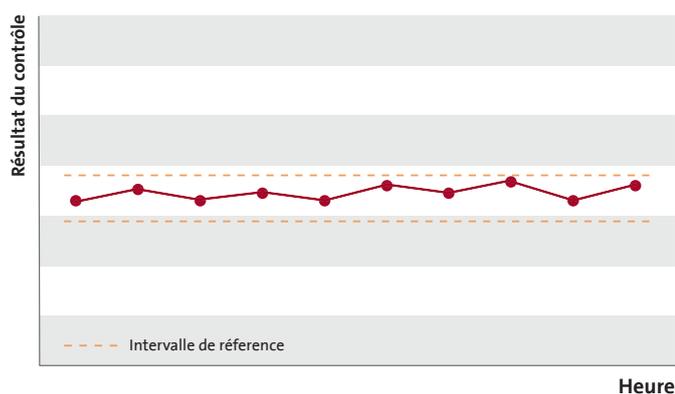


Figure 1 : Diagramme de Levey-Jennings montrant des données exactes et précises

Manque d'exactitude et de précision (tendance)

Dans la deuxième situation, les valeurs ne sont ni précises, ni exactes. La courbe de Levey-Jennings associée montre une tendance : les valeurs augmentent lentement au fil du temps (figure 2).

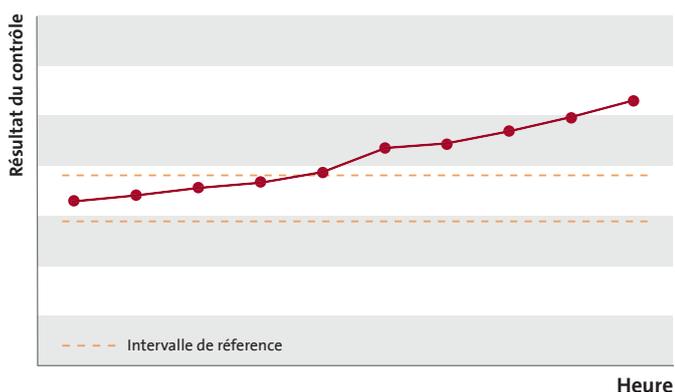


Figure 2 : Diagramme de Levey-Jennings montrant une tendance

Les tendances sont généralement dues à une dérive de l'instrument.

Certaines variables peuvent contribuer à l'émergence d'une tendance :

- Les contrôles ou les réactifs n'ont pas été utilisés conformément aux instructions du fabricant.
- Les contrôles ou les réactifs sont périmés.
- La prochaine date d'étalonnage du système approche.
- Un entretien préventif peut s'avérer nécessaire.

Inexact mais précis (décalage)

La troisième situation montre un changement soudain des valeurs. On observe un décalage net à partir du point de mesure 5. Par la suite, les mesures restent précises dans le sens où elles ne présentent que des écarts minimes, mais elles ne sont plus exactes, car on ne retrouve pas la valeur cible correcte (figure 3).

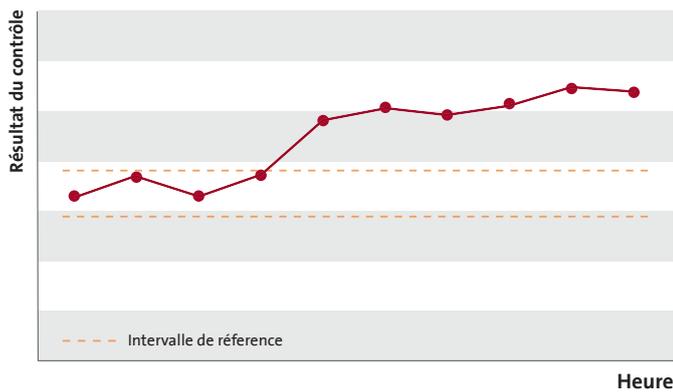


Figure 3 : Diagramme de Levey-Jennings montrant un décalage

Ce décalage peut traduire une évolution soudaine d'une variable du système. Les réactifs ou l'environnement peuvent être à l'origine de la déviation. L'utilisateur devra vérifier si une pièce a récemment été changée sur l'instrument, si un numéro de lot de réactifs ou de contrôles a été modifié ou si l'environnement du laboratoire a été affecté par des changements soudains, une variation de température, par exemple.

Exact mais non précis (imprécision)

La dernière situation montre des données exactes mais imprécises (figure 4). Bien que la valeur moyenne soit correcte, les valeurs mesurées varient considérablement d'une mesure à l'autre. C'est ce qu'on appelle l'imprécision. Plusieurs conditions peuvent expliquer ce résultat. Très souvent, cependant, l'imprécision est due à un mauvais mélange du matériau de contrôle.

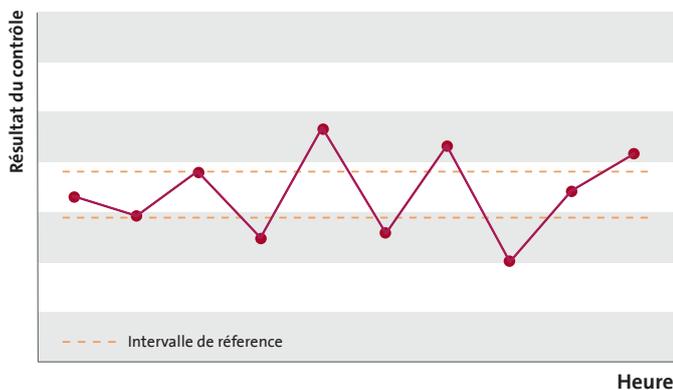


Figure 4 : Diagramme de Levey-Jennings montrant une imprécision

Contrôles hématologiques

Stockage et manipulation : les bonnes pratiques

Quelle est la particularité des contrôles hématologiques ?

Le meilleur matériau de référence actuellement disponible est le matériau d'étalonnage et de contrôle constitué de cellules stabilisées, mais encore intactes. Les cellules sanguines humaines et de mammifères sont utilisées pour fabriquer des matériaux de contrôle. En raison de la durée de vie limitée des cellules intactes, la durée de conservation des contrôles est restreinte. In vivo, les globules rouges ont une durée de vie d'environ 120 jours, les plaquettes d'environ 7 à 10 jours et les globules blancs d'environ 13 à 20 jours. Une fois hors de l'organisme, les cellules sanguines se décomposent rapidement. La stabilisation peut prolonger la durée de conservation des produits de contrôle dans une certaine mesure. Mais pour générer un matériel de contrôle qualité valable, il faut trouver le juste équilibre entre la conservation des cellules et le maintien de leurs propriétés physiques et de leur réactivité au réactif de lyse. C'est pour cette raison que la durée de conservation du matériel de contrôle hématologique se situe toujours dans certaines limites. Certains types de cellules perdent leur taille, leur forme et leur fonction après conservation, et cela explique que certains fabricants utilisent des substituts artificiels dans certains cas. La compatibilité des substituts ainsi que la procédure de stabilisation appliquée varient d'un analyseur à l'autre et d'un fabricant à l'autre. Ces paramètres dépendent de la technologie et de la composition des réactifs utilisés par chaque système. Chaque matériau de contrôle est spécialement conçu et optimisé pour un certain type de système hématologique (instrument et réactifs) : l'utilisation de matériaux tiers peut rendre les résultats impossibles à comparer. Les valeurs cibles ne s'appliquent qu'au réglage spécifique et ne fournissent des résultats fiables qu'avec cette combinaison. Les matériaux de contrôle ne peuvent pas être utilisés avec les instruments d'autres fabricants, car chaque analyseur fonctionne différemment et utilise des quantités et des compositions de réactifs différentes.⁴ Par conséquent, seul le contrôle du fabricant peut faire une démonstration complète de la fonctionnalité du système avec tous ses paramètres enregistrés.

Stockage et manipulation du matériau de contrôle hématologique

De nombreux résultats de CQ problématiques en hématologie découlent de défauts dans la manipulation ou le stockage du matériau. Du fait de la sensibilité du matériau primaire, les contrôles hématologiques HUMAN doivent impérativement être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C pour garantir leur stabilité et leur bon fonctionnement. En outre, pendant le transport, la température doit absolument être maintenue à un niveau bas en permanence. Pour garantir une température de transport constante, HUMAN applique des conditions de transport établies avec des boîtes en polystyrène et des packs de froid. Les matériaux périmés ou les flacons dont le volume restant est trop faible sont également source de résultats erronés. D'autre part, les contrôles nécessitent une préparation précise car les cellules sanguines doivent être soigneusement homogénéisées avant la mesure. Le matériau doit être amené à température ambiante avant d'être utilisé. Les contrôles doivent être mélangés vigoureusement, mais avec précaution, pour éviter la formation de mousse et la destruction du matériau. La procédure exacte est expliquée en détail dans la notice d'utilisation de chaque matériau et peut différer légèrement selon son type.

Source d'erreur possible : la surchauffe

L'exposition prolongée à des températures égales ou supérieures à 20 °C peut affecter les performances du contrôle. Elle peut entraîner une élévation du volume globulaire moyen (VGM) des globules rouges, accompagnée d'éventuels fragments de globules rouges et d'une hémolyse. En outre, la surchauffe entraîne la dénaturation des protéines. Les protéines dénaturées sont considérées par l'analyseur d'hématologie comme de petites particules et peuvent être comptabilisées comme Pt. On peut également observer une altération de la mesure de l'Hb en raison d'une turbidimétrie accrue de l'échantillon. Enfin, il est important de noter que les dommages causés au matériau de contrôle par une surchauffe, même s'ils ne sont pas immédiatement visibles, peuvent entraîner une réduction de la durée de conservation du produit.

Surchauffe	Congélation
Pt ↑↑↑↑	GR ↓
VGM ↑	VGM ↑
TCMH ↑	TCMH ↑
Hb ↑	IDR-ET, IDR-CV ↑
	PCT, IDP, VPM, P-LCR ↑

Tableau 1 : Influence de la surchauffe et de la congélation du matériau de contrôle sur les paramètres hématologiques

Source d'erreur possible : la congélation

La réfrigération du matériau de contrôle en dehors de l'intervalle de température recommandé par le fabricant peut entraîner sa destruction. Dans tous les cas, il faut empêcher la congélation du matériau de contrôle. La congélation fait éclater les cellules et détruit irrémédiablement le matériau. Il est donc préférable d'éviter de stocker le matériau de contrôle au fond du réfrigérateur, car la paroi arrière peut se couvrir de givre et entraîner le gel du matériau. Une fois le matériau de contrôle congelé, la détérioration des hématies provoque une hémolyse. Ce processus peut se produire dès que les températures de stockage sont inférieures à 2 °C. L'hémolyse se manifeste par une coloration rouge foncé atypique du contrôle, accompagnée d'une coloration rouge du surnageant. Plusieurs paramètres sont altérés, comme le démontre immédiatement la mesure du matériau de contrôle. Les paramètres des globules blancs et l'hémoglobine peuvent encore sembler normaux, mais les valeurs des globules rouges et des plaquettes ne sont généralement plus exactes. Le nombre d'hématies diminue en raison de la destruction des cellules. La numération des plaquettes et les paramètres associés sont perturbés par les particules résultant de l'éclatement des hématies. Un matériau de contrôle qui a subi une congélation devient inutilisable.



Figure 5 : Hémolyse du matériau de contrôle

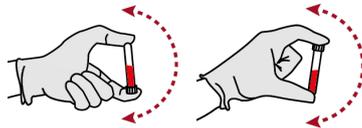
Instructions de manipulation :

En suivant ces instructions simples, vous obtiendrez des résultats de CQ précis et vous prolongerez la durée de vie du contrôle.

1. Retirez le flacon de contrôle du réfrigérateur et amenez-le à température ambiante (15 à 30 °C) pendant 15 minutes avant le mélange.



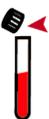
a) Tenez le flacon verticalement et faites-le rouler entre vos paumes pendant 20 à 30 secondes.



b) Poursuivez le mélange en retournant rapidement le flacon de haut en bas et inversement, par un mouvement de rotation très rapide du poignet. Continuez à homogénéiser de cette manière, vigoureusement mais sans secouer, jusqu'à ce que les globules rouges soient complètement en suspension. Les tubes conservés pendant une période prolongée pourront exiger une homogénéisation supplémentaire.



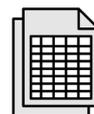
c) Procédez immédiatement à l'analyse après le mélange. Si cela n'est pas possible, retournez à nouveau le tube 8 à 10 fois avant de procéder à l'échantillonnage.



d) Après l'analyse, nettoyez le capuchon et le bord du tube avec un tissu non pelucheux. Remplacez le capuchon et fermez hermétiquement.



e) Remettez les tubes au réfrigérateur dans un délai de 30 minutes.



f) Comparez les valeurs obtenues avec les résultats attendus de la fiche de test.

- 95 % des valeurs obtenues devraient se situer dans l'intervalle prévu.
- Il ne faut pas que plus de trois valeurs consécutives dépassent l'intervalle prévu.
- Les valeurs obtenues ne doivent pas former une tendance hors de l'intervalle prévu.

Contrôles hématologiques

Stockage et manipulation : les bonnes pratiques

Changements de température pendant le stockage

On évitera de stocker les calibrateurs et les contrôles dans la porte du réfrigérateur en raison des changements de température survenant à chaque ouverture et fermeture de la porte.

Défaillances associées à une stabilité réduite

Le bon fonctionnement d'un matériau de contrôle périmé ne peut être garanti ; il ne doit donc pas être utilisé. Malgré la stabilisation du matériau, certaines propriétés des cellules primaires évoluent au fil du temps. Les intervalles de valeurs cibles sont ajustées en fonction de ces changements, mais au-delà de la durée de conservation spécifiée, certains paramètres ne seront pas conformes aux spécifications. Il en va de même pour le délai de stabilité des flacons ouverts. L'utilisation d'un volume de matériau de contrôle inférieur au volume requis pour le tube constitue une autre source d'erreur potentielle. Le risque est en effet que l'analyseur aspire un volume d'analyse insuffisant et que les résultats soient inférieurs à ceux attendus.

Défaillances liées à la procédure de mélange

Une homogénéisation inadéquate ou une remise en suspension du matériau de contrôle entraînera des résultats non valables. Lorsque l'homogénéisation est insuffisante, certaines valeurs peuvent être inférieures à la cible.

La figure 6 présente un exemple de diagramme de Levey-Jennings pour le paramètre Pt dans deux cas : avec un mélange correct et avec un mélange insuffisant. Lorsque le contrôle a été correctement et complètement mélangé, on obtient des points de données stables, proches de la valeur cible du contrôle (ligne rouge). En revanche, si l'homogénéisation est insuffisante, la valeur Pt montrée ici à titre d'exemple sera trop faible et fluctuera fortement d'un point de mesure à l'autre. Lorsque le mélange du contrôle est insuffisant, l'aspiration du sédiment peut conduire à une mesure accrue des hématies doublée d'une sous-représentation des Pt et GB.

À l'inverse, en cas de mélange excessif, des hématies peuvent être détruites ; les débris cellulaires seront alors comptés comme des Pt en raison de leur plus petite taille. Le paramètre Pt sera donc trop élevé.

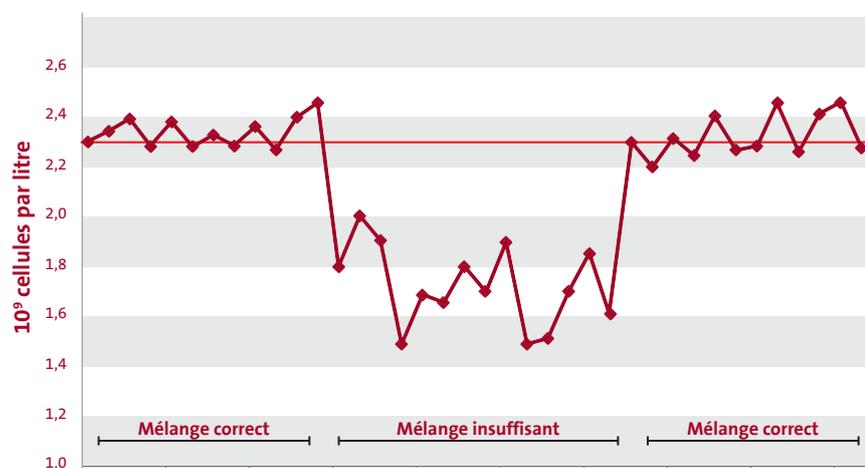


Figure 6 : Diagramme de Levey-Jennings montrant l'influence de la procédure de mélange sur les résultats des plaquettes

Mélange insuffisant	Mélange excessif
GB ↓	GB ↑
GR, Hb, HCT ↑↑	GR, Hb, HCT <i>non influencés de façon visible</i>
Pt ↓	Pt ↑↑

Des procédures de mélange incorrectes entraînent une augmentation des valeurs de CV pour la plupart des paramètres.

Tableau 2 : Influence d'une insuffisance ou d'un excès de mélange du matériau de contrôle sur les paramètres hématologiques

Principaux messages à retenir

L'objectif principal d'un laboratoire est de fournir des résultats d'analyse fiables, rapides et précis. Par conséquent, il est indispensable de procéder à des contrôles qualité internes réguliers à l'aide d'un matériau de contrôle adapté à l'analyseur spécifique, et à une surveillance constante de la performance de chaque paramètre. Ce n'est qu'à cette condition que les normes attendues du laboratoire pourront être respectées et que les médecins pourront prendre des décisions cliniques pertinentes et sûres pour tous leurs patients.

Référence des produits de contrôle HUMAN :

REF	Produit	Description	Durée de conservation	Stabilité après ouverture du flacon
17400/40	HC-Control (3 niveaux) 3 x 2,5 ml	Utilisable avec les instruments HUMAN en 3 parties : HumaCount 30/60/80 ^{TS}	190 jours	30 jours
17400/50	HC-Calibrator 1 x 2 ml	Utilisable avec les analyseurs d'hématologie HUMAN : HumaCount 30/60/80 ^{TS} , HumaCount 5L, HumaCount 5D, HumaCount 5D ^{CRP}	45 jours	7 jours
16430/50	HC5L-Control (3 niveaux) 2 x 3 x 3 ml	Utilisable avec le HumaCount 5L	105 jours	21 jours
16450/40	HC5D-Control (3 niveaux) 2 x 3 x 3 ml	Utilisable avec les HumaCount 5D et HumaCount 5D ^{CRP}	105 jours	21 jours
15024/40	HSRate-Control 2 x 2 ml	Utilisable avec le HumaSRate 24 ^{PT}	6 mois	30 jours

Bibliographie

- 1) Gulati GL, Hyun BH. Quality control in hematology. Clin Lab Med. 1986 Dec;6(4):675-88. PMID: 3539479.
- 2) Lewis, Shirley Mitchell & World Health Organization. Health Laboratory Technology and Blood Safety Unit. (1998). Quality assurance in haematology / by S. M. Lewis. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/60141>
- 3) BS ISO 5725-1: „Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions.“, p.1 (1994)
- 4) HUMAN Fact Sheet: Why standardization in hematology is so special, 2019
- 5) Vidali M, Carobene A, Apassiti Esposito S, Napolitano G, Caracciolo A, Seghezzi M, Previtali G, Lippi G, Buoro S. Standardization and harmonization in hematology: Instrument alignment, quality control materials, and commutability issue. Int J Lab Hematol. 2021 Jun;43(3):364-371. doi: 10.1111/ijlh.13379. Epub 2020 Nov 10. PMID: 33174358.
- 6) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int J Lab Hematol. 2016 May;38 Suppl 1:100-9. doi: 10.1111/ijlh.12503. Epub 2016 May 9. PMID: 27161194.

Clause de non-responsabilité

Le contenu a été compilé au mieux de nos connaissances et de nos convictions et ne prétend ni à l'exhaustivité ni à l'exactitude.