



## NOTE TECHNIQUE N°16

### FASCICULE N°1

## LES BAREMES DE FIDELITE CYTOLOGIE DES URINES

Ce document est diffusé à titre informatif et est basé sur des résultats et observations d'essais interlaboratoires d'A.G.L.A.E.

**DECEMBRE 2024**

**Rédacteurs :**

- Mylène MARECHAL
- Olivier MOLINIER

**Association AGLAE**

Parc des Pyramides  
427 rue des Bourreliers  
59320 Hallennes lez Haubourdin  
☎ +33 (0)3 20 16 91 40  
[contact@association-aglae.fr](mailto:contact@association-aglae.fr)  
[www.association-aglae.fr](http://www.association-aglae.fr)



## RESUME

Dans cette note technique, A.G.L.A.E. communique plus de 8 ans d'expérience pour vous aider à comprendre et interpréter les barèmes de fidélité dans le cadre des analyses de cytologie dans les urines.

Pour les paramètres considérés, l'évolution de la répétabilité et de la reproductibilité en fonction du niveau de concentration est présentée dans l'objectif d'appréhender statistiquement la variabilité des dénombrements des cellules en routine.

Les incidences sur les calculs d'incertitude de mesure, au seuil décisionnel, à l'échelle de la profession et les perspectives en termes d'outils de calculs sont également abordées dans cette note technique, la première d'une série de plusieurs fascicules couvrant le sujet, à partir de données d'essais interlaboratoires.



## SOMMAIRE

1. INTRODUCTION.....	5
2. LES DONNEES.....	5
3. METHODES .....	6
4. RESULTATS DE L'ANALYSE DES LEUCOCYTES PAR SYSMEX UF® ANALYSERS.....	7
5. RESULTATS ET DISCUSSIONS AUTOUR DE L'ANALYSE DES LEUCOCYTES PAR AUTOMATE BECKMAN / IRIS IQ® INSTRUMENTS .....	9
6. RESULTATS ET DISCUSSION AUTOUR DE L'ANALYSE DES LEUCOCYTES PAR MICROSCOPIE MANUELLE .....	11
7. COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE DES LEUCOCYTES.....	12
8. COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE DES HEMATIES.....	13
9. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	14
10. CONCEPTION ET REALISATION DE LA NOTE TECHNIQUE .....	14
11. BIBLIOGRAPHIE.....	14
ANNEXE 1 : BAREMES DE FIDELITE ETABLIS POUR LES HEMATIES.....	16
RESULTATS DE L'ANALYSE DES HEMATIES PAR SYSMEX UF ANALYSERS .....	16
RESULTATS DE L'ANALYSE DES HEMATIES PAR BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS .....	16
RESULTATS DE L'ANALYSE DES HEMATIES PAR ANALYSE MANUELLE.....	17
COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE DES HEMATIES.....	17

## TABLE DES FIGURES

<i>Figure 1 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log pour l'analyse par automate Sysmex UF Analysers .....</i>	7
<i>Figure 2 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log pour l'analyse par automate Beckman / IRIS IQ instruments.....</i>	9
<i>Figure 3 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log pour l'analyse par microscopie manuelle .....</i>	11
<i>Figure 4 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log.....</i>	12
<i>Figure 5 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log pour l'analyse par automate Sysmex UF Analysers.....</i>	16
<i>Figure 6 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log pour l'analyse par automate Beckman / IRIS IQ instruments.....</i>	16
<i>Figure 7 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log pour l'analyse par microscopie manuelle.....</i>	17
<i>Figure 8 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (Cv<sub>r</sub> en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log.....</i>	17

## TABLE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 : coefficients de variation et incertitude de mesure élargie observés sur automate Sysmex UF Analysers à deux niveaux de concentration différents en leucocytes.....</i>	8
<i>Tableau 2 : synthèse du comparatif des données publiées sur automates Sysmex UF Analysers avec celles issues du barème A.G.L.A.E. ....</i>	8
<i>Tableau 3 : coefficients de variation et incertitude de mesure élargie observés sur automate BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS à deux niveaux de concentration différents en leucocytes.....</i>	10
<i>Tableau 4 : synthèse du comparatif des données publiées sur automate BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS avec celles issues du barème A.G.L.A.E.....</i>	10
<i>Tableau 5 : coefficients de variation et incertitude de mesure élargie observés en méthodes manuelles à deux niveaux de concentration différents en leucocytes .....</i>	12
<i>Tableau 6 : coefficients de variation observés (échelle log) par chacune des trois techniques à trois niveaux de concentration différents en leucocytes (cellules par <math>\mu</math>L).....</i>	13
<i>Tableau 7 : coefficients de variation observés (échelle log) par chacune des trois techniques à 100 hématies par <math>\mu</math>L. ....</i>	13

## 1. INTRODUCTION

Parallèlement à l'objectif premier des essais d'aptitude qui est de répondre à la question "est-ce que les résultats d'analyse de mon laboratoire sont satisfaisants", d'autres questions sont posées lors de la conduite de chaque essai :

- Quelle est la concentration cellulaire retrouvée avec les matériaux d'essai ?
- Quelle est la dispersion (distribution des résultats) autour de cette concentration observée par le panel de laboratoires ?

L'exploitation statistique des résultats des participants permet de répondre à ces deux questions pour chaque enquête.

Pour chaque paramètre analytique, une étude transversale des données obtenues pour un grand nombre d'essais d'aptitude permet d'établir une estimation de la dispersion interlaboratoires en tout point de la gamme de quantification.

Ces estimations pourront aider les laboratoires dans le cadre d'habilitation de personnel ou de l'élaboration de dossiers de vérification et / ou de comparaison de méthodes.

## 2. LES DONNEES

Cette étude a été menée à partir des données d'essais interlaboratoires réalisés dans le cadre du programme 80 – Cytobactériologie des urines, pour des Evaluations Externes de Qualité conduites entre 2012 et 2021.

Une quarantaine d'essais interlaboratoires sont à l'origine des données exploitées transversalement pour élaborer les barèmes de fidélité.

Les matrices utilisées pour préparer les échantillons étaient des urines synthétiques. Les dopages ont été réalisés avec des leucocytes et des hématies d'origine humaine.

Les méthodes employées par les participants pour la recherche et le dénombrement des cellules sont principalement :

- ✚ **L'analyse microscopique manuelle** : prélèvement d'urine fraîche introduite dans une cellule de comptage (KOVA slides, Malassez...), mise au point du microscope pour dénombrement des différentes cellules classifiées par un opérateur ;
- ✚ **Les automates BECKMAN / IRIS IQ® INSTRUMENTS** : urine aspirée et cellules orientées dans un flux cellulaire hydrodynamique puis nombreuses photographies numériques haute définition analysées par un logiciel de reconnaissance automatique des particules ;
- ✚ **Les automates SYSMEX UF® ANALYSERS** : échantillon prélevé et acheminé vers une chambre de mesure utilisant une focalisation hydrodynamique puis coloration par sondes fluorescentes spécifiques avant une analyse optique des signaux pour classer les cellules.

A noter que d'autres automates (I2a, A. Menarini Diagnostics, Roche) sont représentés dans nos essais interlaboratoires mais le faible nombre d'utilisateurs ne permet pas une exploitation statistique des données.

### 3. METHODES

#### 3-1 Exploitation des résultats d'essais interlaboratoires

Les moyennes et les écart-types de reproductibilité interlaboratoires ont été estimés à partir des résultats des participants ayant mis en œuvre leurs analyses dans la période raisonnable pour le début de traitement des échantillons. Ce mode de traitement permet de ne pas intégrer d'interférence liée à d'éventuelles instabilités lors des calculs statistiques.

Ces valeurs ont été calculées selon les lignes directrices des normes ISO 13528, ISO 5725-1 et ISO 5725-2 avec utilisation de tests de détection des aberrants. Le modèle log-Normal est celui communément employé pour ajuster des données de comptages (transformation des données en logarithme de base 10 pour obtenir une courbe de distribution normale selon l'ISO 22117).

#### 3-2 Elaboration des modèles de reproductibilité et de répétabilité

Les modèles d'évolution de la reproductibilité interlaboratoires en fonction des niveaux de concentration cellulaire ont été élaborés pour chaque paramètre.

Dans un premier temps, cette modélisation a consisté à retenir le meilleur ajustement mathématique des nuages de points des écart-types de reproductibilité  $s_R$  en fonction des moyennes  $m$  exprimés dans une échelle log en suivant les lignes directrices de la norme ISO 5725-2.

Dans un second temps, une représentation des nuages de points et des modèles obtenus (barèmes) a été réalisée en retenant le coefficient de variation  $CVR\%$  pour l'axe des ordonnées et la moyenne  $m$  pour l'axe des abscisses, avec :

- Dans l'échelle log :  $CVR\% = s_R / m \times 100$

La même approche a été employée pour la modélisation des données obtenues en répétabilité :

- Dans l'échelle log :  $CVR\% = s_r / m \times 100$

Les données de répétabilité ont été recueillies lors des essais inter-laboratoires des campagnes 2012 à 2017, mis en œuvre avec un plan comportant des mesures répétées (2 répliques sur 2 échantillons issus du même lot de fabrication pour chaque essai).

#### 3-3 Expression de l'incertitude de mesure

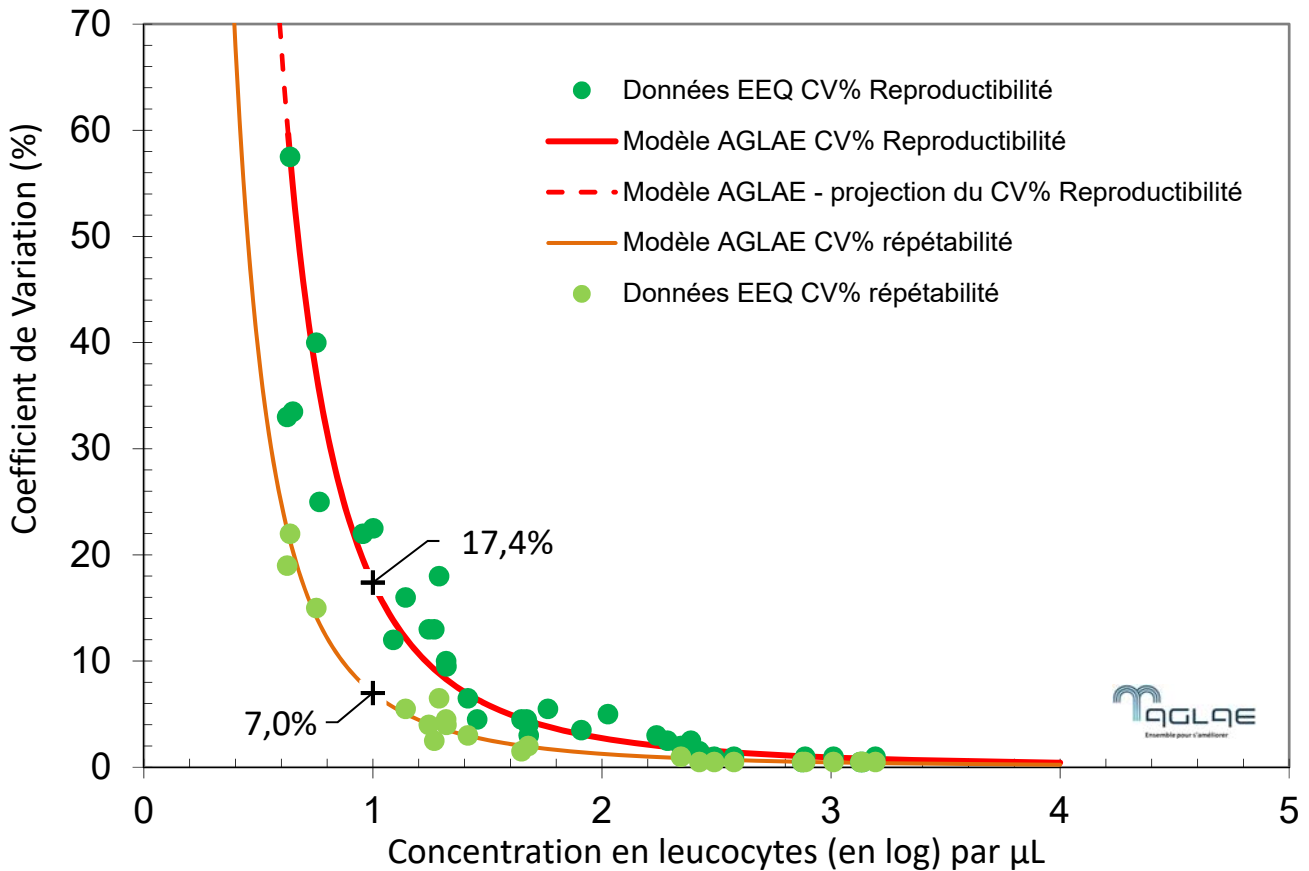
Les lignes directrices de la norme expérimentale XP ISO/TS 20914 ont été suivies pour l'expression de l'incertitude de mesure, ceci dans les conditions spécifiées (en répétabilité ou en reproductibilité interlaboratoires).

Ainsi les écart-types (ou incertitude-types) en log, estimés en répétabilité ( $s_r$ ) d'une part et en reproductibilité ( $s_R$ ) d'autre part ont été multipliés par le facteur d'élargissement  $k$ , égal à 2, pour obtenir une incertitude élargie,  $U$ , de sorte que  $x \pm U$  représente un intervalle élargi comprenant environ 95 % des valeurs possibles du mesurande sur les matériaux test.

Les intervalles élargis obtenus ont finalement pu être exprimés dans l'échelle initiale de mesure, en nombre de cellules par  $\mu\text{L}$ , en retransformant les limites  $IC_{\text{inf}95\%}$  et  $IC_{\text{sup}95\%}$  selon les formules :

$$IC_{\text{inf}95\%} = 10^{(IC_{\text{inf}95\% \text{ en log}})} \text{ et } IC_{\text{sup}95\%} = 10^{(IC_{\text{sup}95\% \text{ en log}})}$$

#### 4. RESULTATS ET DISCUSSIONS AUTOUR DE L'ANALYSE DES LEUCOCYTES PAR SYSMEX UF® ANALYSERS



**Figure 1 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVr en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log pour l'analyse par automate Sysmex UF Analysers**

**Note :** pour chaque technique, le barème illustre **la dispersion minimale et maximale** (coefficient de variation en répétabilité et en reproductibilité interlaboratoires respectivement) à laquelle la profession doit s'attendre **pour tout point de la gamme de travail**.

Il peut être observé que la dispersion des résultats évolue selon la concentration cellulaire. Quand le nombre de cellules dénombrées augmente, le pourcentage de variation décroît. Cette allure de l'évolution de CV% en fonction du niveau de concentration est commune dans le domaine analytique (Modèle d'Horwitz, *AMC technical brief No. 17 / Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods*). Il est également à noter que la variation relative est bien plus importante pour les faibles dénombrements (< 10 leucocytes par µL soit < 1,0 en log). Cette caractéristique est particulièrement bien relayée dans les références normatives sur les dénombrements microbiologiques (ISO 13843 / ISO 19036) qui traitent d'un analyte dont l'aspect particulaire en suspension préalablement à la prise d'essai se rapproche d'un dénombrement de leucocytes.

**Note :** l'annexe A de l'ISO 13843 rappelle à ce sujet : La variation aléatoire du nombre de particules entre des prises d'essai parallèles est considérable, même si la suspension est parfaitement homogénéisée (complètement aléatoire) et qu'aucune incertitude technique de mesurage n'est prise en compte. La variation intrinsèque inévitable est une propriété des suspensions et elle est identique pour toutes les méthodes de comptage microscopiques et de comptage des colonies. Elle peut être modélisée mathématiquement par la distribution de Poisson.

Niveau de concentration en leucocytes	CVr %	CVR %	Intervalle élargi à 95% répétabilité	Intervalle élargi à 95% Reproductibilité interlaboratoires
10 / $\mu$ L	7,0	17,4	7 - 14	4 - 22
40 / $\mu$ L	2,2	5,0	34 - 47	28 - 58

**Tableau 1 : coefficients de variation et incertitude de mesure élargie observés sur automate Sysmex UF Analysers à deux niveaux de concentration différents en leucocytes**

Pour l'analyse par automate Sysmex UF Analysers, à un niveau de concentration moyen de 10 leucocytes par prise d'essai (soit autour de 1,0 en log), la variabilité observée en répétabilité (échelle log) est de 7% et celle en reproductibilité interlaboratoires est de 17%.

- ➔ Autrement dit, à un niveau leucocytaire moyen égal à 10 par  $\mu$ L, les mesures répétées obtenues dans un même laboratoire se situent dans l'intervalle élargi entre 7 et 14 leucocytes par prise d'essai, avec un niveau de confiance de 95% ;
- ➔ A ce même niveau de concentration, les résultats d'un laboratoire à un autre se situent dans l'intervalle élargi entre 4 et 22 leucocytes par prise d'essai, avec un niveau de confiance de 95%.

Les modèles obtenus sont cohérents avec les données présentées dans les différentes bibliographies suivantes :

- 1/ « Performance evaluation of the new fully automated urine particle analyser UF-5000 compared to the reference method of the Fuchs-Rosenthal chamber » *Clinica Chimica Acta* 472 (2017) 123–130 - G. Previtali et al ;
- 2/« Evaluation of the analytical performances of Cobas 6500 and Sysmex UN series automated urinalysis systems with manual microscopic particle counting » *Biochem Med (Zagreb)*. 2018 Jun 15;28(2). B. Ebubekir et al ;
- 3/ « Performance evaluation of UF-4000 body fluid mode for automated body fluid cell counting » *Clin Chim Acta*. 2022 Jun 1;531:152-156 - M. Siatkowski et al.

Référence	Composante	Niveau de concentration en leucocytes	Bibliographie		A.G.L.A.E.	
			CV %	Intervalle élargi à 95%	CV % (ech. Log)	Intervalle élargi à 95%
1	Répétabilité	12,8 / $\mu$ L	10,16	<b>10 - 15</b>	5,4	<b>10 - 17</b>
1	Intralaboratoire <sup>(a)</sup> / interlaboratoires <sup>(b)</sup>	40,8/ $\mu$ L	4,1	<b>37 - 44<sup>(a)</sup></b>	4,9	<b>28 - 59<sup>(b)</sup></b>
2	Répétabilité	38,5/ $\mu$ l	9,2	<b>31 - 46</b>	2,2	<b>33 - 46</b>
2	Intralaboratoire <sup>(a)</sup> / interlaboratoires <sup>(b)</sup>	38,5/ $\mu$ l	3,2 <sup>(c)</sup>	<b>36 - 41<sup>(a)</sup></b>	5,1	<b>26 - 55<sup>(b)</sup></b>
3	Répétabilité <sup>(d)</sup>	45/ $\mu$ l	5,1	<b>40 - 50</b>	2,02	<b>38 - 52</b>
3	Répétabilité <sup>(e)</sup>	7,2/ $\mu$ l	8,8	<b>6 - 8</b>	10,2	<b>5 - 11</b>

<sup>(a)</sup> composante estimée dans des conditions intralaboratoires

<sup>(b)</sup> composante estimée dans des conditions interlaboratoires

<sup>(c)</sup> sous l'hypothèse probable d'une estimation de la composante intralaboratoire ajustée de la composante de répétabilité

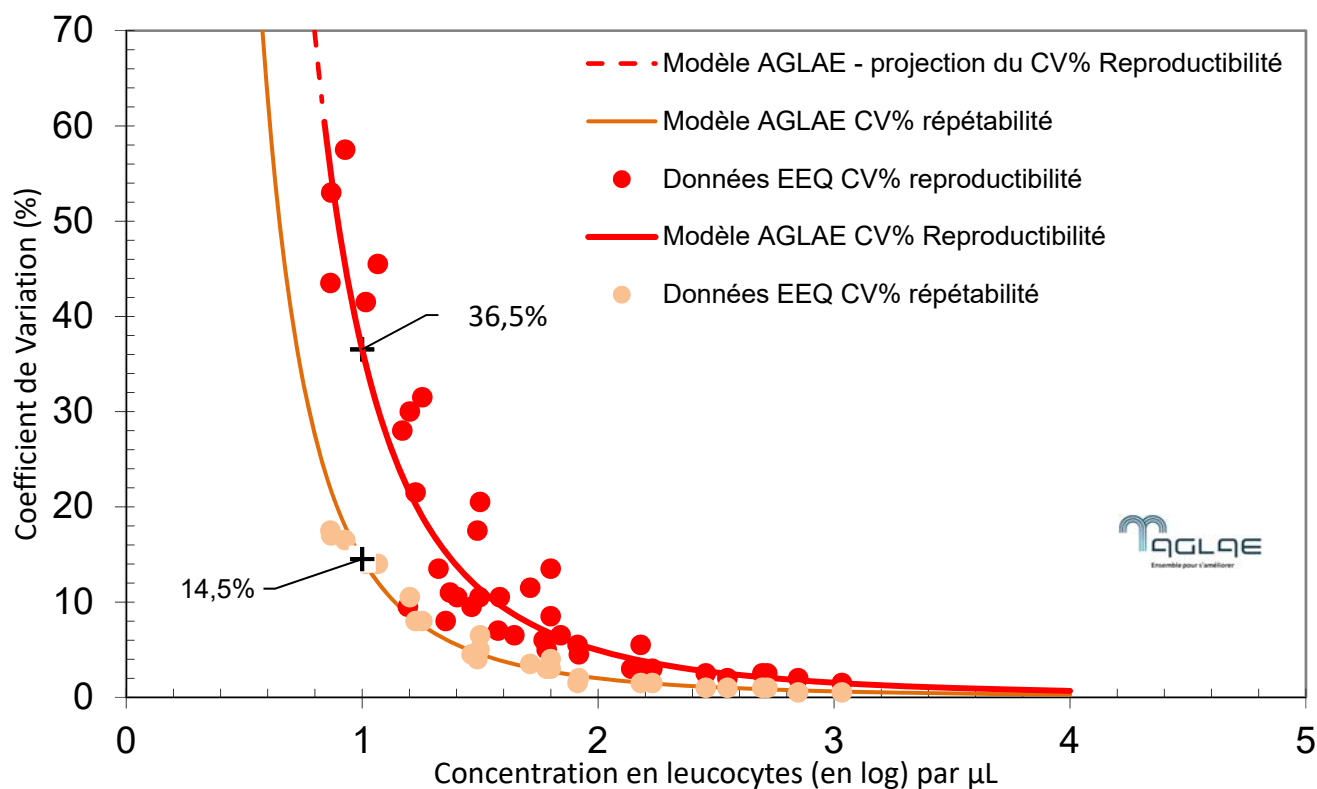
<sup>(d)</sup> composante estimée dans des conditions de répétabilité sur des liquides ascitiques

<sup>(e)</sup> composante estimée dans des conditions de répétabilité sur des liquides de dialyse péritonéale et cérébrospinal.

**Tableau 2 : synthèse du comparatif des données publiées sur automates Sysmex UF Analysers avec celles issues du barème A.G.L.A.E.**



## 5. RESULTATS ET DISCUSSIONS AUTOUR DE L'ANALYSE DES LEUCOCYTES PAR AUTOMATE BECKMAN / IRIS IQ® INSTRUMENTS



*Figure 2 : représentation graphique du coefficient de variation en réétabilité (CVr en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log pour l'analyse par automate Beckman / IRIS IQ instruments*

*Note : pour chaque technique, le barème illustre **la dispersion minimale et maximale** (coefficient de variation en réétabilité et en reproductibilité interlaboratoires respectivement) à laquelle la profession doit s'attendre **pour tout point de la gamme de travail**.*

Pour cette technique analytique, l'allure classique de variation des CV% par rapport au niveau moyen en leucocytes est également observée.

Niveau de concentration en leucocytes	CVr %	CVR %	Intervalle élargi à 95% répétabilité	Intervalle élargi à 95% Reproductibilité interlaboratoires
10 / $\mu$ L	14,5	36,5	5 - 19	2 - 54
40 / $\mu$ L	3,8	9,4	30 - 53	20 - 80

**Tableau 3 : coefficients de variation et incertitude de mesure élargie observés sur automate BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS à deux niveaux de concentration différents en leucocytes**

Pour l'analyse par automate BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS, à un niveau de concentration moyen de 10 leucocytes par prise d'essai (soit autour de 1,0 en log), la variabilité observée en répétabilité est de 15% (échelle log) alors que celle en reproductibilité interlaboratoires est de 37%.

A un niveau leucocytaire moyen égal à 10 par  $\mu$ L:

- Au sein d'un même laboratoire, les résultats des analyses répétées se situent dans l'intervalle élargi entre 5 et 19 leucocytes par  $\mu$ L, avec un niveau de confiance de 95% ;
- les résultats d'un laboratoire à l'autre se situent dans l'intervalle élargi entre 2 et 54 leucocytes par  $\mu$ L, avec un niveau de confiance de 95% .

Les modèles obtenus conduisent à des estimations d'incertitude de mesure globalement cohérentes avec les données relayées dans les bibliographies ci-dessous :

- 1/ « Evaluation des performances de l'automate de cytologie urinaire Iris iQ1200 ELITE et comparaison avec la méthode manuelle microscopique » Pathologie Biologie, Volume 59, Issue 5, Octobre 2011, Pages 264-268 - G. Dewulf et al ;
- 2/ « Evaluation of iQ200 Automated Urine Microscopy Analyzer » Korean J Lab Med. 2008 Aug;28(4):267-73. Joowon Park and Jongwan Kim.

Référence	Composante	Niveau de concentration en leucocytes	Bibliographie		A.G.L.A.E.	
			CV %	Intervalle élargi à 95%	CV %	Intervalle élargi à 95%
1	Répétabilité	11,1 / $\mu$ L	17,9	7 - 15	12,6	6 - 21
1	Intralaboratoire <sup>(a)</sup> / interlaboratoires <sup>(b)</sup>	969,4 / $\mu$ L	5,57	861 - 1 077 <sup>(a)</sup>	1,6	790 - 1 210 <sup>(b)</sup>
2	Intralaboratoire <sup>(a)</sup> / interlaboratoires <sup>(b)</sup>	38 / $\mu$ L	7,8	32 - 44 <sup>(a)</sup>	9,8	19 - 77 <sup>(b)</sup>
2	Intralaboratoire <sup>(a)</sup> / interlaboratoires <sup>(b)</sup>	90 / $\mu$ L	4,7	89 - 98 <sup>(a)</sup>	5,3	55 - 144 <sup>(b)</sup>

<sup>(a)</sup> composante estimée dans des conditions intralaboratoires

<sup>(b)</sup> composante estimée dans des conditions interlaboratoires

**Tableau 4 : synthèse du comparatif des données publiées sur automate BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS avec celles issues du barème A.G.L.A.E.**

## 6. RESULTATS ET DISCUSSION AUTOUR DE L'ANALYSE DES LEUCOCYTES PAR MICROSCOPIE MANUELLE

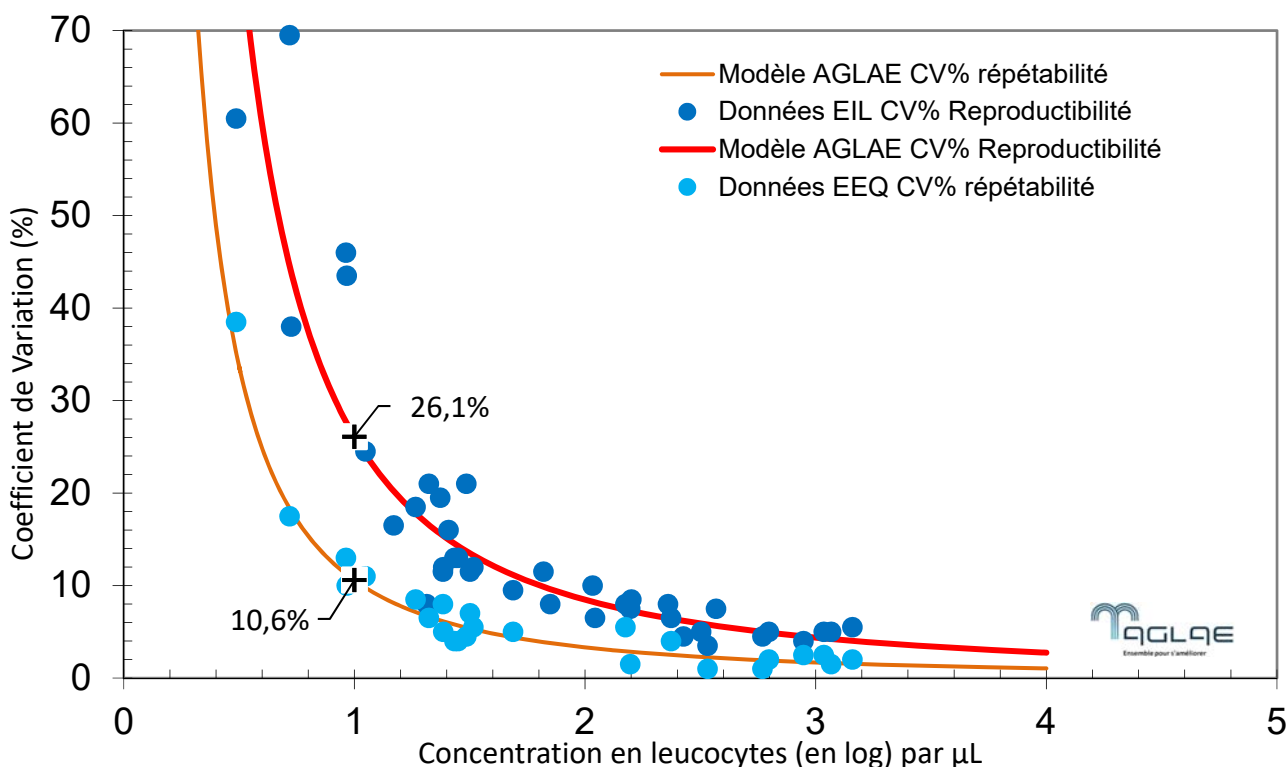


Figure 3 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVr en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log pour l'analyse par microscopie manuelle

**Note :** pour chaque technique, le barème illustre **la dispersion minimale et maximale** (coefficient de variation en répétabilité et en reproductibilité interlaboratoires respectivement) à laquelle la profession doit s'attendre **pour tout point de la gamme de travail**.

Pour cette technique également, le pourcentage de variation décroît lorsque la concentration leucocytaire augmente. La variation minimale attendue est bien décrite dans la norme XP ISO/TS 20914 - § 6.10 qui précise dans un exemple :

« Si un microscope équipé d'une chambre de comptage est utilisé pour effectuer un comptage différentiel manuel des globules blancs dans un frottis sanguin coloré, les comptages ainsi obtenus peuvent suivre une distribution de Poisson plutôt qu'une distribution de Gauss si le type des cellules recherchées représente une faible proportion (généralement < 10 %) du total des cellules comptabilisées. Dans ce genre de situation, les cellules à compter sont distribuées de manière aléatoire dans les carrés de comptage, de sorte que chaque comptage d'un type de cellule spécifique est réputé être réalisé de manière aléatoire dans l'espace et dans le temps et ne pas interagir avec les autres, par exemple lors d'une agglutination. Dans le cas d'une distribution de Poisson, la variance d'un comptage est égale au comptage. Par conséquent,  $SD = \sqrt{\text{comptage}}$  ».

Ce modèle de Poisson nous rappelle également que la variation aléatoire est bien plus importante pour les faibles dénombrements (< 10 leucocytes par µL).

Niveau de concentration en leucocytes	CVr %	CVR %	Intervalle élargi à 95% répétabilité	Intervalle élargi à 95% Reproductibilité interlaboratoires
10 / $\mu$ L	10,6	26,1	6 - 16	3 - 33
40 / $\mu$ L	4,8	12,2	28 - 57	16 - 98

**Tableau 5 : coefficients de variation et incertitude de mesure élargie observés en méthodes manuelles à deux niveaux de concentration différents en leucocytes**

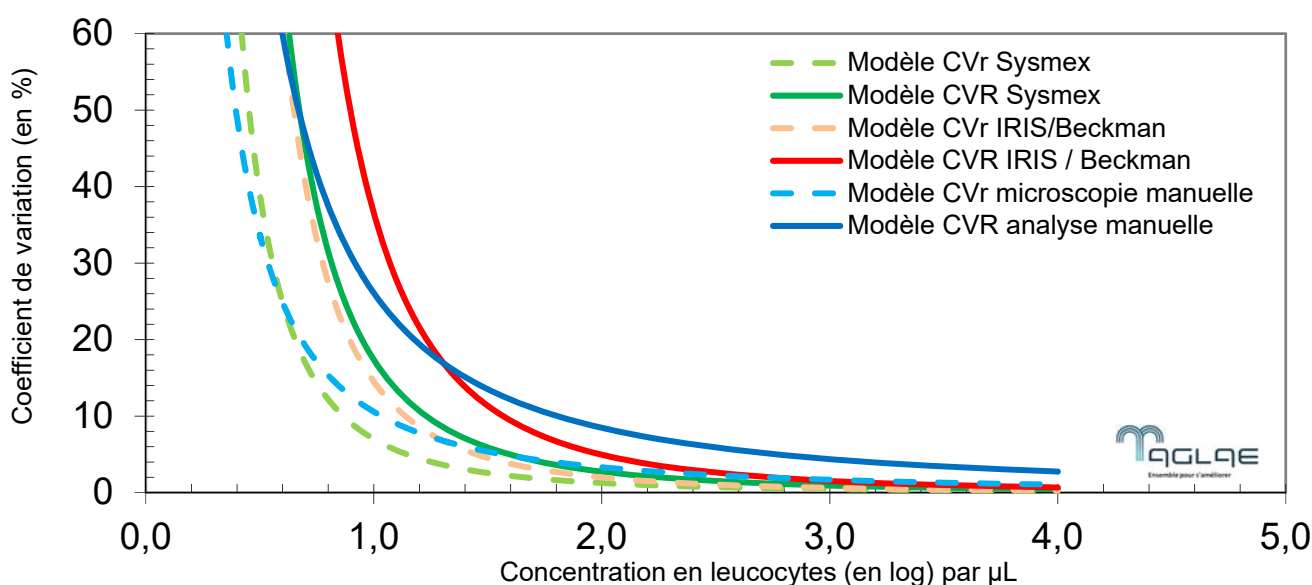
Pour l'analyse manuelle, à un niveau de concentration moyen de 10 leucocytes par prise d'essai (soit autour de 1,0 en log), la variabilité observée (échelle log) en répétabilité est de 11% alors que celle observée en reproductibilité interlaboratoires est de 26%.

- ➔ Autrement dit, pour deux mesures répétées obtenues dans un même laboratoire, le résultat peut varier entre 6 et 16 leucocytes par prise d'essai, avec un niveau de confiance de 95% ;
- ➔ A ce même niveau de concentration, le résultat d'un laboratoire à un autre peut varier entre 3 et 33 leucocytes par prise d'essai, avec un niveau de confiance de 95%.

La littérature relative aux performances obtenues avec cette technique est relativement rare. Les estimations issues du barème A.G.L.A.E. ne peuvent objectivement pas être comparées de manière spécifique comme réalisé pour les méthodes automatisées.

A.G.L.A.E. a entrepris une évaluation de la bonne maîtrise des étapes critiques de cette technique. Depuis 2024, le programme d'EEQ 131 « Cytologie manuelle - Approche des incertitudes de mesure » est dédié à l'évaluation de l'exactitude de l'examen cytologique en microscopie manuelle, avec une orientation vers l'estimation de l'incertitude de mesure pour les laboratoires.

## 7. COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE DES LEUCOCYTES



**Figure 4 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVr en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen de leucocytes en log**

	Seuil = 10 leucocytes (1 log)		100 leucocytes (2 log)		1 000 leucocytes (3 log)	
	CVR%	CVR%	CVR%	CVR%	CVR%	CVR%
Microscopie manuelle	10,6	26,1	3,3	8,5	1,7	4,4
Sysmex UF Analysers	7,0	17,4	1,3	2,7	0,5	0,9
Beckman / IRIS IQ instruments	14,5	36,5	2,0	4,9	0,6	1,5

**Tableau 6 : coefficients de variation observés (échelle log) par chacune des trois techniques à trois niveaux de concentration différents en leucocytes (cellules par  $\mu\text{L}$ )**

D'une manière générale, avec les matériaux testés, les automates Sysmex UF Analysers montrent les dispersions en termes de répétabilité et de reproductibilité interlaboratoires les plus réduites sur la gamme de travail.

Il est intéressant d'observer deux tendances différentes selon le niveau de concentration en leucocytes :

- ➔ Sur les faibles niveaux (<20 leucocytes par  $\mu\text{L}$ , soit de l'ordre de 1,3 log), la dispersion des résultats obtenus par analyse manuelle reste la plus proche de celle obtenue par les automates Sysmex UF Analysers, notamment au seuil décisionnel.
- ➔ Au-delà de 100 leucocytes par  $\mu\text{L}$  (soit 2 log), les résultats des automates BECKMAN / IRIS IQ INSTRUMENTS montrent une dispersion se rapprochant de celle des automates Sysmex UF Analysers.

## 8. COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE DES HEMATIES

Concernant les hématies, la même exploitation a été mise en œuvre afin de proposer des barèmes de fidélité pour chaque technique. Chaque barème illustre la dispersion minimale et maximale (coefficient de variation en répétabilité et en reproductibilité interlaboratoires respectivement) à laquelle la profession doit s'attendre pour tout point de la gamme de travail. Les modèles obtenus conduisent à des estimations d'incertitude de mesure globalement cohérentes avec les données relayées dans les bibliographies parcourues lors de cette étude (cf. §4 et §5). Le tableau ci-dessous présente la dispersion attendue en termes de coefficients de variation, à 100 hématies par  $\mu\text{L}$ .

	100 hématies par $\mu\text{L}$ (2 log)	
	CVR% [Intervalle de Confiance élargi à 95%]	CVR% [Intervalle de Confiance élargi à 95%]
Microscopie manuelle	4,3 [67 ; 149]	12,3 [32 ; 311]
Sysmex UF Analysers	1,5 [88 ; 114]	3,0 [76 ; 132]
Beckman / IRIS IQ instruments	1,5 [87 ; 115]	6,7 [54 ; 186]

**Tableau 7 : coefficients de variation observés (échelle log) par chacune des trois techniques à 100 hématies par  $\mu\text{L}$ .**

Les dispersions observées par les automates sont dans l'ensemble plus réduites que celles obtenues par analyse manuelle. L'ensemble des graphiques est présenté en Annexe de la présente note technique.

## 9. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les barèmes de fidélité établis grâce aux données obtenues lors d'Évaluations Externes de la Qualité successives sont cohérents avec les différentes études présentes dans la littérature.

L'autre composante de l'exactitude, non abordée dans cette note technique, concerne les biais entre méthodes. Il en est fréquemment observé et ils sont décrits dans les rapports de comparaison interlaboratoires publiés tout au long de la campagne d'EEQ.

Les barèmes de fidélité élaborés ont finalement permis la mise en place de calculs relatifs à l'estimation de l'incertitude de mesure. Les intervalles de confiance à 95% déterminés pourront servir à la comparaison d'un résultat d'analyse à une valeur admissible, à la comparaison de caractéristiques de performances des méthodes, pour les dossiers de vérification de méthodes ou encore dans le cadre des habilitations du personnel.

Une mise en application pratique, étayée par des exemples numériques, est à paraître dans une autre note technique sur la même thématique.

## 10. CONCEPTION ET REALISATION DE LA NOTE TECHNIQUE

La présente note technique a été réalisée par l'équipe d'Exploitation Biologie, en collaboration avec l'équipe Technique et la Direction d'AGLAE.

## 11. BIBLIOGRAPHIE

AMC technical brief No. 17, July 2004, M. Thompson (ed.), The amazing Horwitz function, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).

Dewulf et al. Evaluation des performances de l'automate de cytologie urinaire Iris iQ1200 ELITE et comparaison avec la méthode manuelle microscopique » Pathologie Biologie, Volume 59, Issue 5, Octobre 2011, Pages 264-268.

Ebubekir et al. Evaluation of the analytical performances of Cobas 6500 and Sysmex UN series automated urinalysis systems with manual microscopic particle counting. Biochem Med (Zagreb). 2018 Jun 15;28(2).

ISO 13528:2022 - Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires

ISO 5725-1:2023 -Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Partie 1: Principes généraux et définitions

ISO 5725-2:2019 - Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Partie 2: Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée

ISO 22117:2019 - Microbiologie de la chaîne alimentaire — Exigences spécifiques et recommandations relatives aux essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires

ISO 13843:2017 - Qualité de l'eau — Exigences pour l'établissement des caractéristiques de performance des méthodes microbiologiques quantitatives



ISO 19036:2019 - Microbiologie de la chaîne alimentaire — Estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives

Joowon Park and Jongwan Kim. Evaluation of iQ200 Automated Urine Microscopy Analyzer. Korean J Lab Med. 2008 Aug;28(4):267-73.

Magnusson B. and Örnemark U. (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).”

Previtali et al. Performance evaluation of the new fully automated urine particle analyser UF-5000 compared to the reference method of the Fuchs-Rosenthal chamber. Clinica Chimica Acta 472 (2017) 123–130.

Siatkowski et al. Performance evaluation of UF-4000 body fluid mode for automated body fluid cell counting » Clin Chim Acta. 2022 Jun 1:531:152-156.

XP ISO/TS 20914 :2020 - Laboratoires de biologie médicale - Recommandations pratiques pour l'estimation de l'incertitude de mesure

ANNEXE : BAREMES DE FIDELITE ETABLIS POUR LES HEMATIES

RESULTATS DE L'ANALYSE DES HEMATIES PAR SYSMEX UF<sup>®</sup> ANALYSERS

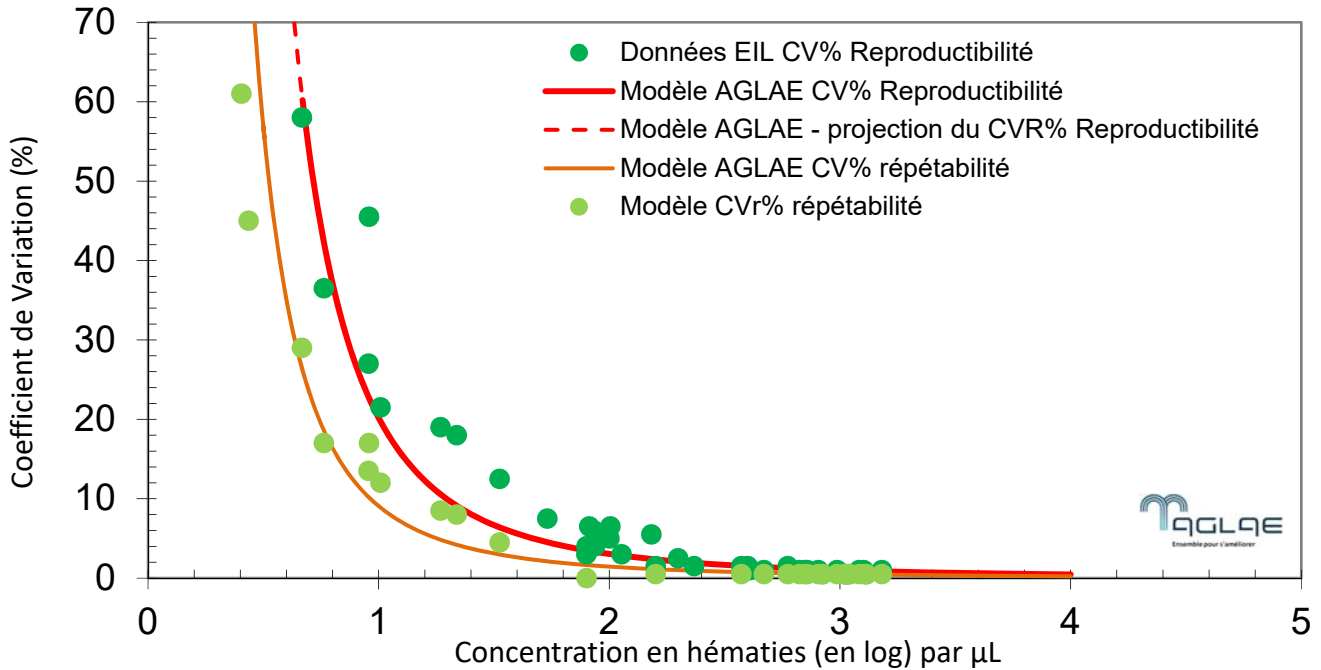


Figure 5 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVR en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log pour l'analyse par automate Sysmex UF Analysers

RESULTATS DE L'ANALYSE DES HEMATIES PAR BECKMAN / IRIS IQ<sup>®</sup> INSTRUMENTS

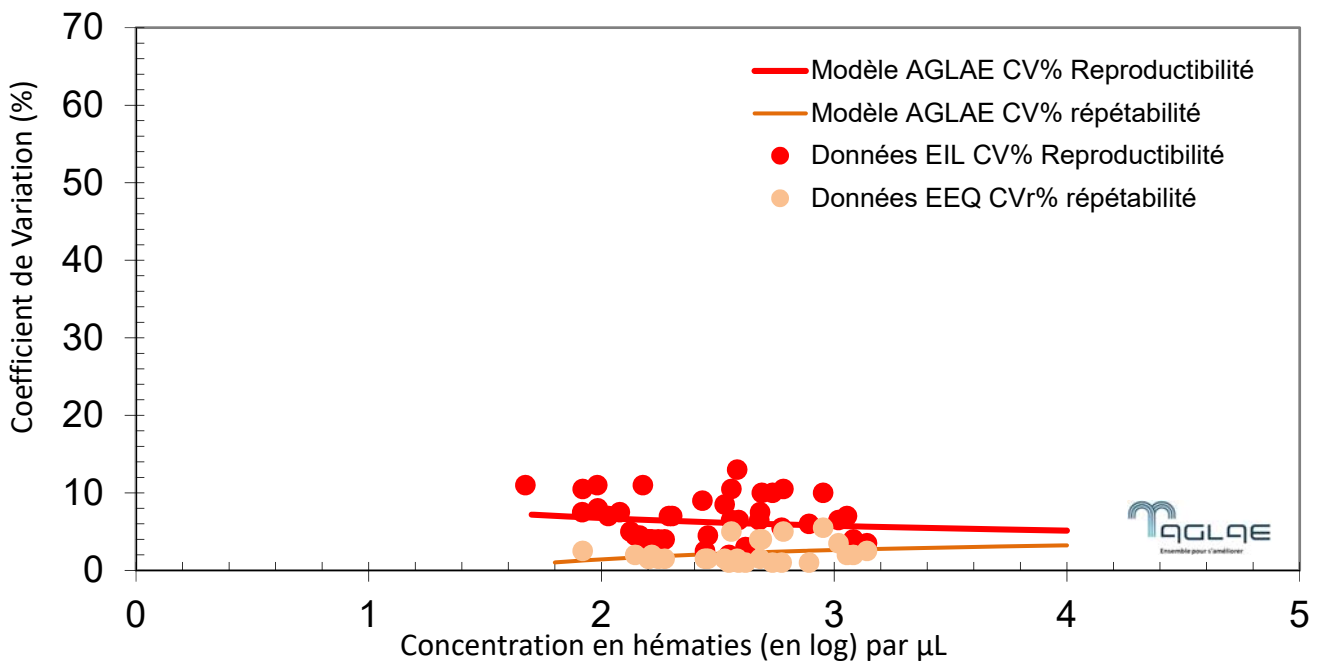


Figure 6 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVR en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log pour l'analyse par automate Beckman / IRIS IQ instruments



### RESULTATS DE L'ANALYSE DES HEMATIES PAR ANALYSE MANUELLE

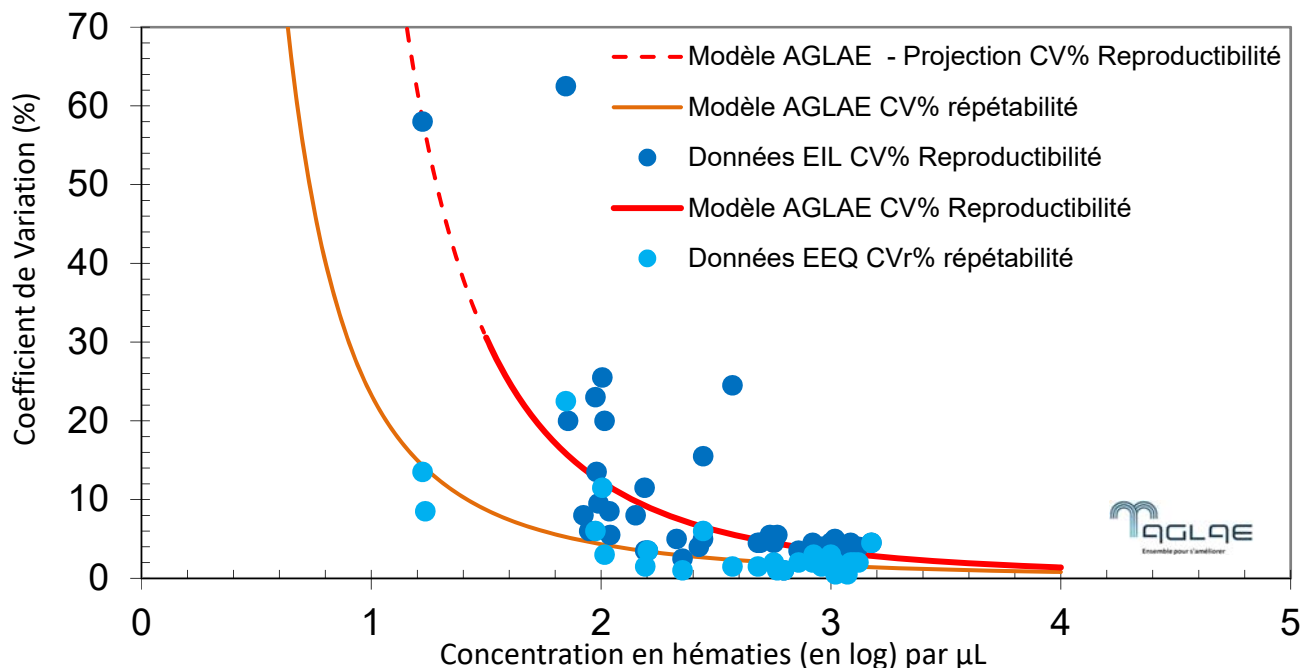


Figure 7 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVr en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log pour l'analyse par microscopie manuelle

### COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE DES HEMATIES

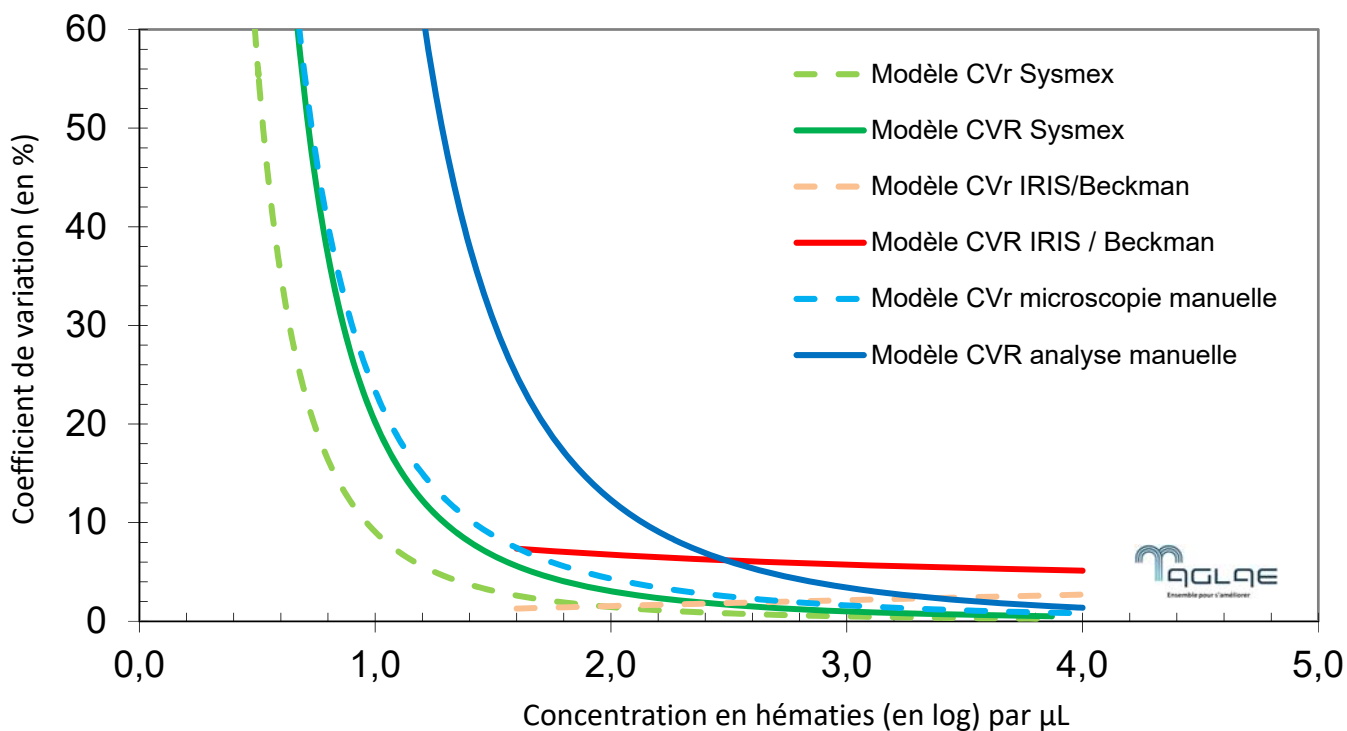


Figure 8 : représentation graphique du coefficient de variation en répétabilité (CVr en %) et en reproductibilité interlaboratoires (CVR en %) en fonction du nombre moyen d'hématies en log