MISE AU POINT

Adaptation des méthodes analytiques sur automates à système ouvert de chimie clinique : Démarche méthodologique, vérification des performances et sécurisation du risque analytique

Adaptation of analytical methods on open-system clinical chemistry analyzers: methodological approach, performance verification, and analytical risk management

BENGHEZEL HICHEM, SADELAOUD MOURAD
Laboratoire d'Analyses Médicales Dr Sadelaoud Batna Algérie
Auteur correspondant : BENGHEZEL HICHEM hichem.benghezel@gmail.com
Reçu le 30 décembre 2025 / Accepté le 11 février 2026 / Publié le 28 février 2026

Résumé : La biologie médicale moderne repose sur la production continue de résultats analytiques fiables, comparables et cliniquement interprétables. Dans de nombreux contextes, notamment dans les pays dépendants des importations de réactifs de diagnostic in vitro, les contraintes logistiques et économiques compromettent cette continuité analytique et imposent aux laboratoires de recourir à l'adaptation des méthodes analytiques. Loin d'être une solution empirique, cette adaptation nécessite une démarche rigoureuse, fondée sur la compréhension des principes analytiques, l'analyse critique des fiches techniques et l'application raisonnée des recommandations internationales.

Cet article propose une approche structurée et progressive de l'adaptation des méthodes analytiques sur automates à système ouvert. Après avoir exposé les enjeux de continuité analytique, il met en évidence le rôle central de la fiche technique comme point de départ de toute adaptation. Les étapes clés de la programmation analytique sont détaillées, en insistant sur les paramètres critiques susceptibles d'altérer la qualité du résultat, notamment l'effet prozone, la gestion des volumes, des temps d'incubation et des stratégies de calibration.

La démarche de vérification analytique est ensuite développée conformément aux recommandations du CLSI EP15-A3, en soulignant l'importance de l'évaluation de la précision, du biais et de l'exactitude analytique. Et l'évaluation de la linéarité, selon le CLSI EP06, complète cette approche en sécurisant le domaine de mesure utilisable en routine.

Enfin, des étapes préférentielles, souvent absentes des cadres normatifs stricts mais essentielles en pratique, sont discutées : comparaison précoce des méthodes, organisation de l'ordre des paramètres et maîtrise du carryover. Ces éléments illustrent une approche pragmatique et responsable de l'adaptation analytique, où la compréhension du système et la gestion du risque priment sur la simple conformité statistique. L'ensemble souligne le rôle central du biologiste médical comme garant de la qualité analytique et de la sécurité du patient.

Mots-clés : Adaptation des méthodes analytiques ; Automates à système ouvert ; Vérification analytique, Biais ; précision ; Linéarité.

Abstract: Modern medical laboratory practice relies on the continuous production of reliable, comparable, and clinically interpretable analytical results. In many settings particularly in countries dependent on imported in vitro diagnostic reagents logistical and economic constraints can compromise analytical continuity and require laboratories to adapt analytical methods. Far from being an empirical solution, such adaptation requires a rigorous approach based on a solid understanding of analytical principles, critical appraisal of technical datasheets, and the reasoned application of international recommendations.

This article proposes a structured and stepwise approach to adapting analytical methods on open-system analyzers. After outlining the challenges of maintaining analytical continuity, it highlights the central role of the technical datasheet as the starting point for any adaptation. Key steps in analytical programming are detailed, with emphasis on critical parameters that may affect result quality, including the prozone effect, management of volumes and incubation times, and calibration strategies.

The analytical verification process is then described in accordance with CLSI EP15-A3 recommendations, emphasizing the assessment of precision, bias, and analytical accuracy. Evaluation of linearity, following CLSI EP06, further secures the reportable measurement range for routine use.

Finally, additional steps often absent from strict normative frameworks but essential in practice are discussed: early method comparison, organization of parameter testing order, and control of carryover. These elements illustrate a pragmatic and responsible approach to analytical method adaptation, in which system understanding and risk management take precedence over mere statistical compliance. Overall, this work highlights the central role of the medical laboratory professional as the guarantor of analytical quality and patient safety.

Keywords: Analytical method adaptation; Open-system analyzers; Analytical verification; Bias; Precision; Linearity.

Introduction

La biologie médicale moderne est devenue un pilier incontournable de la décision clinique. Qu'il s'agisse de poser un diagnostic, d'évaluer un pronostic ou d'assurer un suivi thérapeutique, le clinicien s'appuie quotidiennement sur des résultats biologiques dont la fiabilité conditionne directement la qualité de la prise en charge du patient. Cette exigence de fiabilité repose en grande partie sur la robustesse des méthodes analytiques mises en œuvre au laboratoire.

Dans un contexte idéal, les méthodes utilisées seraient toujours disponibles, parfaitement standardisées et soutenues par un approvisionnement continu en réactifs validés par les fabricants. Cependant, la réalité du terrain est souvent bien différente, en particulier dans les pays où l'activité de biologie médicale dépend fortement des importations. Les contraintes logistiques, administratives et économiques viennent alors perturber la continuité analytique et obligent les laboratoires à s'adapter (1).

C'est dans ce cadre que l'adaptation des méthodes analytiques, notamment sur des automates à système ouvert de chimie clinique, s'impose progressivement comme une solution pragmatique et raisonnée. Loin d'être une démarche improvisée, elle repose sur une compréhension approfondie des principes analytiques, une lecture critique des fiches techniques et une vérification rigoureuse des performances, conformément aux recommandations internationales. Cet article propose d'analyser, de manière structurée et progressive, les raisons qui rendent cette adaptation nécessaire, ainsi que les conditions indispensables pour qu'elle soit menée en toute sécurité analytique.

1-Continuité analytique enjeux, risques et adaptation des méthodes

Plusieurs travaux ont estimé que plus de la moitié des décisions cliniques reposent directement ou indirectement sur des données biologiques, ce qui confère au laboratoire une responsabilité majeure en matière de qualité analytique (2)

Dans un environnement idéal, cette exigence de continuité analytique s'appuie sur une disponibilité constante des méthodes, des réactifs et des calibrations validées par les fabricants. Cependant, la réalité du terrain est souvent plus complexe, en particulier dans les pays où l'activité de biologie médicale dépend fortement des importations. En Algérie, l'approvisionnement en réactifs de diagnostic in vitro repose majoritairement sur des circuits internationaux, exposant les laboratoires à des délais d'acheminement prolongés, à des contraintes réglementaires et à des ruptures de stock parfois imprévisibles.

Ces contraintes logistiques ont un impact direct sur l'organisation du laboratoire et sur la qualité du service rendu. Les interruptions d'analyses, les reports de prélèvements ou l'allongement du délai de rendu des résultats (Turnaround Time, TAT) peuvent retarder la prise de décision clinique, notamment dans les situations d'urgence ou de suivi thérapeutique rapproché. Hawkins a montré que le TAT constitue un indicateur clé de performance du laboratoire, étroitement lié à la satisfaction des cliniciens et à l'efficacité de la prise en charge des patients (3).

Face à ces difficultés, le laboratoire peut être amené à rechercher des solutions de contournement afin d'assurer la continuité de son activité. Toutefois, lorsque ces solutions reposent sur des substitutions non validées ou des ajustements empiriques des paramètres analytiques, elles exposent le processus analytique à un risque accru d'erreurs. Instabilité des calibrations, dérive progressive du biais, perte de répétabilité ou rupture de la comparabilité longitudinale des résultats sont autant de conséquences possibles d'une adaptation non maîtrisée.

Les travaux de Plebani ont largement contribué à mettre en évidence que la majorité des erreurs en biologie médicale ne sont pas liées à des défaillances instrumentales, mais à des choix organisationnels et méthodologiques insuffisamment encadrés (4). Cette observation souligne que l'adaptation des méthodes analytiques ne peut être envisagée comme une simple réponse pragmatique à une contrainte ponctuelle, mais doit s'inscrire dans une démarche structurée, documentée et scientifiquement fondée.

Parallèlement à ces contraintes, le contexte actuel offre également des opportunités. On observe une diversification progressive de l'offre des importateurs locaux, ainsi que l'émergence de fabricants nationaux de consommables et de certains réactifs. Toutefois, cette autonomisation partielle de la production locale ne résout pas la dépendance fondamentale : l'ensemble des automates de chimie clinique demeure importé, rendant l'adaptation méthodologique structurellement inévitable, même lors de l'utilisation de réactifs fabriqués localement. Cette évolution ouvre la voie à une plus grande autonomie du secteur biomédical, mais implique également une capacité accrue des laboratoires à évaluer et à intégrer des solutions analytiques alternatives.

Dans ce cadre, les automates à système ouvert occupent une place stratégique. Leur flexibilité permet d'utiliser des réactifs tiers, d'introduire de nouveaux paramètres analytiques et d'adapter les méthodes aux ressources disponibles. Plusieurs auteurs ont montré que, lorsqu'ils sont utilisés dans un cadre méthodologique rigoureux, ces systèmes offrent des performances analytiques comparables aux systèmes fermés, tout en apportant une plus grande souplesse organisationnelle (5,6).

L'adaptation des méthodes analytiques présente également un intérêt économique non négligeable. Dans un contexte de pression croissante sur les budgets de santé, la maîtrise des coûts devient un enjeu central pour les laboratoires. Une étude menée à l'UZ Brussel, basée sur une approche de coût par activité (Activity-Based Costing), a montré que les plateformes hautement automatisées compatibles avec des systèmes ouverts permettaient de réduire significativement les coûts analytiques, grâce à une optimisation des volumes de réactifs et à une amélioration de la productivité globale (7). Ces données confirment que l'adaptation méthodologique, lorsqu'elle est correctement encadrée, constitue à la fois une réponse technique et une stratégie de soutenabilité économique.

Dans ce contexte, le rôle du biologiste médical évolue profondément. Il ne s'agit plus uniquement d'appliquer des méthodes fournies clé en main par les fabricants, mais de comprendre en profondeur les principes analytiques, d'évaluer les performances des méthodes adaptées et de maîtriser les risques associés. Le biologiste devient ainsi un acteur central de la continuité analytique, garant de la qualité des résultats et de la sécurité du patient.

L'adaptation des méthodes analytiques apparaît alors non pas comme une solution de dernier recours, mais comme une compétence essentielle de la biologie médicale moderne, particulièrement dans les environnements soumis à des contraintes logistiques, économiques et organisationnelles fortes.

2-La fiche technique, : point de départ de l'adaptation des méthodes analytiques

Lorsqu'un laboratoire décide d'adapter une méthode analytique, la première étape n'est ni la programmation de l'automate ni la réalisation des essais de vérification. Elle commence bien plus en amont, par un document central nécessitant une analyse approfondie : la fiche technique du réactif. : la fiche technique du réactif. Ce document, parfois perçu comme une simple notice d'utilisation, constitue en réalité la pierre angulaire de toute adaptation méthodologique.

Elle décrit la méthode telle qu'elle a été pensée, optimisée et validée dans un environnement donné. Toute adaptation sans une lecture attentive de ce document revient à travailler à l'aveugle, avec un risque réel de dérive analytique. Westgard rappelle que de nombreuses non-conformités observées lors de l'implémentation des méthodes sont liées non pas à un défaut du réactif, mais à une interprétation incomplète ou erronée des instructions du fabricant (8).

La première information essentielle fournie par la fiche technique concerne le principe de la méthode. Il s'agit de comprendre précisément ce qui est mesuré, comment le signal est généré et quelle relation existe entre ce signal et la concentration de l'analyte. Cette compréhension est loin d'être théorique. Elle conditionne la capacité du biologiste à anticiper le comportement de la méthode face aux variations de matrice, aux interférences ou aux écarts de conditions opératoires (9)

La fiche technique précise également le type de méthode analytique utilisé : méthode à point final, cinétique, immunoturbidimétrique ou immunonéphélométrique. Cette distinction est fondamentale dans la pratique. Une méthode cinétique, par exemple, est particulièrement sensible au choix de la fenêtre de lecture et à la régularité de la réaction dans le temps. À l'inverse, une méthode à point final repose sur l'atteinte d'un équilibre réactionnel stable au moment précis de la mesure. Une mauvaise interprétation de ces éléments lors de la programmation peut conduire à des résultats apparemment cohérents, mais en réalité biaisés (10).

Les paramètres optiques constituent un élément central de la méthode analytique. La longueur d'onde principale correspond au maximum d'absorption ou d'émission du produit réactionnel. Certaines méthodes utilisent une seconde longueur d'onde dite de référence afin de corriger des interférences liées à la turbidité ou à la coloration de l'échantillon. Modifier ces paramètres sans justification analytique peut altérer la sensibilité ou la spécificité de la méthode. Les ouvrages de référence en analyse instrumentale insistent sur le fait que le respect des paramètres optiques définis par le fabricant est indispensable pour garantir la reproductibilité des résultats (11).

Les volumes d'échantillon et de réactifs décrits dans la fiche technique jouent un rôle tout aussi déterminant. Ils influencent directement la sensibilité analytique, la plage de linéarité et la robustesse de la réaction. Sur les automates à système ouvert, ces volumes doivent être adaptés aux capacités techniques de l'analyseur, notamment en termes de volumes minimaux de pipetage et de précision volumétrique. La présence d'une dilution automatique interne peut s'avérer particulièrement utile pour gérer les concentrations élevées et limiter certaines non-linéarités analytiques (5).

Les temps d'incubation et la cinétique de la réaction représentent un autre aspect critique de la fiche technique. Une incubation trop courte peut conduire à une réaction incomplète, tandis qu'une incubation excessive peut entraîner une dérive du signal ou une perte de linéarité. Dans les méthodes cinétiques, le choix précis de la fenêtre de calcul de la variation du signal est essentiel. Des travaux anciens, mais toujours pertinents, ont montré que de légers décalages dans la synchronisation entre le début de la réaction et la lecture peuvent induire des biais significatifs (12).

La fiche technique fournit également des informations précieuses sur la stabilité des réactifs, aussi bien après ouverture qu'en conditions « on-board ». Une dégradation progressive du réactif peut entraîner une dérive lente et insidieuse des résultats, souvent difficile à détecter par les seuls contrôles de routine. Lippi et Plebani ont souligné que la stabilité des réactifs constitue un facteur critique de la qualité analytique, en particulier dans les environnements où les conditions de stockage et d'utilisation peuvent varier (13).

Enfin, la fiche technique présente les performances analytiques revendiquées par le fabricant : précision, biais, limites de détection et de quantification, ainsi que les principales interférences connues. Ces données ne doivent pas être interprétées comme des garanties absolues, mais comme des repères destinés à être vérifiés dans les conditions réelles de routine du laboratoire. Elles constituent le point de départ des études de vérification analytique, mais ne sauraient en aucun cas s'y substituer.

En définitive, la lecture critique de la fiche technique constitue un acte scientifique majeur engageant directement la responsabilité du biologiste médical. Une adaptation réussie repose avant tout sur cette étape fondatrice, qui conditionne la qualité de la programmation instrumentale, la pertinence des études de vérification et, in fine, la fiabilité des résultats délivrés au clinicien.

3-Programmation analytique et maîtrise des paramètres critiques

L'adaptation d'une méthode analytique ne prend véritablement sens qu'au moment où elle est programmée sur l'automate. C'est à cette étape que la méthode quitte le cadre théorique de la fiche technique pour devenir un outil de routine, soumis aux contraintes réelles du laboratoire. Cette transition est loin d'être anodine. Elle engage directement la responsabilité du biologiste, car chaque paramètre programmé influe sur la qualité du résultat rendu au clinicien.

La programmation commence par la définition même du test. Le nom attribué à l'analyse, son unité de rendu et les valeurs de référence associées sont déterminants pour la compréhension clinique, du résultat et sa comparabilité dans le temps. Une dénomination imprécise ou une unité inadaptée peut introduire une confusion, notamment lors du suivi longitudinal des patients ou de la comparaison avec des résultats antérieurs obtenus par une autre méthode. Cette rigueur dans l'identification du test est un prérequis fondamental à toute adaptation méthodologique fiable (10).

Le choix du volume d'échantillon constitue ensuite un point central. Ce volume est généralement déterminé par le fabricant afin d'assurer un compromis entre sensibilité analytique, stabilité de la réaction et précision du pipetage. Dans la pratique, il doit également être compatible avec les capacités techniques de l'automate utilisé. Un volume trop faible augmente la variabilité liée au pipetage, tandis qu'un volume excessif peut accentuer les effets de matrice ou favoriser des phénomènes de saturation. Dans les méthodes immunologiques, un excès relatif d'analyte peut paradoxalement conduire à une sous-estimation du résultat, phénomène connu sous le nom d'effet prozone, qui doit être anticipé dès cette étape (9).

Les volumes des réactifs, jouent un rôle tout aussi déterminant. Ils conditionnent l'équilibre réactionnel, la cinétique et la formation correcte du signal mesurable. Une modification non maîtrisée de ces volumes, même minime, peut rompre cet équilibre et altérer la relation entre le signal mesuré et la concentration réelle de l'analyte. Dans les méthodes immunologiques, un rapport inadapté entre antigène et anticorps est l'un des mécanismes classiques à l'origine de l'effet prozone, exposant à des résultats faussement bas aux concentrations élevées (14).

La programmation des longueurs d'onde de lecture représente une autre étape clé. La longueur d'onde primaire correspond au maximum d'absorption ou d'émission du produit réactionnel, tandis qu'une longueur d'onde secondaire peut être utilisée pour corriger les interférences optiques liées à la turbidité ou à la coloration de l'échantillon. Le respect strict des longueurs d'onde recommandées par le fabricant est essentiel. Toute adaptation aux contraintes instrumentales, sans évaluation analytique préalable, peut dégrader le rapport signal/bruit et compromettre la spécificité de la méthode, comme le rappellent les principes fondamentaux de la spectrophotométrie (11).

Les temps d'incubation et la durée de lecture doivent également être définis avec précision. Le temps d'incubation correspond à la période nécessaire pour que la réaction atteigne une phase exploitable analytiquement. Une incubation trop courte peut conduire à une réaction incomplète, tandis qu'une incubation excessive peut entraîner une dérive du signal ou favoriser des réactions secondaires. Dans les méthodes cinétiques, la durée et la position de la fenêtre de lecture sont particulièrement critiques : la variation d'absorbance doit être mesurée dans une phase stable et linéaire de la réaction. De légers décalages dans cette fenêtre peuvent induire un biais systématique, parfois difficile à détecter par les seuls contrôles de routine (12).

Le mode de calcul et la stratégie de calibration traduisent ensuite le signal mesuré en une concentration rendue. Qu'il s'agisse d'un facteur fixe, d'un étalon unique ou d'une courbe multipoints, le modèle choisi doit être adapté au comportement réel de la méthode. Une calibration inappropriée peut masquer des non-linéarités ou amplifier un biais aux extrêmes de la plage de mesure. Dans les méthodes exposées au risque d'effet prozone, l'utilisation d'une calibration couvrant une large plage de concentrations, associée à des règles de dilution automatiques, constitue un élément clé de sécurisation analytique (15).

La gestion du blanc représente enfin un point souvent sous-estimé. Selon la méthode, le blanc peut être un blanc réactif, un blanc échantillon ou une combinaison des deux. Une mauvaise définition du blanc introduit un biais constant sur l'ensemble des résultats, parfois discret mais cliniquement significatif. Ce biais peut passer inaperçu tant que les contrôles de qualité restent dans des limites acceptables, soulignant l'importance de vérifier systématiquement le mode de blanc lors des tests pré-routine (8).

L'ensemble de ces paramètres converge vers un enjeu majeur de la programmation analytique : la prévention de l'effet prozone. Ce phénomène, bien connu dans les méthodes immunologiques, correspond à une sous-estimation paradoxale de la concentration mesurée lorsque l'analyte est présent en excès. Sa prévention repose sur une programmation réfléchie, intégrant des volumes adaptés, des temps d'incubation maîtrisés, des règles de dilution sécurisées et une plage de mesure réaliste. La mise en place de seuils d'alerte et de recontrôles automatiques constitue une stratégie indispensable pour éviter des erreurs potentiellement graves sur le plan clinique (14).

Ainsi, la programmation analytique sur automate à système ouvert ne peut être réduite à une simple opération informatique. Elle représente une étape charnière où se cristallisent les choix méthodologiques du biologiste. Lorsqu'elle est menée avec rigueur et compréhension des principes analytiques, elle transforme une fiche technique en une méthode robuste, fiable et cliniquement pertinente. Lorsqu'elle est négligée, elle devient au contraire une source silencieuse de dérive analytique, dont les conséquences peuvent être significatives pour le patient.

4-Vérification : sécuriser l'adaptation méthodologique avant l'usage clinique

Toute adaptation de méthode analytique sur un automate à système ouvert ne peut être envisagée sans une étape préalable indispensable : la vérification des performances analytiques. Cette phase constitue le premier niveau de sécurisation de la méthode et représente le socle de la démarche qualité en biologie médicale. Avant même de parler de validation avancée, le biologiste doit s'assurer que la méthode, telle qu'elle est programmée et utilisée dans son laboratoire, est capable de produire des résultats fiables, reproductibles et cliniquement exploitables.

Dans la grande majorité des situations rencontrées en pratique, le laboratoire ne développe pas une méthode nouvelle, mais implémente ou adapte une méthode commerciale déjà validée par le fabricant. Dans ce contexte précis, les recommandations internationales, et en particulier celles du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), insistent sur la notion de vérification plutôt que de validation complète (15). La vérification vise à confirmer que les performances revendiquées par le fabricant sont effectivement atteintes dans les conditions réelles du laboratoire, avec son automate, ses opérateurs, ses conditions environnementales et son organisation propre.

Cette distinction entre vérification et validation est fondamentale (Tableau 1). La validation analytique, au sens strict, concerne les méthodes développées en interne ou les modifications majeures d'une méthode existante. Elle inclut des évaluations approfondies telles que la détermination des limites de détection et de quantification, l'étude de la robustesse, de l'effet matrice ou encore de l'incertitude de mesure. À l'inverse, la vérification constitue une démarche ciblée, pragmatique et adaptée à la réalité de la routine. (8).

Parmi les paramètres évalués lors de la vérification, la précision occupe une place centrale. Elle traduit la capacité de la méthode à fournir des résultats reproductibles lorsqu'une même analyse est répétée dans des conditions similaires. Une méthode peut présenter un biais constant tout en étant précise, mais une méthode imprécise est, par définition, incompatible avec un usage clinique sûr. C'est pourquoi la précision constitue toujours le premier paramètre étudié lors de l'implémentation d'une méthode (9).

Le CLSI recommande un protocole expérimental simple, mais robuste, connu sous le schéma 5 × 5 : au minimum deux niveaux de concentration sont analysés sur cinq jours distincts, avec cinq répétitions par jour, soit vingt-cinq résultats par niveau (15). Ce design a l'avantage majeur d'intégrer la variabilité réelle de la routine, incluant les variations journalières, les éventuels changements d'opérateur et les conditions environnementales du laboratoire. Il s'éloigne volontairement des conditions idéalisées pour se rapprocher de la pratique quotidienne.

Le choix des échantillons utilisés pour l'étude de précision est déterminant. Ils doivent être représentatifs des concentrations rencontrées en routine, idéalement autour des seuils de décision clinique. Il peut s'agir

d'échantillons de patients individuels, de pools stabilisés ou de matériaux de contrôle commerciaux. Quelle que soit l'option retenue, les échantillons doivent être aliquotés et conservés dans des conditions garantissant leur stabilité pendant toute la durée de l'étude, afin que la variabilité observée reflète exclusivement la performance analytique de la méthode (15).

Un point essentiel, souvent sous-estimé, est que chaque répétition doit suivre l'intégralité du processus analytique. Les étapes de dilution, de prétraitement ou de manipulation doivent être incluses dans l'étude. Exclure ces étapes revient à sous-estimer artificiellement la variabilité réelle et à produire une image trop optimiste de la méthode. Cette exigence traduit la philosophie même de la vérification : évaluer la méthode telle qu'elle sera réellement utilisée.

L'analyse statistique des données de précision repose sur le calcul de la répétabilité (variabilité intra-série) et de l'imprécision intra-laboratoire, qui intègre les variations inter-séries. Ces composantes permettent d'estimer l'écart-type global et de l'exprimer sous forme de coefficient de variation (CV%), indicateur largement utilisé en pratique. Toutefois, l'interprétation ne doit jamais se limiter à une comparaison brute avec la valeur revendiquée par le fabricant. Le CLSI introduit la notion de limite supérieure de vérification *(Upper Verification Limit, UVL)*, qui tient compte de l'incertitude statistique liée au nombre de mesures et aux degrés de liberté de l'étude (15).

Une méthode est considérée comme conforme si l'imprécision observée est inférieure à la fois à la performance annoncée par le fabricant et à l'UVL correspondante. Cette approche protège le biologiste contre des conclusions basées sur des écarts mineurs et statistiquement attendus, tout en garantissant un niveau de performance compatible avec l'usage clinique.

Lors des études de précision, la question des valeurs aberrantes se pose fréquemment. Il n'est pas rare d'observer un résultat isolé nettement différent des autres. Le CLSI autorise l'utilisation du test de Grubbs pour identifier objectivement une valeur aberrante, à condition de respecter des règles strictes : un seul résultat peut être exclu par série et toute exclusion doit être justifiée, documentée et analysée en termes d'impact sur les résultats globaux (15). Cette rigueur méthodologique évite à la fois la sur-exclusion arbitraire et la conservation aveugle de résultats manifestement erronés.

Après avoir vérifié la précision d'une méthode, une question centrale se pose naturellement : *les résultats fournis par la méthode sont-ils justes ?* Autrement dit, reflète-*t-elle correctement la valeur vraie de l'analyte mesuré ?* C'est tout l'enjeu de l'évaluation du biais et, plus largement, de l'exactitude analytique.

Le biais correspond à la différence systématique entre la valeur moyenne mesurée par le système analytique du laboratoire et une valeur de référence, appelée valeur cible ou *target value* (TV). Contrairement à l'imprécision, qui traduit une dispersion aléatoire des résultats, le biais est une erreur directionnelle, persistante, qui peut affecter l'ensemble des résultats rendus sans être détectée par les seuls contrôles internes de routine (9).

L'évaluation du biais repose donc sur la comparaison entre la moyenne observée et une valeur considérée comme la meilleure approximation possible de la valeur vraie. Idéalement, cette valeur cible provient d'un matériau de référence certifié, dont la concentration est assignée par une méthode de référence traçable au Système international d'unités (SI), comme l'ID-MS pour la créatinine (19).

Dans ce contexte, le CLSI décrit plusieurs scénarios acceptables pour l'estimation du biais (15). Lorsque des matériaux de référence certifiés sont disponibles, leur utilisation constitue la situation optimale, car ils sont associés à une incertitude de mesure clairement définie. Cette incertitude, appelée erreur standard de la valeur de référence (seRM)**,** doit être intégrée dans l'analyse statistique du biais. À l'inverse, lorsque la valeur cible est issue d'un consensus inter-laboratoires (programmes d'évaluation externe de la qualité) ou d'un groupe de pairs, la valeur de référence est moins robuste et l'incertitude associée doit être estimée à partir de la dispersion observée entre laboratoires.

Dans de nombreux laboratoires, notamment dans des contextes de ressources limitées, l'évaluation du biais repose parfois sur l'utilisation de contrôles internes de routine, à condition que leur valeur cible soit établie sur une moyenne historique stable et que le matériau soit homogène et reproductible. Dans ce cas, on ne parle plus d'un biais par rapport à une valeur vraie au sens métrologique, mais plutôt d'un biais intra-laboratoire. Cette approche reste acceptable dans une logique de vérification, à condition d'en reconnaître clairement les limites (8).

Sur le plan pratique, l'estimation du biais commence par l'analyse répétée du matériau de référence ou du contrôle choisi, généralement sur plusieurs jours, idéalement dans le cadre du même protocole que l'étude de précision. Cette approche présente l'avantage de permettre une estimation conjointe de l'imprécision et du biais, à partir d'un seul jeu de données, ce qui est explicitement encouragé par le CLSI (15).

La moyenne observée ($\bar{X}$) est ensuite comparée à la valeur cible (TV) afin de calculer le biais absolu ($\bar{X} - TV$) et le biais relatif en pourcentage. Toutefois, cette comparaison brute n'est pas suffisante. Une différence apparente peut être liée à la variabilité analytique et ne pas être statistiquement significative. C'est pourquoi le CLSI recommande de raisonner en termes d'intervalle de vérification (Verification Interval, VI**)** autour de la valeur cible.

Cet intervalle est construit à partir de l'erreur standard combinée (seC), qui intègre à la fois l'erreur liée à la dispersion des résultats du laboratoire et, le cas échéant, l'incertitude associée à la valeur de référence. L'intervalle de vérification correspond alors à la valeur cible ± un facteur de Student, calculé en fonction des degrés de liberté disponibles (15). Si la moyenne observée se situe à l'intérieur de cet intervalle, le biais est considéré comme non statistiquement significatif. À l'inverse, une moyenne située en dehors de cet intervalle traduit un biais statistiquement significatif**.**

Il est fondamental de souligner qu'un biais statistiquement significatif n'est pas nécessairement cliniquement inacceptable. Cette distinction entre signification statistique et pertinence clinique constitue un point clé de l'interprétation. Pour juger de l'acceptabilité clinique du biais, il est indispensable de le confronter à des critères de performance analytiques fondés sur les besoins médicaux**.**

Plusieurs référentiels existent à cet effet. Les critères réglementaires CLIA, largement utilisés aux États-Unis, définissent des tolérances minimales obligatoires, mais celles-ci sont souvent larges et peuvent autoriser des biais incompatibles avec certaines décisions cliniques fines. À l'inverse, les critères basés sur la variation biologique, proposés par l'EFLM via la base de données Ricos, reposent sur la physiologie humaine et définissent des limites plus exigeantes, souvent plus pertinentes sur le plan clinique (21, 22).

Dans une approche intégrée, le biais doit être interprété conjointement avec l'imprécision à travers la notion d'erreur totale. Une méthode peut présenter un biais modéré mais rester cliniquement acceptable si l'erreur totale estimée demeure inférieure à la tolérance analytique définie pour l'analyte concerné. Cette approche permet d'éviter des décisions excessivement restrictives et s'inscrit dans une logique de gestion du risque analytique (8).

Lorsque le biais est jugé significatif mais cliniquement acceptable, la méthode peut être autorisée en routine, à condition que ce biais soit documenté, surveillé et, si possible, corrigé par une recalibration ou un ajustement méthodologique. En revanche, un biais significatif et cliniquement inacceptable impose une action corrective immédiate : réévaluation de la calibration, changement de lot de réactif, comparaison avec une méthode de référence, voire suspension temporaire de la méthode si l'impact clinique est avéré.

Ainsi, l'évaluation du biais et de l'exactitude ne doit jamais être envisagée comme une formalité statistique. Elle constitue une étape essentielle de la démarche qualité, permettant de relier la performance analytique aux besoins réels du patient. Elle donne tout son sens à la vérification des méthodes, en transformant des chiffres en décisions cliniquement responsables et scientifiquement défendables.

Après avoir exploré la précision et le biais une autre question fondamentale s'impose naturellement : *la méthode répond-elle de façon proportionnelle aux variations de concentration de l'analyte sur l'ensemble de la plage utilisée en routine ?* C'est précisément à cette interrogation que répond l'évaluation de la linéarité.

En pratique, la linéarité traduit la capacité d'une méthode analytique à fournir un signal directement proportionnel à la concentration réelle de l'analyte, dans un intervalle donné. Une méthode peut être précise, présenter un biais acceptable et rester pourtant non fiable si cette proportionnalité n'est pas respectée sur certaines zones de concentration. Ce point est particulièrement critique aux extrêmes de la plage de mesure, là où les décisions cliniques sont souvent les plus sensibles (9).

L'évaluation de la linéarité ne vise pas à démontrer une perfection mathématique, mais à s'assurer que les écarts observés restent compatibles avec l'usage clinique du test. C'est dans cet esprit pragmatique que le CLSI a défini des recommandations spécifiques, notamment dans le document EP06, qui reste la référence méthodologique en la matière (17).

Sur le plan pratique, l'étude de linéarité repose sur l'analyse d'une série de niveaux de concentration couvrant la plage analytique revendiquée. Ces niveaux peuvent être obtenus par dilution progressive d'un échantillon patient fortement concentré, par mélange de pools de concentrations différentes ou à l'aide de matériaux commerciaux dédiés. Le choix de la matrice est essentiel : l'idéal reste l'utilisation d'échantillons de patients ou de matrices commutables, afin d'éviter des comportements artificiels liés à des solutions purement aqueuses.

Chaque niveau est analysé de manière répétée, généralement en double ou en triple, afin de limiter l'influence de la variabilité aléatoire. Les résultats obtenus sont ensuite comparés aux concentrations théoriques attendues. L'objectif n'est pas seulement d'observer une relation linéaire globale, mais d'identifier d'éventuelles déviations locales, souvent discrètes, mais cliniquement significatives.

Dans la pratique quotidienne, ces déviations se manifestent fréquemment sous la forme d'une courbure aux fortes concentrations, d'un plateau réactionnel ou d'une réponse atténuée du signal. Ces phénomènes sont particulièrement fréquents dans les méthodes enzymatiques et immunologiques, où la saturation des réactifs ou des sites de liaison peut entraîner une sous-estimation progressive des valeurs élevées. Dans certains cas, cette non-linéarité peut être confondue avec un biais proportionnel lors d'une comparaison de méthodes, d'où l'importance d'évaluer explicitement la linéarité (17).

L'interprétation des résultats ne doit pas se limiter à un coefficient de corrélation ou à une simple inspection visuelle. Le CLSI recommande d'analyser les écarts entre les valeurs mesurées et les valeurs attendues**,** exprimés en unités absolues ou en pourcentage, et de les confronter à des critères d'acceptabilité prédéfinis. Ces critères peuvent être basés sur les tolérances réglementaires (CLIA), sur les objectifs analytiques dérivés de la variation biologique ou sur des exigences cliniques spécifiques au laboratoire (8, 21,22).

Une attention particulière doit être portée aux concentrations proches des seuils décisionnels. Une non-linéarité modérée, acceptable sur le plan statistique, peut devenir problématique si elle concerne une zone critique pour le diagnostic ou le suivi thérapeutique. À l'inverse, une légère déviation aux concentrations très élevées peut être cliniquement négligeable si des règles de dilution automatique sont correctement mises en place.

Lorsque des non-linéarités sont mises en évidence, plusieurs stratégies peuvent être envisagées. La plus simple consiste à restreindre le domaine de mesure reportable, en définissant une limite supérieure au-delà de laquelle une dilution est systématiquement appliquée. Dans d'autres cas, une modification de la calibration, un ajustement des volumes réactionnels ou des temps d'incubation peut améliorer le comportement linéaire de la méthode. Ces ajustements doivent toutefois être suivis d'une nouvelle vérification, afin de s'assurer qu'ils n'introduisent pas de dérive sur d'autres paramètres analytiques.

Il est important de souligner que l'étude de la linéarité ne constitue pas une étape isolée, mais s'inscrit dans une démarche globale d'évaluation des performances. Les informations issues de cette étude complètent celles

obtenues lors de la comparaison de méthodes et de l'estimation du biais. Ensemble, elles permettent au biologiste de comprendre finement le comportement analytique de la méthode et d'anticiper ses limites en routine.

Ainsi, l'évaluation de la linéarité joue un rôle clé dans la sécurisation de l'adaptation méthodologique. Elle permet de s'assurer que la méthode répond de manière cohérente et prévisible aux variations de concentration, condition indispensable pour garantir la fiabilité des résultats rendus au clinicien. Lorsqu'elle est menée avec rigueur et interprétée dans un cadre clinique, elle transforme une méthode techniquement fonctionnelle en un outil réellement maîtrisé.

Sur le plan réglementaire, En Europe les directives IVD (EU 2017/746) stipulent que toute modification d'une procédure analytique et toute adaptation engage la responsabilité du laboratoire utilisateur, qui doit démontrer la maîtrise du risque analytique associé (23).

4bis – Exemple pratique : Adaptation d'un dosage de glucose sérique par méthode hexokinase

Afin d'illustrer concrètement la démarche de vérification analytique appliquée à l'adaptation d'une méthode sur automate à système ouvert, un exemple pratique a été réalisé sur le dosage du glucose sérique par méthode enzymatique hexokinase.

L'étude a été conduite selon le protocole CLSI EP15 en utilisant un design 5 × 5, correspondant à cinq jours d'analyse avec cinq répétitions quotidiennes (N = 25). La valeur cible du matériau de référence était de 100 mg/dL.

Les moyennes journalières observées étaient respectivement de 100,8 ; 101,5 ; 101,9 ; 100,9 et 101,0 mg/dL, conduisant à une moyenne globale de 101,22 mg/dL. L'écart-type de répétabilité poolé (sR) était de 1,01 mg/dL. L'imprécision intra-laboratoire (sWL), intégrant la variabilité intra- et inter-séries, a été estimée à 1,016 mg/dL, correspondant à un coefficient de variation analytique (CVa) de 1,0 %.

Cette valeur respecte l'objectif de performance analytique défini par l'EFLM pour l'imprécision du glucose (≤ 2,9 %), indiquant une répétabilité satisfaisante.

Le biais observé a été calculé par la différence entre la moyenne mesurée et la valeur cible, soit +1,22 mg/dL, correspondant à un biais relatif de 1,22 %. Cette valeur se situe également dans les limites de performance recommandées par l'EFLM pour le glucose (≤ 2,5 %).

L'intervalle de vérification a été estimé en intégrant l'erreur standard combinée et le facteur t de Student correspondant aux degrés de liberté du protocole. La moyenne observée se situait en dehors de l'intervalle de vérification, indiquant la présence d'un biais statistiquement significatif. L'erreur standard de la méthode a été estimée à partir de l'imprécision intra-laboratoire (sWL) selon la relation $se = sWL/\sqrt{N}$, où N correspond au nombre total de mesures (N = 25), conduisant à une valeur de 0,203 mg/dL. En tenant compte de l'incertitude du matériau de référence (seRM = 0,10 mg/dL), l'erreur standard combinée a été calculée comme : $seC = \sqrt{(se^2 + seRM^2)} = 0,227$ mg/dL.

Les degrés de liberté combinés ont été estimés par l'approximation de Satterthwaite (df ≈ 2,6), justifiant l'utilisation du facteur t de Student correspondant (t = 3,182 pour α = 0,05). L'intervalle de vérification autour de la valeur cible (100 mg/dL) a ainsi été défini comme : VI = 100 ± (3,182 × 0,227) = [99,28 ; 100,72] mg/dL. La moyenne observée (101,22 mg/dL) se situait en dehors de cet intervalle, indiquant que l'écart observé ne pouvait être attribué à la seule variabilité analytique. Cette situation traduit la présence d'un biais statistiquement significatif selon les critères du CLSI.

Toutefois, l'erreur totale estimée (ET%) a été calculée selon la relation ET ≈ 1,65 × CVa + |biais|, donnant une valeur de 2,88 %. Cette valeur demeure inférieure à la tolérance d'erreur totale admissible définie par l'EFLM pour le glucose (6,9 %).

Ces résultats illustrent une situation fréquente en pratique : bien qu'un biais statistiquement significatif puisse être détecté, la méthode reste cliniquement acceptable lorsque l'imprécision, le biais et l'erreur totale

respectent les objectifs de performance analytique. Cet exemple souligne l'importance d'une interprétation intégrée des paramètres de vérification dans une logique de gestion du risque analytique.

5-Sécuriser l'adaptation analytique : comparaison de méthodes, organisation des paramètres et maîtrise du carryover

Lorsqu'un biologiste décide d'adapter une méthode analytique sur un automate à système ouvert, il sait d'emblée que la réussite du projet ne dépend pas uniquement des études de vérification au sens strict des recommandations CLSI. En effet, il existe une phase plus intuitive, mais tout aussi essentielle : comprendre comment la méthode va se comporter dans la vraie vie du laboratoire**.**

Cette phase repose sur une logique simple : une méthode peut être parfaitement conforme sur le plan statistique, mais produire des résultats cliniquement discutables si elle est mal intégrée dans l'environnement analytique. C'est pourquoi certaines étapes, bien que non formalisées comme des critères de vérification, doivent être considérées comme préférentielles lors de toute adaptation raisonnée.

La première de ces étapes est souvent la comparaison de méthodes. Dans la pratique, le biologiste aborde une question très concrète : *si je change de méthode aujourd'hui, est-ce que le clinicien retrouvera les mêmes repères demain ?* Cette interrogation est particulièrement critique pour les paramètres utilisés en suivi longitudinal, comme les enzymes, les marqueurs inflammatoires ou les paramètres métaboliques.

La comparaison de méthodes, telle que décrite dans le CLSI EP09, offre un cadre méthodologique robuste, mais son intérêt dépasse largement l'analyse du biais. Elle permet au biologiste de se confronter rapidement à la réalité clinique des résultats. En observant les écarts entre l'ancienne et la nouvelle méthode sur des échantillons de patients, il devient possible d'identifier précocement des divergences majeures, des comportements atypiques à certaines concentrations ou des incohérences qui auraient été invisibles sur des matériaux de contrôle (16).

Dans cette phase précoce, le biologiste ne cherche pas nécessairement une concordance parfaite. Il cherche avant tout à comprendre *où* et *pourquoi* les méthodes divergent. Un biais constant peut être acceptable s'il est stable et connu. En revanche, un biais proportionnel marqué ou une dispersion importante des différences constitue souvent un signal d'alerte, incitant à revoir les conditions analytiques avant d'aller plus loin (8).

En parallèle de cette réflexion comparative, l'organisation de l'ordre des paramètres sur l'automate constitue une autre étape clé, souvent négligée. En théorie, chaque méthode est vérifiée indépendamment. En pratique, elles coexistent dans un même système, partagent des circuits, des sondes et des cuvettes. Cette cohabitation impose une réflexion globale sur l'enchaînement des analyses.

Avec l'expérience, le biologiste apprend que certains paramètres sont plus « exigeants » que d'autres. Les dosages enzymatiques simples, à faible intensité de signal, sont généralement peu contaminants. À l'inverse, les tests fortement colorés, turbidimétriques ou utilisant des particules de latex sollicitent davantage le système et augmentent le risque de résidus analytiques. Ignorer ces différences revient à exposer l'ensemble de la chaîne analytique à des contaminations croisées évitables.

L'organisation rationnelle de l'ordre des paramètres consiste donc à progressiviser le risque analytique : débuter par les tests les plus simples et terminer par les tests les plus exposants. Cette approche, est largement partagée par les biologistes expérimentés et permet de stabiliser les performances en routine sans modifier la méthode elle-même (9).

Cette réflexion trouve son prolongement naturel dans la maîtrise du carryover, ou effet mémoire inter-échantillons. Le carryover représente l'un des pièges les plus redoutables lors de l'adaptation d'une méthode, car il est à la fois discret et potentiellement lourd de conséquences cliniques. Un résidu minime provenant d'un échantillon fortement concentré peut suffire à fausser un résultat faible analysé immédiatement après, sans déclencher d'alarme sur les contrôles internes.

Contrairement à l'imprécision ou au biais, le carryover ne se manifeste pas de manière diffuse. Il apparaît dans des situations très spécifiques, souvent aux extrêmes de concentration, précisément là où le risque clinique est maximal. C'est pourquoi son évaluation repose sur des séquences volontairement défavorables, conçues pour mettre le système en difficulté. Cette approche n'a pas pour objectif de refléter la routine moyenne, mais de tester les limites réelles du système.

Lorsque le carryover est identifié, la réponse du biologiste est rarement purement statistique. Elle est avant tout organisationnelle : modification de l'ordre des paramètres, ajout ciblé de cycles de rinçage, insertion de blancs ou d'échantillons tampon, voire isolement de certains tests à haut risque. Ces ajustements, bien qu'en dehors du cadre strict de la vérification CLSI, participent directement à la sécurité du patient et à la crédibilité des résultats rendus (4).

Ainsi, la comparaison de méthodes, l'organisation de l'ordre des paramètres et la maîtrise du carryover traduisent une approche mature de la biologie médicale, où la compréhension du système prime sur la simple application de protocoles. En intégrant ces étapes dès le départ, le biologiste transforme une adaptation technique en une démarche raisonnée et sécurisée.

Il est à noter que l'adaptation des méthodes analytiques présente des limites intrinsèques et ne peut être généralisée à tous les paramètres biologiques. Les tests requérant une sensibilité analytique élevée, notamment les immunodosages à haute sensibilité, tels que les troponines ultrasensibles et certaines hormones circulant à faibles concentrations qui reposent sur des architectures instrumentales fortement intégrées et optimisées par le fabricant. Dans ces contextes, le recours à des systèmes fermés validés reste essentiel pour préserver la performance analytique et la sécurité clinique.

Conclusion

Les résultats et concepts développés dans cet article montrent que l'adaptation méthodologique ne peut se réduire à une simple transposition technique d'un réactif sur un automate différent. Elle engage une réflexion globale sur le comportement analytique de la méthode, depuis la lecture critique de la fiche technique jusqu'à l'interprétation clinique des résultats rendus. Cette approche rejoint les observations de Plebani,

L'application raisonnée des recommandations CLSI constitue un cadre de référence solide pour sécuriser cette démarche. Toutefois, l'un des enseignements majeurs de ce travail réside dans l'importance d'étapes non strictement normatives, mais déterminantes en pratique. La comparaison précoce des méthodes, l'organisation réfléchie de l'ordre des paramètres sur l'automate et la maîtrise du carryover constituent des leviers puissants de sécurisation analytique (Figure 1). Leur intégration dès la phase d'adaptation permet d'anticiper des dérives qui ne seraient pas nécessairement détectées par les seuls outils statistiques classiques.

En définitive, l'adaptation des méthodes analytiques ne relève ni de l'improvisation ni de la simple conformité réglementaire. Elle constitue une compétence clé du biologiste médical moderne, à l'interface entre science analytique, organisation du laboratoire et sécurité du patient. Dans un environnement en constante évolution, cette capacité d'adaptation raisonnée apparaît comme l'un des piliers de la qualité en biologie médicale.

Tableau 1 : Comparaison entre vérification et validation des méthodes analytiques en chimie clinique : objectifs, périmètre et exigences (8, 15, 16, 17, 18, 20)

Critère	Vérification de méthode	Validation de méthode
Objectif	Confirmer que les performances revendiquées par le fabricant sont atteintes dans les conditions du laboratoire utilisateur	Démontrer les performances d'une méthode nouvelle ou substantiellement modifiée
Situation d'application	Implémentation ou adaptation d'une méthode commerciale (automate à système ouvert, changement d'analyseur)	Développement interne, nouvelle matrice, nouvelle indication clinique, modification majeure du principe
Responsabilité	Partagée entre le fabricant et le laboratoire utilisateur	Entièrement assumée par le laboratoire développeur
Documents de référence principaux	CLSI EP15-A3	CLSI EP06, EP09, EP17, ISO 15189
Précision	Obligatoire (schéma 5×5 recommandé)	Obligatoire
Biais / exactitude	Évalué de manière ciblée (contrôles, matériau de référence ou comparaison simplifiée)	Évalué de manière approfondie avec traçabilité métrologique
Comparaison de méthodes (patients)	Recommandée si changement de méthode ou impact clinique attendu	Obligatoire en cas de méthode de remplacement ou nouvelle méthode
Linéarité / domaine de mesure	Vérification simplifiée si nécessaire	Étude complète obligatoire
Limites de détection et de quantification (LOD/LOQ)	Non requises	Obligatoires
Robustesse / effet matrice	Non requises	Obligatoire
Incertitude de mesure	Estimation facultative	Estimation complète requise
Livrable qualité	Rapport de vérification	Dossier complet de validation
Finalité clinique	Autorisation d'utilisation en routine avec risque maîtrisé	Autorisation clinique d'une nouvelle méthode

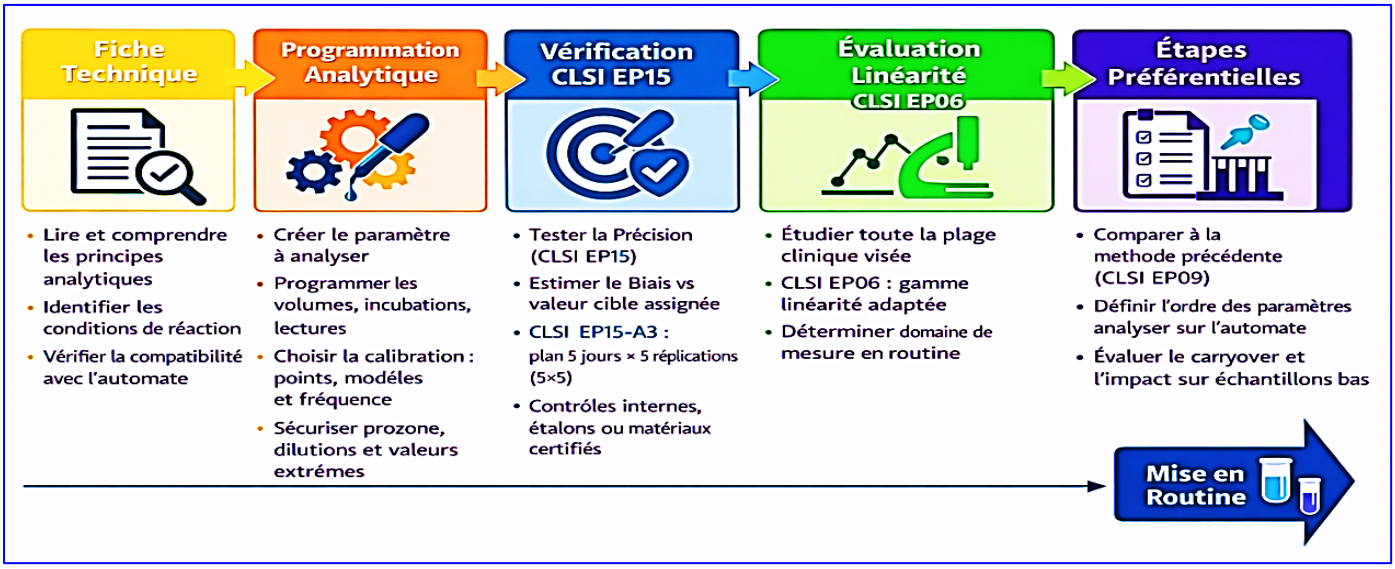


Figure 1 : Workflow global proposé pour l'adaptation, la vérification et la sécurisation des méthodes analytiques sur automate à système ouvert de chimie clinique

Références

1. Adekoya A, Okezue MA, Menon K. Medical laboratories in healthcare delivery: A systematic review of their roles and impact. Laboratories [Internet]. 2025;2(1):8. Available from: http://dx.doi.org/10.3390/laboratories2010008
2. Forsman RW. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? Clin Chem [Internet]. 1996;42(5):813–6. Available from: http://dx.doi.org/10.1093/clinchem/42.5.813
3. Hawkins RC. Laboratory turnaround time. *Clin Biochem Rev*. 2007;28(4):179–194.
4. Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? Clin Chem Lab Med [Internet]. 2006;44(6):750–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2006.123
5. Armbruster DA, Overcash DR, Reyes J. Clinical Chemistry Laboratory Automation in the 21st Century - Amat Victoria curam (Victory loves careful preparation). Clin Biochem Rev. 2014;35(3):143–53.

6. Ebubekir B, Nurinnisa O, Nurcan K-B. Automation in the clinical laboratory: integration of several analytical and intralaboratory pre- and post-analytical systems. Turkish Journal of Biochemistry [Internet]. 2017;42(1):1–13. Available from: http://dx.doi.org/10.1515/tjb-2016-0234
7. Declerck B, et al. Cost analysis of clinical chemistry testing using activity-based costing. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(4):e123–e131.
8. Westgard JO. *Basic Method Validation*. 4th ed. Madison (WI): Westgard QC Inc; 2018.
9. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 6th ed. Elsevier; 2018.
10. Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE. *Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations*. 8th ed. Wolters Kluwer; 2018.
11. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. *Principles of Instrumental Analysis*. 6th ed. Cengage Learning; 2014.
12. Bowers GN Jr, McComb RB. A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. Clin Chem [Internet]. 1966;12(2):70–89. Available from: http://dx.doi.org/10.1093/clinchem/12.2.70
13. Lippi G, Plebani M. Stability of reagents and quality of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(10):1701–1705.
14. Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev*. 2004;25(2):105–120.
15. CLSI. **EP15-A3**: User Verification of Precision and Estimation of Bias. Wayne (PA); 2014.
16. CLSI. **EP09-A3**: Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Wayne (PA); 2018.
17. CLSI. **EP06-A**: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures. Wayne (PA); 2003.
18. CLSI. **EP17-A2**: Evaluation of Detection Capability. Wayne (PA); 2012.
19. CLSI. **C30-A3**: Measurement Procedures for the Determination of Creatinine. Wayne (PA); 2011.
20. Spitzenberger F, Weidemann G. Neue Anforderungen aus der Normung und Akkreditierung nach ISO/DIS 15189:2011 – Der State of the Art-Ansatz für Qualität und Kompetenz in medizinischen Laboratorien/New requirements from standardization and accreditation – the state of the art concept for quality and competence in medical laboratories. LaboratoriumsMedizin [Internet]. 2012;36(6). Available from: http://dx.doi.org/10.1515/labmed-2011-0035
21. Ricós C, Álvarez V, Minchinela J, Fernández-Calle P, Perich C, Boned B, et al. Biologic variation approach to daily laboratory. Clin Lab Med [Internet]. 2017;37(1):47–56. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2016.09.005.
22. EFLM biological variation [Internet]. Biologicalvariation.eu. [cited 2025 DEC12]. Available from: https://biologicalvariation.eu
23. Spitzenberger F, Patel J, Gebuhr I, Kruttwig K, Safi A, Meisel C. Laboratory-developed tests: Design of a regulatory strategy in compliance with the international state-of-the-art and the regulation (EU) 2017/746 (EU IVDR [in vitro diagnostic medical device regulation]). Ther Innov Regul Sci [Internet]. 2022;56(1):47–64. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/s43441-021-00323-7