

Métrologie en biologie médicale : un nouveau challenge

Dr. Claude GIROUD

Bio-Rad Laboratories, 92430 Marnes-la-Coquette

INTRODUCTION

Pour établir un diagnostic, mettre en place une thérapeutique, le clinicien a besoin d'informations ; une partie importante de celles-ci lui est fournie par le laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale (LABM). De manière croissante, pour des raisons scientifiques ou réglementaires, la prise de décision sans indication sur la qualité métrologique des informations disponibles est de moins en moins admise. Les phénomènes biologiques ont longtemps résisté à cette tendance au prétexte de mal se prêter à la mesure et à l'observation, et de ne pouvoir les analyser avec les méthodes classiques appliquées à la mesure, en physique par exemple. Ces obstacles peuvent cependant être franchis aujourd'hui en adaptant les concepts et méthodes développés en métrologie à la biologie médicale, notamment en ce qui concerne l'établissement de la traçabilité métrologique des résultats, ainsi que l'évaluation de l'incertitude de mesure attachée à leur valeur.

I. MÉTROLOGIE ET BIOLOGIE MÉDICALE

La métrologie peut participer au développement de la médecine de laboratoire en contribuant à l'amélioration de la qualité des mesures, de leur fiabilité et de leur justesse. Avec ses concepts et ses pratiques elle peut avoir un impact important dans le secteur de la santé si elle est abordée avec discernement, notamment grâce :

- 1) à l'**apport des concepts de métrologie** dans les analyses de biologie médicale par l'établissement de la traçabilité et l'évaluation des incertitudes de mesure utilisant des résultats des contrôles internes et externes de qualité ainsi que des résultats de validation de méthodes;
- 2) ou **développement de méthodes et de matériaux de référence** pour les composés concernés par les analyses médicales (sous l'impulsion du Joint Committee on Traceability in laboratory Medicine - JCTIM).
- 3) à la **certification des réactifs** en application de la directive 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DM DIV).
- 4) à l'**accréditation des Laboratoires de biologie médicale** selon des référentiels tels que l'EN ISO 15189. la démystification des concepts de la métrologie et leur application contribuent à l'amélioration de la qualité des résultats fournis par le laboratoire de Biologie Médicale, mais peuvent également avoir un impact économique positif significatif concernant la réalisation de ces analyses.

II. CONCEPTS ET DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE

Définie de manière lexicographique comme la science de la mesure, la métrologie représente en fait l'ensemble des connaissances qui vont donner la signification de la mesure. Cet ensemble de connaissances permet d'exprimer une grandeur mesurable comme une unité de mesure multipliée par un nombre. En pratique, cette valeur mesurée représente une tentative d'approcher une vérité : la valeur vraie. Le vocabulaire propre à la métrologie est défini dans la norme NF X 07 -001 : 1994 : "Normes fondamentales - Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie" [1], plus connue sous l'acronyme "VIM" dont les définitions suivantes peuvent être extraites :

Mesurage : "Ensemble des opérations ayant pour but de déterminer une valeur d'une grandeur".

Note : "le déroulement des opérations peut être automatique". Dans ce chapitre le mot "mesure" est utilisé comme synonyme en raison de son utilisation habituelle.

Mesurande : "Grandeur particulière soumise à mesurage. Exemple : pression de vapeur d'un échantillon d'eau à 20°C".

Exactitude d'une mesure : "Aptitude à donner des réponses proches d'une valeur vraie". De nature qualitative, elle est évaluée, en pratique, par l'appréciation de l'accord entre le résultat obtenu et une valeur de référence acceptée.

Répétabilité de mesure : "Étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure".

Reproductibilité des résultats de mesure : "Étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande en faisant varier les conditions de mesure".

La répétabilité et la reproductibilité sont deux façons d'apprécier qualitativement la fidélité qui est "l'aptitude à donner des indications très voisines lors de l'application répétée au même mesurande dans les mêmes conditions de mesure." Elle qualifie l'étroitesse de l'accord entre des résultats d'essais indépendants obtenus sous des conditions définies. Concernant son évaluation quantitative, "la mesure de la **fidélité** est appréciée en termes d'infidélité et est calculée à partir de l'écart-type des résultats" selon la norme ISD 3534-1 : 1993 "Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 1 : Probabilité et termes statistiques généraux" [2].

La justesse de mesure qualifie "l'aptitude à donner des indications exemptes d'erreur systématique". Il s'agit de l' "étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats et une valeur de référence acceptée". Sa quantification est exprimée par le biais qui représente "la différence entre l'espérance mathématique des résultats et la valeur de référence acceptée".

Au sein des LABM, les besoins métrologiques peuvent être classés en deux groupes : d'une part, tous les besoins liés à l'utilisation d'instruments de mesure concernant essentiellement des mesures de grandeurs physiques et généralement non impliqués directement dans la réalisation de la mesure d'analytes, et, d'autre part les besoins liés à l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro utilisés pour les analyses.

III. MÉTROLOGIE DES ÉQUIPEMENTS DE MESURE

1) Mesure des températures

La métrologie concerne par exemple la mesure des températures pour contrôler les enceintes thermostatiques dont les utilisations concernent la conservation d'échantillons ou de réactifs (réfrigérateurs, congélateurs), mais aussi la vérification d'enceintes thermostatiques pour les cultures en microbiologie; dans ce dernier cas, le respect des consignes de température est important et intervient directement dans la qualité du processus analytique. Les méthodes de vérification sont décrites dans la norme NF X 15- 140 [3].

2) Mesure des volumes

La deuxième grandeur concernée est la mesure des volumes. Certains procédés analytiques font appel à des mesures manuelles de volumes réalisées au moyen de pipettes ou de diluteurs. Les volumes considérés couvrent une plage qui peut s'étendre de quelques microlitres à quelques millilitres. Là encore les méthodes et les moyens de vérification existent et sont décrits dans la norme NF EN ISO 8655 [4].

3) Opérations de pesée

Le troisième exemple de grandeur concerne les opérations de pesée. Au LABM les opérations de pesée ont deux destinations principales : la fabrication de réactifs ou de solutions de contrôle et d'étalonnage, et la surveillance de la qualité métrologique des pipettes. Cela concerne essentiellement les masses étalons et les balances.

4) D'autres grandeurs physiques vont également être soumises à surveillance, par exemple, les vitesses de rotation pour contrôler les centrifugeuses, la mesure de temps pour vérifier les minuteries.

Ces opérations vont donner lieu à une confirmation métrologique qui peut être réalisée selon deux options : l'étalonnage, qui consiste à comparer les résultats fournis par l'instrument de mesure aux valeurs conventionnellement vraies d'un étalon, puis à utiliser cet instrument en corrigeant les résultats des écarts constatés, et la vérification qui consiste à utiliser les résultats de la comparaison à l'étalon pour déclarer l'instrument de mesure conforme à ses spécifications (par rapport aux erreurs maximales tolérées (EMT) et affirmer son aptitude à l'emploi; dans ce cas il s'agit alors uniquement d'un jugement. Avant toute mise en service, une opération de confirmation métrologique initiale (étalonnage et/ou vérification) doit être effectuée. Cette opération peut être faite éventuellement par ou chez le constructeur.

Le schéma suivant résume ces deux opérations (Fig.1) :

Cette métrologie qui peut être qualifiée de "classique" est, en général facilement appréhendée et maîtrisée.

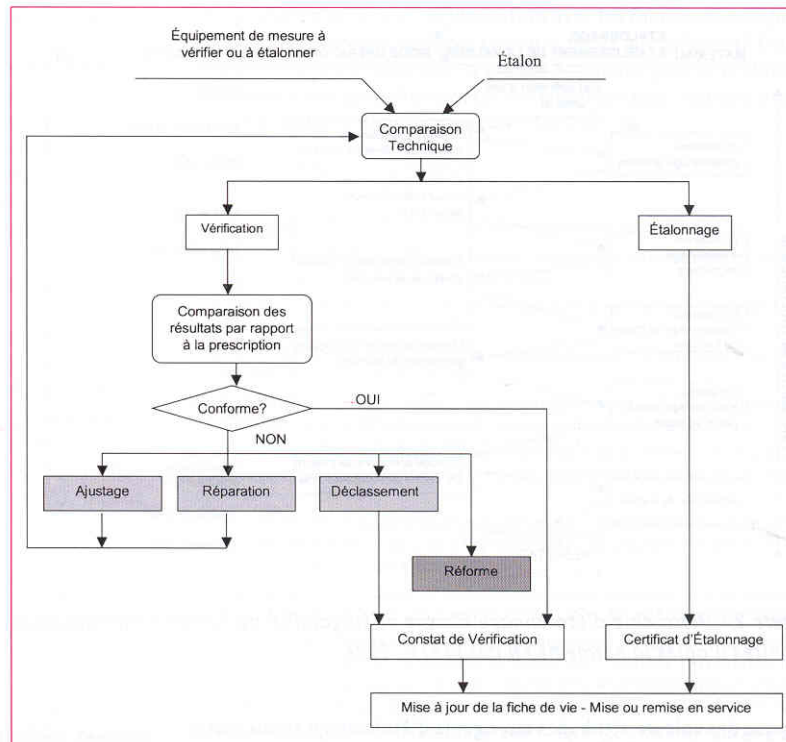


Figure 1 : Processus de confirmation métrologique (adapté d'après le document FD X 07-016 : 1993 "Métrologie-Essais - Métrologie dans l'entreprise : Modalités pratiques pour l'établissement des procédures d'étalonnage et de vérification des moyens de mesure") [5].

IV. MÉTROLOGIE ET DISPOSITIFS MÉDICAUX DE DIAGNOSTIC In VITRO (DM DIV)

Pour les LABM un nouveau domaine apparaît : la métrologie des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La première question posée est : comment assurer la traçabilité des valeurs des résultats d'analyses à des systèmes de référence d'ordre supérieur ou aux unités du système international d'unités (SI) ?

Cette problématique de la traçabilité métrologique des mesures effectuées en biologie médicale est apparue récemment et doit permettre de comparer les résultats obtenus dans différents laboratoires ou différents pays et a nécessité le développement de références communes et universelles. Les retombées pratiques du concept de traçabilité doivent permettre que les grandeurs mesurées soient correctement définies et que les résultats transmis aux cliniciens et aux patients soient suffisamment exacts (justes et fidèles) afin de permettre une interprétation clinique correcte et une comparabilité à la fois dans le temps et dans l'espace. Cela a été pris en compte, notamment par deux initiatives :

1) L'adoption de la Directive Européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro du 27 octobre 1998 [6] et transposée dans la réglementation française par l'ordonnance 2001-198 du 1er mars 2001 [7] et par le décret d'application 2004 - 108 du 4 février 2004 [8].

La Directive Européenne publiée au JOCE le 7 décembre 1998 s'applique à tous les DM DIV destinés à être utilisés pour l'examen d'échantillons provenant du corps humain. Développée pour participer à la mise en place du marché unique, cette directive définit des exigences techniques dont le respect doit permettre

une reconnaissance mutuelle au sein de l'Union Européenne. L'apposition du marquage CE sur les produits par les fabricants indique que le dispositif est conforme aux exigences, lui assurant ainsi une utilisation "sûre et correcte" et la possibilité d'être mis sur le marché européen.

Les exigences essentielles de la directive rappellent que les dispositifs doivent atteindre les performances que leur attribuent initialement les fabricants et ceci en s'en tenant aux principes de sécurité. Il est également indiqué que "la traçabilité des valeurs attribuées aux matériaux d'étalonnage et de contrôle (de justesse) doit être garantie par des procédures de mesure de référence existantes et/ou des matériaux de référence disponibles de niveau supérieur". Afin de satisfaire à ces exigences, la directive indique la possibilité pour les fabricants de se référer aux Normes Harmonisées [9], parmi elles, la norme NF EN ISO 17511 "Mesurage des grandeurs dans des échantillons d'origine biologique - Traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle" [10] développe les solutions possibles en termes de traçabilité métrologique. Il est important de rappeler que les fabricants sont soumis dans certains cas à une certification de leur entreprise par l'intermédiaire d'organismes notifiés habilités. A cette occasion, les sites de fabrication sont audités et les moyens de mesures et d'essais sont concernés, tout particulièrement leur étalonnage et leur raccordement métrologique. Ceci doit permettre d'assurer la bonne maîtrise des moyens de contrôles dans les unités de production afin d'assurer, in fine, la traçabilité des analyses de biologie médicale l'introduction de la norme NF EN ISO 17511 précise très clairement l'intérêt d'assurer la traçabilité des résultats d'analyses de biologie médicale : "Pour le mesurage des grandeurs dans les laboratoires d'analyse de biologie médicale, il est essentiel que la grandeur mesurée soit convenablement définie et que les résultats transmis aux médecins et aux patients soient suffisamment exacts (justes et fidèles) afin de permettre une interprétation clinique correcte et une comparabilité dans le temps et l'espace".

La figure 2 décrit une chaîne de traçabilité permettant de relier la valeur d'un résultat au système international d'unités.

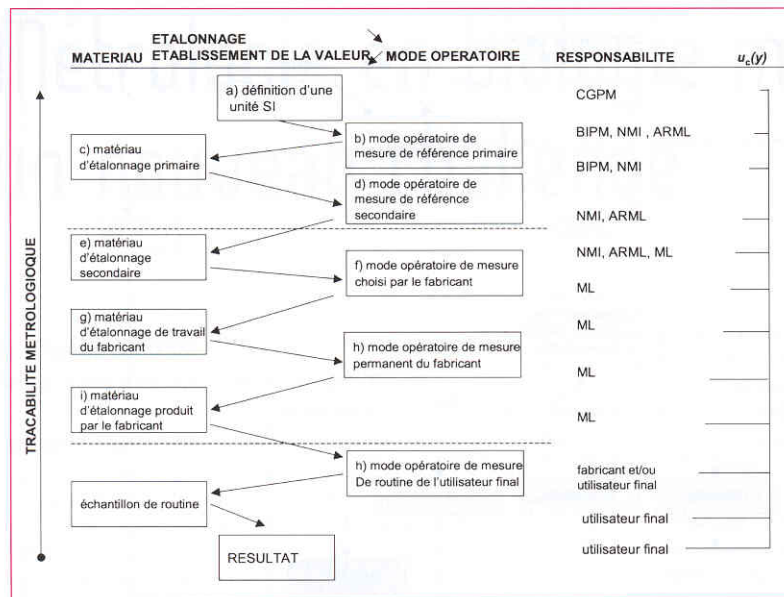


Figure 2 : Hiérarchie d'étalonnage élargie et traçabilité au Système international d'unités d'après la norme NF EN ISO 17511 : 2004

Abréviations :

ARML : laboratoire de mesure de référence accrédité (en anglais : Accredited reference measurement laboratory) (il peut s'agir d'un laboratoire indépendant ou du laboratoire d'un fabricant).

BIPM : Bureau international des poids et mesures

CGPM : Conférence générale sur les poids et mesures

ML : laboratoire du fabricant (en anglais : Manufacturer's laboratory)

NMI : Institut de métrologie nationale (en anglais : National metrology institute)

Le symbole $u_c(y)$ représente l'incertitude-type composée symbolisée par les traits horizontaux dans la partie droite.

La norme décrit cinq façons d'établir une chaîne de traçabilité pour un DM DIV quantitatif en fonction de la disponibilité et du niveau métrologique des méthodes et matériaux de référence disponibles pour les analytes considérés.

De plus, une clause particulière spécifie les exigences concernant les matériaux de contrôle de la justesse. Elle précise que les valeurs assignées aux grandeurs pour lesquelles ils sont caractérisés devraient être établies par des méthodes de niveau métrologique identique ou supérieur à celle ayant servi à déterminer la valeur de l'étalon de la méthode de mesure de routine évaluée. Il est important de noter que les matériaux de contrôle utilisés uniquement pour l'évaluation de la fidélité et les matériaux de contrôle destinés à la maîtrise de la qualité intra laboratoire et fournis avec des intervalles de valeurs acceptables proposées, chaque intervalle ayant fait l'objet d'un consensus inter laboratoire pour un mode opératoire de mesure spécifié avec des valeurs limites sans traçabilité métrologique, sont exclus du champ d'application de cette norme. En fait la traçabilité métrologique des résultats obtenus pour ces contrôles est établie de la même façon que pour les résultats des échantillons de patients : elle dépend de la trousse, de la méthode analytique et de l'étalon utilisés.

Il est estimé, généralement, que plus de 700 analytes différents peuvent être analysés en routine par les LABM mais très peu d'entre eux sont suffisamment bien définis et disposent de matériaux et méthodes de référence pour être traçables jusqu'au SI. '

La réponse à cette problématique a été :

2) La création du JCTLM (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine)[11].

Cette initiative a été prise, notamment sous l'impulsion des fabricants de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, pour contribuer à apporter une réponse à cette question complexe. Ce comité a été créé par les organisations suivantes : le Comité International des Poids et Mesures (CIPM), l'International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) et l'International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC). Le JCTLM est constitué de deux groupes de travail visant, pour le premier à l'élaboration de deux listes de matériaux et de méthodes de référence et, pour le second, à la sélection de laboratoires de référence.

Concernant le premier groupe de travail, une première liste déjà élaborée comporte des matériaux et des méthodes de référence pour des composants chimiques et biologiques dont le mesurande peut être clairement défini et dont les valeurs peuvent être traçables aux unités du Système International d'unités (SI). Dans cette liste figurent des électrolytes, enzymes, hormones, médicaments, et métabolites. Une seconde liste, comportant des analytes dont la traçabilité au SI n'est pas établie mais qui ont fait l'objet d'un consensus international, a également été développée et son implémentation se poursuit. [12]

Ces listes permettront aux fabricants de DM DIV et éventuellement aux LABM d'avoir accès à des matériaux de référence certifiés qui seront disponibles auprès de producteurs reconnus.

V. INCERTITUDE DE MESURE EN BIOLOGIE MÉDICALE

La problématique de la traçabilité des analyses étant maintenant prise en compte, les LABM doivent se poser la question de l'appréciation de la qualité de leurs résultats par l'évaluation de l'incertitude des résultats d'analyse. Cette exigence figure dans différents référentiels : réglementaire, comme le Guide de Bonne exécution des analyses (GBEA) [13] et, pour les LABM désirant voir leur compétence reconnue dans une démarche volontaire d'accréditation par le Comité Français d'Accréditation (CO FRAC), la norme internationale NF EN ISO 15189 « Laboratoires d'analyse de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence » [14].

Pour les laboratoires des établissements hospitaliers, l'accréditation COFRAC est prise en considération dans le cadre de l'accréditation de l'établissement par l'ANAES selon l'accord de coopération ANAES-COFRAC du 11 décembre 2004. Ces référentiels ont une exigence commune : l'évaluation de l'incertitude de leurs résultats d'analyses par les LABM. De plus, il a été vu, au chapitre précédent, que le concept d'incertitude de mesure est indissociable de celui de traçabilité métrologique.

Quelques organisations ont récemment abordé cette problématique. [15]

Un protocole très accessible aux LABM, et le seul à ce jour à être utilisé très largement en routine, a été développé par l'Australasian Association of Clinical Chemists (AACB) [16] et reconnu par le NATA (organisme d'accréditation australien - en Australie, tous les laboratoires de biologie médicale ont l'obligation d'être accrédités selon les exigences de l'ISO 15189 et par conséquent d'évaluer l'incertitude de mesure pour tous les analytes qu'ils déterminent). Il peut être résumé ainsi :

- l'estimation de l'incertitude de mesure la plus pertinente pour les cliniciens, clients des laboratoires d'analyses médicales, est l'infidélité totale d'une méthode quantitative telle qu'elle est évaluée par le contrôle interne de qualité (CIQ) de routine. Elle consiste à :
- Définir le ou les mesurandes de la méthode et les limites et interférences cliniquement importantes.

- Enregistrer l'infidélité moyenne à long terme du CIO comme estimation de l'incertitude de mesure ($\pm 1,96$ ET ou $\pm 1,96$ CV%). L'incertitude de la valeur affectée à un étalon pouvant également être incluse, si elle est disponible. Pour les méthodes bien établies, il est recommandé d'utiliser les données d'au minimum six mois de contrôle interne de qualité pour calculer l'infidélité de routine, mises à jour au moins une fois par an dans la mesure du possible. Pour les nouvelles méthodes, il convient d'utiliser des données d'évaluation comprenant au moins 30 points de données pour chaque niveau de CIO sur au moins deux lots différents d'étalons et de réactifs pour fournir une estimation provisoire de l'incertitude de mesure.
- Si cela est cliniquement pertinent, définir l'objectif analytique pour l'estimation de l'incertitude de mesure en relation avec l'utilisation clinique des résultats de l'analyse, à l'aide de la variation biologique, selon l'approche décrite par C. Ricos et al. [11]. Si nécessaire, une approche similaire de définition d'objectif peut être utilisée pour l'erreur analytique totale (biais + infidélité).

Il est évident que les cliniciens ne sont pas encore familiarisés avec la pratique de ce nouveau concept, leurs besoins en termes d'incertitude acceptable ne sont pas formalisés et un effort certain d'éducation est nécessaire et il n'est pas envisageable, aujourd'hui, de transmettre ces données concernant l'incertitude de mesure de façon systématique. Le laboratoire pourra tenir disponible un fichier répertoriant pour chaque paramètre les éléments relatifs à leur incertitude de mesure.

VI. CONCLUSION

Le développement de la métrologie dans les LABM est un nouveau challenge qui permettra, à terme, d'assurer une meilleure transférabilité des résultats de patients ainsi qu'une démonstration plus efficace de la qualité des analyses en s'assurant, quand cela est possible, de leur traçabilité et de l'incertitude de mesure attachée à leur résultat.

L'introduction de la directive européenne 98/19/CE pour les fabricants de DM DIV et l'intérêt croissant des LABM pour la mise en place de systèmes de management de la qualité et de reconnaissance de leurs compétences par l'accréditation selon l'ISO 15189, représentent une stimulation supplémentaire pour la connaissance de cette discipline.

Cette évolution se fera en collaboration avec les fournisseurs industriels et avec l'aide des sociétés savantes telles que la Société Française de Biologie Clinique dont le groupe Assurance Qualité et Métrologie développe actuellement un ensemble de publications et de recommandations dans ce domaine [18, 19].

REFERENCES

- [1] NF X 07 -001: 1994: Normes fondamentales - Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie, AFNOR.
- [2] ISO 3534-1: 1993 Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 1 : Probabilité et termes statistiques généraux, AFNOR.
- [3] NF X 15-140:2002: Enceinte climatique thermostatique -Caractérisation et vérification, AFNOR.
- [4] NF EN ISO 8655-6:2003 : Appareils volumétriques à piston Partie 6 : Méthodes gravi métriques pour la détermination de l'erreur de mesure, AFNOR.
- [5] FD X 07 -016 : 1993 : Métrologie-Essais - Métrologie dans l'entreprise : Modalités pratiques pour l'établissement des procédures d'étalonnage et de vérification des moyens de mesure, AFNOR.
- [6] Directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro du 27 octobre 1998 - journal Officiel des Communautés Européennes du 7 décembre 1998
Disponible à :
http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/oj/1998/1_331/1_33119981207frOOO10037.pdf
- [7] Ordonnance N° 2001-198 du 1er mars 2001 relative à la transposition de la Directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro - journal Officiel de la République Française n° 53 du 3 mars 2001 disponible à :
<http://admi.net/jo/20010303/MESXO100017R.html>,
- [8] Décret n° 2004- 108 du 4 février 2004 relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro Et modifiant le code de la santé publique - journal Officiel de la République Française du 6 février 2004.
Disponible à : <http://www.sante.gouv.fr/adm/dagpb/bo/2004/04-06/aO060452.htm>
- [9] Liste des normes harmonisées. Communication de la Commission dans le cadre de la mise en œuvre de la directive 98/79/CE du Parlement européen et du Conseil du 27 octobre 1998 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro journal officiel de l'Union Européenne du 2 juin 2006. Disponible à :
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/oj/2006/ c-129 / c-12920060602frOO050007.pdf>

- [10] NF EN ISO 17511:2004 : Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro : Mesurage des grandeurs dans des échantillons d'origine biologique -Traçabilité des valeurs attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle, AFNOR
- [11] Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine, Préambule Disponible à : <http://www.bipm.org/utis/en/pdf/Preamble.pdf>
- [12] Listes I et II du JCTLM disponibles à : <http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctim/jctlm-db/>
- [13] Guide de bonne exécution des analyses, Arrêté du 26 novembre 1999- JO du 11 décembre 1999 Disponible à : <http://www.admi.net/jo/19991211/MESP9923609A.html>
- [14] NF EN ISO 15189: 2003 laboratoires d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence
- [15] Estimation of uncertainty of measurement in medical laboratories, European Diagnostic Manufacturer Association - disponible à : http://www.edma-ivd.be/fileadmin/user_upload_documents/Position_Papers/Estimation_of_uncertainty.pdf
- [16] White GH, Farrance 1. Uncertainty of Measurement in Quantitative Medical Testing - A Laboratory Implementation Guide. Clin Biochem Rev 2004; 25 (Suppl ii). Disponible à : <http://www.aacb.asn.au/pubs/uncertainty%20of%20measurement.pdf>
- [17] 21. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current databases on biological variations : pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest 1999; 59: 491-500.
- Une liste mise à jour est disponible à : <http://www.westgard.com/biodatabasel.htm>
- [18] Dumontet M., Fus-Ohlin I., Beaudoux J.-L., Perrin A., Vassault A., Giroud C., Le Moel G., Geitel F., Ziani S., Zerah S., Robineau S., Braconnier F. Présentation à l'usage des laboratoires d'analyses de biologie médicale des normes de métrologie (Document A), Ann. Biol. Clin., 2004, 62: 121 - 125
- [19] Dumontet M., Vassault A., Fuss-Ohlen I., Geitel F., Perrin A., Giroud C., Robineau., Braconnier F., Beaudoux J.-L." Le Moel G. Recommandations pour l'installation de la fonction métrologie et de la documentation correspondante (Document B), Ann. Biol. Clin., 2004, 62 : 479 - 486