

Université Pierre et Marie Curie
Paris VI

MEMOIRE
POUR L'OBTENTION DU
DIPLOME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITE ET GBEA »

ASSURANCE QUALITE APPLIQUEE A LA GESTION
DE LA SEROTHEQUE DU LABORATOIRE
ET A SA MISE EN CONFORMITE
AVEC LA REGLEMENTATION

BOUNETTA Audrey

Année 2006

Directeur du mémoire :
Dr BRACONNIER François

Note au lecteur

Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire « Assurance Qualité et Guide de bonne pratique des analyses de biologie médicale » sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

Les travaux ne peuvent faire l'objet d'une publication en tout, ou partie, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné.

BOUNETTA Audrey

Pharmacien

LABM DR BOUNETTA

23, boulevard Charles de Gaulle

95220 SANNOIS

Directeur de mémoire : Docteur BRACONNIER

Je tiens à remercier Monsieur Braconnier pour son aide et ses précieux conseils tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Je suis reconnaissante à Monsieur Cornil pour ses précisions sur les questions réglementaires.

Enfin, un grand merci à toute l'équipe du laboratoire.

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION : POURQUOI CE SUJET ?	32
II.	PRESENTATION DU LABORATOIRE	33
A.	DESCRIPTION	33
B.	ACTIVITE	33
C.	POLITIQUE QUALITE	33
III.	PRINCIPE DE LA SEROTHEQUE.....	34
IV.	REGLEMENTATION ACTUELLE CONCERNANT LA SEROTHEQUE.....	35
A.	GUIDE DE BONNE EXECUTION DES ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE (GBEA)	35
1.	<i>Identification des échantillons</i>	35
2.	<i>Conservation des échantillons</i>	35
3.	<i>Elimination des déchets</i>	36
B.	NOMENCLATURE DES ACTES DE BIOLOGIE MEDICALE (NABM).....	36
C.	COMPARAISON GBEA ET NABM.....	37
D.	HEMUVIGILANCE, SECURITE TRANSFUSIONNELLE	38
E.	ANALYSES ENVOYEEES A L'EXTERIEUR	39
F.	NORME ISO 15189 ET GBUI.....	39
V.	MISE EN CONFORMITE DE LA SEROTHEQUE.....	39
A.	FAIRE UN ETAT DES LIEUX :	39
1.	<i>Liste des échantillons biologiques à conserver</i>	39
2.	<i>Prélèvement des échantillons biologiques</i>	40
3.	<i>Identification des échantillons</i>	41
4.	<i>Aliquotage des échantillons</i>	43
5.	<i>Rangement des échantillons à conserver pour la sérothèque</i>	43
6.	<i>Conservation des échantillons</i>	44
7.	<i>Recherche d'un échantillon de la sérothèque</i>	44
8.	<i>Elimination des échantillons</i>	44
B.	DETERMINER DES OBJECTIFS CONCRETS, ACCESSIBLES, MESURABLES ET MOTIVANTS	44
C.	DEFINIR LES MOYENS ET PLAN D'AMELIORATION SELON UN CALENDRIER	45
1.	<i>Objectif 1 : Etre en conformité avec la réglementation concernant les échantillons à conserver en sérothèque et leur étiquetage</i>	45
2.	<i>Objectif 2 : Etre en conformité concernant les conditions de conservation des échantillons</i>	49
3.	<i>Objectif 3 : Rédaction des procédures, modes opératoires et fiches d'instruction</i>	52
4.	<i>Objectif 4 : Mise en place de la sérothèque</i>	52
D.	MISE EN PLACE D'INDICATEURS	54
VI.	GESTION DE LA SEROTHEQUE DU LABORATOIRE.....	55
A.	ENREGISTREMENT ET STOCKAGE DES ECHANTILLONS A CONSERVER EN SEROTHEQUE.....	55
B.	RECHERCHE ET DESTOCKAGE D'UN ECHANTILLON EN COURS DE CONSERVATION.....	55
C.	ELIMINATION DES ECHANTILLONS DE LA SEROTHEQUE.....	56
VII.	AVENIR	56
▪	LOGICIELS INFORMATIQUES	56
▪	AUTOMATES	56
VIII.	CONCLUSION.....	57
IX.	ANNEXES.....ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.	

ASSURANCE QUALITE APPLIQUEE

A LA GESTION DE LA SEROTHEQUE DU LABORATOIRE

ET A SA MISE EN CONFORMITE AVEC LA REGLEMENTATION

I. INTRODUCTION : POURQUOI CE SUJET ?

Nous avons choisi de travailler sur le sujet de la sérothèque, car nous sommes partis du constat suivant dans notre laboratoire :

1. Il est difficile de retrouver rapidement un échantillon dans la sérothèque, car :
 - les échantillons sont répartis dans deux, voire trois congélateurs différents,
 - le stockage est réalisé dans des sachets ou dans des portoirs,
 - l'étiquetage des tubes n'est pas uniforme,
2. Il n'existe pas de procédure écrite et les modes opératoires ne sont ni datés, ni validés.
3. Il nous faut vérifier si nous sommes en adéquation avec la réglementation :
 - Avons-nous la liste exhaustive des analyses concernées par la sérothèque?
 - La durée de conservation est-elle bien respectée ?

Fort de ce constat, nous nous proposons donc de réaliser une étude sur :

- la nécessité ou non d'achat d'un nouveau congélateur (milieu)
- les matériels : portoirs, boîtes...
- les matières premières : nombre d'échantillons à conserver compte tenu de notre activité, l'étiquetage des tubes, etc.

Cette étude est réalisée avec l'aide des techniciens pour la définition et la rédaction des procédures et modes opératoires.

Il s'agit d'un premier travail d'application de l'assurance qualité au laboratoire qui peut être réalisé dans un délai relativement court.

II. PRESENTATION DU LABORATOIRE

A. Description

- Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) privé situé en région parisienne (Sannois – Val d'Oise) réparti sur 2 niveaux (rez-de-chaussée et sous-sol)
- Ouvert 6 jours sur 7, du lundi au vendredi de 7h00 à 19h30, le samedi de 7h30 à 14h00
- Reprise depuis 3 ans et demi par le Dr Bounetta sous forme de EURL
- 55 dossiers / jour avec une clientèle externe directe (pas de partenariat clinique ou hôpital)
- Ressources humaines : cf annexe I
- Prélèvements à domicile essentiellement effectués par le biologiste, ponctuellement par une infirmière avec vacations

B. Activité

- LABM polyvalent :
 - Hémostase, Hématologie, Immuno-Hématologie, Biochimie, Enzymologie, Immunologie, Protéines, Vitamines, Marqueurs tumoraux, Hormonologie, Microbiologie
 - Pas de biologie moléculaire, pas d'Aide Médicale à la Procréation (AMP)
- Contrat de collaboration avec un laboratoire voisin pour les sérologies virales et parasitaires, les marqueurs tumoraux, les hormones thyroïdiennes et celles de la fertilité
- Envois extérieurs aux laboratoires spécialisés (Pasteur Cerba, Laboratoire Claude Lévy (LCL)) pour toutes les autres analyses

C. Politique qualité

Il y a une volonté de la part du biologiste de mettre en place de façon effective le Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA) dans le laboratoire, d'où les démarches suivantes :

- En 2004, mise en place d'une assistance à la démarche qualité par un prestataire extérieur, mais celle-ci n'a pas aboutie.

- En 2005, le biologiste a souhaité impliquer le personnel de façon plus formelle dans la démarche d'assurance qualité :
 - l'organisation du système d'assurance de qualité a été déléguée à une personne chargée de la gestion du système de qualité, d'où la formation au Diplôme Universitaire (DU) d'Assurance Qualité.
 - chaque technicien est devenu responsable d'un automate (formation + formation continue (stages, revues))

D'autres actions ont déjà été entreprises à différents niveaux :

- Matériel :
 - renouvellement de certains matériels : automate d'hématologie, automate d'hémostase, centrifugeuse, étuve...
 - mise en place de contrats de maintenance des automates
- Identification des échantillons : mise en place d'une étiqueteuse pour étiquetage automatique
- Métrologie :
 - contrôle de température des réfrigérateurs
 - location de pipettes certifiées (COFRAC)
- Traçabilité renforcée au niveau du contrôle de qualité interne, des informations transmises aux prescripteurs...
- Elimination des déchets : mise en place d'une filière d'élimination des déchets d'activité de soins à risques infectieux (DASRI) par une société prestataire de services
- Système informatique :
 - mise en place de connexions monodirectionnelles (automate d'hématologie) ou bidirectionnelles (automate de biochimie)
 - confidentialité accrue (personnes intervenant ponctuellement dans le laboratoire, accès au système informatique, écrans...)
 - mise en place d'une liaison informatique (HPrim) avec le laboratoire en collaboration pour la transmission des analyses

III. PRINCIPE DE LA SEROTHEQUE

La sérothèque est la cryoconservation d'échantillons de sérum qui est réalisée après exécution des analyses afin de conserver l'intégrité et la stabilité des échantillons à analyser. Cette conservation peut être nécessaire pour :

- répondre à la réglementation en vigueur concernant certains examens
- réaliser une vérification ultérieure d'une analyse
- permettre une comparaison de la même analyse à différents temps
- vérifier une séroconversion

Elle peut également faire l'objet d'une décision interne du laboratoire ou pour pallier à d'éventuelles difficultés pouvant survenir lors de la transmission à des laboratoires extérieurs.

La gestion de la sérothèque doit permettre de rechercher aisément un échantillon.

IV. REGLEMENTATION ACTUELLE CONCERNANT LA SEROTHEQUE

Les textes réglementaires concernant la sérothèque se trouvent dans :

- le Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (Arrêté du 26 novembre 1999 / Code de la santé publique)
- la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (dernière mise à jour : 4 juillet 2006 / Code de la sécurité sociale)

A. Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA)

Le GBEA est un texte réglementaire qui s'impose aux LABM. Il y est spécifié que « Les obligations visées dans ce guide sont opposables aux établissements de santé publics et privés. »

Les obligations du GBEA concernant la sérothèque sont les suivantes:

1. Identification des échantillons

▪ Tubes ou récipients primaires

L'étiquetage doit mentionner, outre l'identité et la date de naissance, le nom de jeune fille si une procédure le prévoit, le sexe, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur, la date et, chaque fois qu'une procédure le prévoit, l'heure du prélèvement et/ou sa localisation.

▪ Tubes ou récipients secondaires

L'étiquetage doit permettre l'identification sans ambiguïté de chaque échantillon au sein du poste de travail ou du poste de stockage.

2. Conservation des échantillons

Après exécution des analyses, les échantillons peuvent être conservés pour permettre une comparaison ou une vérification ultérieures. Cette

conservation est d'ailleurs obligatoire pour certains examens précisés en annexe C du GBEA (cf annexe II).

La durée de conservation pour chaque cas particulier doit, si elle n'est pas réglementée, être fixée par le biologiste et inscrite sur les procédures opératoires.

3. Elimination des déchets

Les restes d'échantillons biologiques analysés sont considérés comme des déchets d'activités de soins à risques infectieux (DASRI) dont l'élimination est soumise aux dispositions des articles R.44-1 à R.44-6 du code de la santé publique. Une filière d'élimination doit être mise en place avec des modalités spécifiques de conditionnement, de stockage, de transport, de traitement et de prétraitement.

B. Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM)

La NABM est un référentiel créé par le code de la sécurité sociale. Il y est notamment stipulé : « Cette nomenclature s'impose aux directeurs de LABM, notamment en ce qui concerne la facturation des actes, le respect des obligations techniques particulières qui conditionnent leur prise en charge. Le non-respect de ces obligations peut conduire à un refus de prise en charge, ou à une demande de contrôle de la bonne exécution des analyses de biologie médicale. Le respect des obligations imposé par ce texte de sécurité sociale que constitue la NABM est également repris dans un texte de santé publique : Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA). »

Ces obligations techniques concernent notamment :

➤ **Les marqueurs tumoraux**

- Dans la NABM version 2000, il était précisé que la durée minimale de conservation en sérothèque pour cinq des marqueurs tumoraux les plus prescrits (PSA, CA 15-3, CA 19-9, CA125, ACE) était de 2 mois.
- Par contre, dans la version actuelle de la NABM, cette mention n'existe plus.

Il semblerait donc que, du point de vue de la NABM, il ne soit plus nécessaire de conserver du sérum pour ces marqueurs tumoraux.

➤ **La sérologie bactérienne**

- Dans la NABM version 2000, il était précisé que la conservation des sérums était d'une durée d'au moins trois mois à -30°C.
 - Par contre, dans la version actuelle de la NABM, la conservation des sérums concernés se fait à -18°C pendant une durée d'au moins un an.
- **Les sérologies virale et parasitaire**
- Il est stipulé que les sérologies virales doivent être conservées au moins un an à -18°C. Les sérologies parasitaires quant à elles doivent être conservées au moins un an à -30°C.
- **La biologie moléculaire**
- Chaque échantillon doit être conservé pendant un an, à -80°C (pour les mycobactéries et le virus de l'hépatite B) ou à -30°C (pour les chlamydiae et les autres virus).
- **Le diagnostic prénatal**
- Pour le dosage des marqueurs sériques de la trisomie 21 foétale dans le sang maternel, les sérums doivent être congelés un an à -18°C. Pour le diagnostic des embryofetopathies infectieuses, chaque échantillon doit être conservé à -80°C pendant trois ans.

C. Comparaison GBEA et NABM

La comparaison des informations contenues dans le GBEA avec celles contenues dans la NABM (cf annexe III) révèle des divergences au niveau de :

- **la conservation des marqueurs tumoraux** qui n'est plus demandée dans la version actuelle de la NABM, alors qu'elle l'est dans le GBEA
- **la température de conservation pour la sérologie parasitaire** qui est de : -18°C dans le GBEA
-30°C dans la NABM
- **la température de conservation pour la biologie moléculaire du virus de l'hépatite C et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)** qui est de : -80°C dans le GBEA
-30°C dans la NABM

Quelle attitude adopter face à ces divergences, sachant que le GBEA est un texte opposable aux LABM mais qui date de 1999, alors que la NABM, qui est également un référentiel, fait l'objet de mises à jour régulières ?

Les recherches effectuées pour trouver une réponse nous ont permis de noter que :

- **Concernant la conservation des marqueurs tumoraux**, le syndicat des biologistes précisait en décembre 2003 suite à l'arrêté du 5 novembre 2003 modifiant la NABM : « La suppression de la reprise systématique du sérum précédent, pour le dosage des marqueurs, ne modifie en rien l'obligation de leur conservation. En effet, l'annexe C du GBEA impose aux laboratoires la conservation pendant un an, par congélation à -18°C, des échantillons biologiques ayant servi à doser les marqueurs tumoraux. »
- **Concernant les différentes températures de conservation** préconisées, la cellule qualité des laboratoires spécialisés Pasteur-Cerba et LCL nous a précisé que le GBEA était le texte réglementaire de référence qu'ils utilisaient, mais que tous les sérums à conserver entre -18°C et -30°C étaient conservés chez eux à -30°C et les autres à -80°C.
- Ces informations ne nous permettant pas de trancher, nous avons sollicité le point de vue de Monsieur CORNIL de l'AFSSAPS, ancien inspecteur des laboratoires, qui nous a répondu que **le GBEA primait sur la NABM** (cf annexe IV).

Puisque le GBEA prime sur la NABM, nous nous baserons donc, pour la partie réglementaire, sur les conditions de conservation et de température figurant dans l'annexe C du GBEA.

D. Hémovigilance, sécurité transfusionnelle

Le laboratoire effectue les examens lors de bilans préopératoires demandés par un établissement de soins ou lors de bilans post-transfusionnels demandés par le service d'hémovigilance de l'établissement de soins concerné.

E. Analyses envoyées à l'extérieur

Nous avons recherché dans le GBEA s'il existait des informations concernant la marche à suivre pour les échantillons qui sont analysés dans des laboratoires extérieurs, que ces échantillons fassent partie ou non de la liste réglementaire des sérums à conserver en sérothèque, mais sans succès.

Ayant également sollicité Monsieur CORNIL sur ce point (cf annexe IV), la réponse a été qu'**en cas d'envoi d'échantillons biologiques de la liste réglementaire à d'autres LABM, les conditions de conservation en sérothèque sont à définir dans les contrats liant les laboratoires entre eux.**

Pour les échantillons biologiques « non concernés par la sérothèque obligatoire », rien n'est précisé dans les textes, donc il n'y a pas d'obligations.

F. Norme ISO 15189 et GBUI

Nous n'y avons pas trouvé d'éléments se rapportant à la sérothèque.

V. MISE EN CONFORMITE DE LA SEROTHEQUE

Afin de se mettre en conformité avec la réglementation et les pratiques du laboratoire, nous avons planifié les étapes ci-dessous :

1. effectuer un état des lieux de la situation du laboratoire au temps T_0
2. déterminer des objectifs concrets, accessibles, mesurables et motivants
3. définir les moyens et un plan d'amélioration selon un calendrier
4. mettre en place des indicateurs

A. Faire un état des lieux :

Avant d'entreprendre toute action au niveau du laboratoire, nous avons réalisé un **état des lieux** au temps T_0 , c'est-à-dire **de la situation de départ**.

Cet état des lieux a porté sur un certain nombre de points.

1. Liste des échantillons biologiques à conserver

Au départ de cette étude, tous les échantillons des analyses figurant sur la liste réglementaire sont censés être conservés au laboratoire, que les analyses soient effectuées par notre laboratoire, par le laboratoire en collaboration ou par les laboratoires spécialisés. Aucun échantillon, autre que ceux de cette liste, n'est conservé.

L'état des lieux a permis de constater **qu'aucune liste**, même la liste réglementaire, **n'était à la disposition des techniciens**.

Malgré ce manque d'affichage, nous avons voulu vérifier si les échantillons conservés dans notre sérothèque correspondaient aux échantillons figurant sur la liste réglementaire.

Pour cela, nous avons réalisé une étude sur la sérothèque du mois d'avril 2006. Cette étude a été faite par comparaison de la liste théorique des échantillons à conserver avec les échantillons effectivement conservés dans la sérothèque du laboratoire.

Pour obtenir cette liste théorique, nous avons réalisé un tri informatique des dossiers du laboratoire en utilisant des filtres successifs :

- les dossiers du mois d'avril
- puis le code de l'analyse souhaitée (il faut donc avoir réalisé au préalable une liste exhaustive des codes informatiques des analyses concernées).

Cette étude a permis de constater que toutes les analyses obligatoires n'étaient pas présentes dans la sérothèque, et parmi celles qui y figuraient, il manquait des tubes.

2. Prélèvement des échantillons biologiques

Un prélèvement peut être effectué sur un ou deux tubes primaires, selon que l'analyse est effectuée ou non dans notre laboratoire.

Pour les analyses concernées par la sérothèque, un schéma permet de visualiser ces différents cas (cf annexe V) :

- si l'analyse est réalisée dans le laboratoire, le prélèvement de sang est effectué sur un tube primaire sec stérile de 5 ml obturé par un bouchon à ailettes. Après centrifugation et analyse, le sérum est séparé pour la conservation en sérothèque
- si l'analyse est réalisée par le laboratoire en collaboration, le prélèvement de sang est effectué sur deux tubes primaires secs. Un des tubes (tube primaire 1) est envoyé dans le laboratoire en collaboration et l'autre tube (tube primaire 2) est centrifugé et le sérum séparé pour conservation dans notre sérothèque

Remarque : si le patient est difficile à piquer, on ne prélèvera qu'un tube de sang, puis on décantera le sérum pour conservation en sérothèque.

- si l'analyse doit être envoyée dans un laboratoire spécialisé, le prélèvement est effectué sur un tube primaire sec qui, après centrifugation, est aliquoté en partie dans un tube dédié au laboratoire spécialisé et fourni par ce laboratoire, et en partie dans un tube pour conservation dans la sérothèque

On peut noter qu'un mode opératoire rédigé manuellement existe, mais qu'il **n'est pas daté et qu'aucune mention n'indique qu'il a été techniquement et biologiquement validé.**

3. Identification des échantillons

Les tubes contenant les échantillons biologiques sont identifiés à l'aide d'étiquettes apposées par le technicien au niveau de la salle de prélèvement pour les tubes primaires ou au niveau du poste d'aliquotage des échantillons pour les tubes secondaires.

a) Les étiquettes

Il existe deux types d'étiquettes : des étiquettes éditées automatiquement par l'étiqueteuse lors de l'enregistrement d'un nouveau dossier et des étiquettes vierges qu'il faut alors compléter.

- Les étiquettes éditées par l'étiqueteuse comportent les mentions suivantes :
 - nom et prénom du patient
 - date de naissance
 - n° de dossier en 9 chiffres : AAMMJJXXX
 - AA : année sur deux chiffres
 - MM : mois sur deux chiffres
 - JJ : jour sur deux chiffres
 - XXX : numéro du dossier sur trois chiffres
- Exemple : 060426031 → il s'agit du 31^{ème} dossier du 26 avril 2006
- code à barres (pour lecture par les automates)
 - analyse ou groupe d'analyses à effectuer

On remarque que ces étiquettes ne comportent pas les mentions suivantes :

- le sexe,
- la nature de l'échantillon,
- le nom du préleveur,
- l'heure du prélèvement et/ou sa localisation.
- le nom de jeune fille

Mais toutes ces informations peuvent être retrouvées en consultant le dossier du patient sur le logiciel informatique de gestion du laboratoire ou le cahier de prélèvement qui est tenu dans chaque salle de prélèvement.

- Les étiquettes vierges sont complétées par le préleveur qui inscrit manuellement :
 - le nom du patient,
 - le prénom (pas toujours),
 - le n° dossier ou la date,
 - l' (les) analyse(s) concernée(s)

b) L'étiquetage des tubes

- Etiquetage des tubes primaires

L'étiquetage des tubes primaires est réalisé par le préleveur dans la salle de prélèvement après vérification de l'identité du patient.

Pour les analyses concernées par la sérothèque (cf annexe V) :

- si l'analyse est réalisée dans le laboratoire, le tube primaire est étiqueté avec une étiquette code à barres
- si l'analyse est réalisée par le laboratoire en collaboration, le tube primaire 1 est étiqueté avec une étiquette code à barres et le tube primaire 2 est étiqueté avec une étiquette manuelle
- si l'analyse doit être envoyée dans un laboratoire spécialisé, le tube primaire est étiqueté avec une étiquette code à barres

- Etiquetage des tubes secondaires

Cet étiquetage est effectué par le technicien au niveau du poste de travail de l'aliquotage.

- Tube destiné au laboratoire spécialisé

Ces tubes, fournis par les laboratoires spécialisés, sont déjà étiquetés par leurs soins.

- Tube destiné à la sérothèque

Ce sont des tubes vides (secs, non stériles, non bouchés) sur lesquels on appose une étiquette vierge que l'on complète manuellement.

Le fait de devoir créer manuellement une étiquette pour un échantillon à conserver en sérothèque représente des risques d'erreur :

- **risque d'oubli de créer le tube pour la sérothèque**
- **risque de ne pas reporter le bon nom du patient sur l'étiquette**
- **les conditions de conservation et de manipulation font parfois couler l'encre sur l'étiquette. Les inscriptions deviennent illisibles et cela rend l'identification du tube difficile.**

4. Aliquotage des échantillons

Les tubes vides avec les étiquettes manuelles destinés à la sérothèque sont posés sur un portoir dédié qui est placé sur la paillasse du poste de travail d'aliquotage. Ce portoir comporte 2 rangées :

- une première rangée sur laquelle on dépose par ordre d'arrivée ces tubes vides étiquetés
- une deuxième rangée vide en attendant d'accueillir, derrière chaque tube vide correspondant, le tube primaire centrifugé

On prélève alors le maximum de sérum du tube primaire que l'on introduit, après vérification des étiquettes, dans le tube vide qui est alors bouché à l'aide d'un bouchon à ailettes. Cette opération est effectuée patient après patient pour éviter tout risque d'erreur d'identification.

On constate que le mode opératoire de l'aliquotage des échantillons n'est pas rédigé.

5. Rangement des échantillons à conserver pour la sérothèque

Les tubes rebouchés sont placés dans le réfrigérateur présent dans la pièce, avant d'être descendu dans un des bacs à congélation, normalement en fin de journée.

Ils sont stockés par type de sérologie ou marqueurs, dans des sachets pour congélation ou des portoirs.

Cette étape intermédiaire de conservation au réfrigérateur n'est pas souhaitable et ce rangement par type d'analyses et dans des conditionnements différents ne facilite pas la recherche ultérieure d'un échantillon.

6. Conservation des échantillons

Les tubes de sérothèque sont répartis dans trois bacs à congélation différents dont deux ont plus de 10 ans et pour lesquels **aucun suivi de température n'est effectué.**

Les délais de conservation de un an sont quant à eux respectés.

7. Recherche d'un échantillon de la sérothèque

La recherche est effectuée par un technicien qui, après avoir ciblé le type d'analyses, doit repérer le portoir ou le sachet du mois concerné, et qui doit alors vérifier un à un les tubes. **Cette recherche est loin d'être optimisée.**

8. Elimination des échantillons

Un contrat d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux a été conclu avec une société prestataire de services. Chaque enlèvement hebdomadaire donne lieu à l'élaboration d'un bordereau de suivi. **Par contre, la procédure d'élimination des déchets n'est pas rédigée.**

B. Déterminer des objectifs concrets, accessibles, mesurables et motivants

L'évaluation des pratiques du laboratoire a donc permis de constater que :

- toutes les analyses réglementaires ne sont pas conservées
- des étiquettes vierges à compléter manuellement sont utilisées
- les températures de conservation des échantillons ne sont pas tracées
- les documents ne sont pas validés et ne sont pas tous rédigés
- le rangement et donc la recherche des échantillons ne sont pas aisés.

Afin d'améliorer ces pratiques dans le cadre de l'assurance qualité, nous nous sommes fixés des objectifs pour ce mémoire qui sont au nombre de quatre :

- être en conformité avec la réglementation concernant :

- les échantillons à conserver en sérothèque et leur étiquetage (objectif 1)
 - les conditions de conservation de ces échantillons (objectif 2)
 - la documentation : rédaction et/ou mise à jour des procédures, modes opératoires et fiches d'instruction correspondants (objectif 3)
- mettre en place une gestion correcte et pratique de la sérothèque (objectif 4)

C. Définir les moyens et plan d'amélioration selon un calendrier

Pour chaque objectif déterminé, nous allons tenter d'utiliser les « 6 W » de l'action qualité afin de ne rien omettre :

- | | | |
|--------------|----------|-------------|
| - Pourquoi ? | - Quoi ? | - Comment ? |
| - Où ? | - Qui ? | - Quand ? |

1. Objectif 1 : Etre en conformité avec la réglementation concernant les échantillons à conserver en sérothèque et leur étiquetage

Pour réaliser cet objectif, nous allons agir à deux niveaux :

a) Action au niveau de la liste des échantillons à conserver en sérothèque

La liste des échantillons biologiques à conserver en sérothèque au laboratoire devrait être constituée de la liste réglementaire (Annexe C du GBEA) ainsi que de tout échantillon que le laboratoire juge nécessaire de conserver.

- Parmi les analyses figurant sur cette liste réglementaire, certaines sont effectuées dans notre laboratoire, d'autres dans le laboratoire en collaboration et enfin d'autres dans les laboratoires spécialisés.

Concernant le laboratoire en collaboration, le contrat établi stipule que le laboratoire transmetteur fournira le sérum antérieur dans le cas d'analyses itératives

Concernant les laboratoires spécialisés, une attestation nous a été délivrée par Pasteur Cerba et LCL précisant que « les échantillons après analyse étaient conservés par leurs soins conformément aux conditions définies dans l'annexe C du GBEA pour les examens y figurant ».

Réglementairement, il nous appartient donc de conserver :

- les échantillons analysés dans notre laboratoire
- les échantillons analysés dans le laboratoire en collaboration
- mais pas les échantillons analysés dans les laboratoires spécialisés

Néanmoins, pour pallier à d'éventuelles difficultés pouvant survenir lors de la transmission des échantillons à ces laboratoires ou lors de la réalisation des dosages, nous continuerons à conserver ces échantillons, sauf ceux concernés par une température de conservation de -30°C ou de -80°C car nous ne possédons pas de congélateur pour ces températures (d'un point de vue pratique et financier, il est difficile de posséder un congélateur à -18°C, un autre à -30°C et un troisième à -80°C).

- Concernant les autres échantillons envoyés à l'extérieur pour analyse mais n'appartenant pas à cette liste réglementaire, ceux-ci ne sont pas pour le moment conservés en sérothèque (nous réétudierons cette possibilité ultérieurement). En cas de dommage ou de perte lors de la transmission (ce qui est exceptionnel), nous devons re-prélever le patient.

Nous partons donc sur la base que tous les échantillons de sérum à conserver par notre laboratoire le seront à -18°C.

Objectif 1-a : Etre en conformité avec la réglementation concernant les échantillons à conserver en sérothèque	
Pourquoi	Pour être en conformité avec la réglementation concernant les échantillons à conserver en sérothèque
Quoi	Information au personnel des analyses nécessitant une sérothèque
Comment	- Information orale - Affichage de la liste : « Annexe C du GBEA »
Où	Au niveau du poste de travail de l'aliquotage des échantillons
Qui	RAQ
Quand	Immédiatement

Cette information et cet affichage ont été réalisés le 23 mars 2006.

b) Action au niveau de l'étiquetage des échantillons

Objectif 1-b : Etre en conformité avec la réglementation concernant les échantillons à conserver en sérothèque et leur étiquetage	
Pourquoi	Pour être en conformité avec la réglementation concernant les échantillons à conserver en sérothèque et leur étiquetage
Quoi	Edition automatique d'étiquettes « SEROTHEQUE » pour toutes les analyses figurant sur l' Annexe C du GBEA
Comment	Par action au niveau du paramétrage des étiquettes
Où	Dans le logiciel informatique de gestion du laboratoire
Qui	Biologiste / Service maintenance logiciel
Quand	Immédiatement

Nous avons vu précédemment les risques d'erreur liés au fait de devoir créer manuellement une étiquette pour la sérothèque.

En mars 2006, en concertation avec le biologiste et les techniciens, il est donc décidé de remplacer les étiquettes vierges par l'édition automatique, en plus de l'étiquette code à barres, d'une étiquette qui porte la mention « SEROTHEQUE ». Cette édition sera déclenchée par la saisie, au niveau du dossier du patient, d'une analyse pour laquelle il est obligatoire de conserver un échantillon en sérothèque. En fait, cette étiquette « SEROTHEQUE » doit sortir en deux exemplaires dans le cas où l'analyse est effectuée par le laboratoire en collaboration (cf annexe V).

Cette étiquette « SEROTHEQUE » comprend les éléments suivants :

- le nom du patient
- le prénom du patient
- le sexe (depuis juin 2006)
- la date de naissance du patient
- le numéro de dossier (AAMMJJXXX)
- la (les) analyse(s) ou le groupe d'analyses
- la mention « SEROTHEQUE » à la place du code à barres

Nous pensions qu'il suffisait d'aller dans le dictionnaire des analyses du logiciel informatique et de saisir un paramètre derrière le libellé « Etiquette » de chaque analyse souhaitée pour faire sortir cette étiquette. Mais il s'est avéré que la codification de cette deuxième étiquette n'était pas aussi simple à réaliser. Il nous a donc fallu faire appel au service de maintenance du logiciel informatique du laboratoire (dans le cadre du contrat annuel de maintenance).

En fait, dans le dictionnaire des analyses, les analyses sont regroupées par « reclassement » :

- Reclassement 600 : Immunologie (marqueurs sériques, ferritine, hormonologie, hépatites)
- Reclassement 700 : Sérologie virale, parasitaire
- Reclassement 400 : Biochimie
- ...

Il faut donc saisir le paramètre qui correspond à l'édition d'une étiquette de sérothèque, soit au niveau de l'analyse, soit au niveau du groupe d'analyses. **Ce paramétrage a donc été effectué** en mai 2006.

Suite à ces ajustements, nous avons décidé, en juin 2006, de renouveler l'étude réalisée précédemment sur la sérothèque. Cette fois, l'étude a porté sur la sérothèque de mai 2006.

Objectif 1-bis	
Pourquoi	Pour vérifier que l'objectif 1 est atteint. Sinon, mesurer l'écart et comprendre ce qui s'est passé
Quoi	Par une étude sur la sérothèque de mai 2006
Comment	Nouvelle comparaison entre la liste théorique des échantillons à conserver et les échantillons effectivement conservés dans la sérothèque
Où	Dans le logiciel informatique de gestion du laboratoire et dans le congélateur
Qui	RAQ
Quand	Mai 2006

Cette nouvelle comparaison a démontré qu'**il manquait encore des tubes dans la sérothèque**. Nous en avons donc cherché la raison.

En se basant sur la liste exhaustive des codes, nous avons vérifié, code par code (analyse par analyse), si le paramètre correspondant à l'édition d'une étiquette « SEROTHEQUE » avait bien été saisi. Et il est apparu que certaines analyses n'étaient toujours pas codifiées pour l'édition automatique d'une étiquette « SEROTHEQUE ». Il s'avère donc que **nous n'avons pas été exhaustifs lors du premier paramétrage**, car la codification des analyses est parfois complexe (analyses couplées entre elles, double code pour une analyse), d'où la nécessité de se baser sur une liste exhaustive des codes. **Il a donc fallu paramétrer les analyses concernées.**

Une **nouvelle étude** réalisée sur la sérothèque de juin 2006 a permis de constater que **l'ensemble des échantillons à conserver en sérothèque était bien présent dans notre sérothèque.**

Nous renouvellerons toutefois cette étude dans trois mois.

Remarque :

Il existe, au niveau du logiciel de gestion du laboratoire, des « cahiers de paillasse » qui permettent de visualiser l'ensemble des dossiers d'un groupe d'analyses. Ils sont utilisés aujourd'hui pour vérifier que tous les résultats ont bien été saisis. Le problème, c'est que ces groupes d'analyses ne correspondent pas aux groupes d'analyses concernés par la sérothèque. Il faudrait également que nous nous penchions sur ce problème pour voir si nous pourrions re-codifier ces cahiers de paillasse pour les utiliser dans le cadre de la sérothèque sans perturber le fonctionnement d'aujourd'hui. Ainsi, chaque fin de journée, le technicien pourrait vérifier, à partir des cahiers de paillasses, si aucun tube n'a été oublié pour la sérothèque.

2. Objectif 2 : Etre en conformité concernant les conditions de conservation des échantillons

Le fait que les températures ne fassent pas l'objet d'un suivi au niveau des congélateurs ne permet pas de respecter les dispositions réglementaires. La vétusté des appareils est également à prendre en compte. Le fait que

les échantillons soient conservés en trois endroits différents n'est pas pratique.

C'est pourquoi **l'achat d'un nouveau congélateur** permettant de regrouper l'ensemble des échantillons de sérothèque a été envisagé et **a été réalisé** en juin 2006 après étude (cf Etude sur le matériel). Ce congélateur a été placé au sous-sol, à la place des autres appareils. La contenance a été déterminée suite à une étude réalisée sur le nombre moyen d'échantillons à conserver et sur le matériel (cf objectif 4). Il forme une zone de stockage que l'on appellera la zone de stockage 2 (*). Ce congélateur a été programmé pour une température de conservation de -18°C (plage du congélateur : -21°C ± 7°C) permettant d'assurer la stabilité et l'intégrité de la molécule analysée. En outre, il possède :

- une alarme sonore d'élévation de température qui retentit lorsque la température du congélateur a augmenté de plusieurs degrés (la variation n'est pas précisée). Simultanément, l'affichage de la température clignote tant que l'incident détecté par l'alarme n'a pas été éliminé.
- un affichage de coupure de courant. L'indication « nR » s'affiche lorsque la température du congélateur a subi une élévation anormale (variation non précisée) au cours des dernières heures ou des derniers jours en raison d'une coupure de courant. Lorsque l'on appuie sur la touche d'alarme alors que le message nR apparaît à l'affichage, ce dernier indiquera la température la plus élevée atteinte pendant la coupure de courant.

Suite à cet achat, il apparaît indispensable de s'assurer des bonnes conditions de conservation des échantillons.

(*) Remarque : Pour des raisons pratiques, les tubes de sérothèque du mois en cours sont conservés dans la partie congélateur du réfrigérateur situé au rez-de-chaussée, près du poste de travail de l'aliquotage des échantillons. Cette partie congélateur s'appellera la zone de stockage 1.

Objectif 2 : S'assurer des bonnes conditions de conservation des échantillons au niveau des deux zones de stockage	
Pourquoi	Pour être en conformité concernant les conditions de conservation des échantillons
Quoi	S'assurer des bonnes conditions de température de conservation des échantillons
Comment	Par un relevé des températures des deux zones de stockage des échantillons de sérothèque
Où	Sur les fiches de contrôle de température des deux congélateurs
Qui	Techniciens
Quand	Quotidiennement

Chaque zone de stockage a donc été munie d'un thermomètre fixé sur l'appareil et dont la sonde placée à l'intérieur permet le relevé quotidien des températures qui sont reportées quotidiennement par les techniciens sur les fiches de contrôle placées sur chaque appareil. La zone de stockage 1 ne devrait être ouverte qu'une ou deux fois par jour, alors que la zone de stockage 2 ne devrait être ouverte que quelques fois par mois.

Les thermomètres ont été acquis auprès de la société extérieure qui assure le contrôle annuel de nos instruments de mesure. Ils ont ensuite été contrôlés et étalonnés en juin 2006 à l'aide d'un thermomètre relié COFRAC (pour lequel un certificat d'étalonnage nous a été fourni).

Ces dispositions nous permettent donc de suivre les températures, sachant que l'idéal serait un enregistrement en continu des températures, avec alarme qui peut être relayée sur un portable.

Le suivi de ces températures permet de constater que les conditions de température sont respectées (> -18°C).

Une procédure dégradée en cas de dysfonctionnement de l'appareil a été mise en place, ainsi qu'un planning d'entretien des appareils.

3. Objectif 3 : Rédaction des procédures, modes opératoires et fiches d'instruction

La rédaction de ces documents va nous permettre d'homogénéiser les manières de travailler et donc de réduire la variabilité des pratiques.

Objectif 3 : Rédaction des procédures, modes opératoires et fiches d'instruction	
Pourquoi	Pour être en conformité concernant la documentation
Quoi	Rédaction et/ou mise à jour des procédures, modes opératoires et fiches d'instruction correspondants
Comment	A partir d'un logiciel de texte
Où	Sur un ordinateur portable informatique
Qui	Techniciens / RAQ
Quand	3 semaines environ par document

Les documents envisagés sont les suivants :

- Mode opératoire d'aliquotage des échantillons
- Fiche d'instruction de l'aliquotage des échantillons
- Mode opératoire de gestion d'une sérothèque
- Fiche d'instruction de stockage des échantillons dans la sérothèque
- Fiche d'instruction de recherche et déstockage des échantillons de la sérothèque
- Procédure d'élimination des DASRI
- Fiche d'instruction de l'élimination des DASRI

Ces documents ont été rédigés, vérifiés et approuvés et sont mis en place au sein du laboratoire.

4. Objectif 4 : Mise en place de la sérothèque

Le quatrième objectif consiste à mettre en place une gestion correcte et pratique de la sérothèque au laboratoire.

Objectif 4 : Mise en place de la sérothèque	
Pourquoi	Afin de pouvoir disposer d'une sérothèque conforme et pratique
Quoi	Détermination du matériel le plus adéquat pour cette sérothèque
Comment	<ul style="list-style-type: none"> - Par une étude pour déterminer le nombre moyen d'échantillons à conserver en sérothèque - Par une étude (économique et volumétrique) pour permettre le choix du matériel
Où	
Qui	RAQ
Quand	Juin 2006

a) Détermination du nombre moyen d'échantillons à conserver en sérothèque

Une étude a été effectuée pour déterminer le nombre moyen d'échantillons à conserver, à partir des données informatiques portant sur les analyses des 12 derniers mois (mai 2005 à avril 2006) pour être plus proche de la réalité (cf annexe VI). A partir des éléments recueillis, une moyenne du nombre d'échantillons sur 12 mois pour chaque analyse concernée a été calculée. Mais une simple addition des moyennes calculées pour chaque analyse n'a pu être faite, car certaines analyses sont souvent couplées (présentes sur la même ordonnance) et donc ne nécessitent qu'un seul échantillon de sérum à conserver.

Avec l'aide du biologiste, un nombre moyen d'échantillons a été extrapolé pour aboutir à une **moyenne de 203 échantillons par mois à conserver** en sérothèque.

(Pour le mois de juin 2006, on a relevé 191 échantillons.)

b) Etude sur le matériel de conservation des échantillons : étude sur les tubes, portoirs, boîtes de cryoconservation

Les échantillons à conserver en sérothèque peuvent être placés dans des sachets, des portoirs ou des boîtes de cryoconservation. L'option des sachets (utilisée en partie à ce jour) implique que les tubes sont en

vrac (donc la recherche n'est pas aisée) et ne permet pas de conserver les tubes droits (risque de fuite si le tube est mal bouché). Il a donc été décidé d'abandonner cette pratique.

Les échantillons étaient également répartis en fonction de la sérologie (bactérienne, virale...). Comme toutes les analyses à conserver dans notre laboratoire sont à conserver à -18°C, il n'y a apparemment pas de raison de séparer les échantillons par groupe d'analyses.

Une étude volumétrique et économique est donc réalisée (cf annexe VII) pour tenter de déterminer le matériel de conservation le plus adéquat.

Conclusion de cette étude : l'option des tubes de 3 ml + bouchons + boîtes de cryoconservation paraît la plus intéressante en termes économiques et volumétriques. De plus, le système de repérage alphanumérique des boîtes de cryoconservation permet de repérer aisément un tube. Il est donc convenu, lors d'une réunion avec le biologiste et les techniciens, que pour une question de pratique, **l'option du KIT de cryoconservation** (le matériel n'est dédié qu'à la sérothèque) **serait retenue.**

D. Mise en place d'indicateurs

La recherche d'un tube dans la sérothèque n'étant pas très fréquente, les indicateurs que nous pourrions utiliser :

- nombre de recherche d'échantillons / mois
- nombre d'échantillons pour lequel la recherche > 10 min
- nombre d'échantillons en sérothèque extraits / nombre d'échantillons en sérothèque recherchés

ne seraient pas très significatifs.

C'est pourquoi l'étude basée sur la comparaison des échantillons de la liste théorique et des échantillons effectivement présents est le meilleur indicateur que nous puissions mettre en place. D'ailleurs, une nouvelle comparaison est prévue réalisée dans trois mois.

VI. GESTION DE LA SEROTHEQUE DU LABORATOIRE

Un logigramme (cf annexe VIII) reprend les différentes étapes de la gestion de la sérothèque qui sont décrites ci-dessous.

A. Enregistrement et stockage des échantillons à conserver en sérothèque

Les échantillons biologiques à conserver en sérothèque sont stockés dans des boîtes pour cryoconservation avec repérage alphanumérique pouvant contenir 100 tubes de 3 ml (10 x 10) (cf annexe IX).

Chaque mois, une nouvelle boîte est entamée (afin de permettre une élimination plus aisée des échantillons l'année suivante). Sont notés sur chaque boîte, l'année et le mois, ainsi que le numéro de la boîte s'il y a plus de 100 échantillons à stocker dans le mois.

Chaque boîte est accompagnée d'une feuille quadrillée comportant 100 cases (10 x 10) et sur laquelle sont notés, à l'aide des cinq derniers chiffres du numéro de dossier, les échantillons à conserver.

Ces échantillons sont enregistrés quotidiennement par ordre chronologique sur la feuille, puis stockés dans la boîte dans le même ordre.

La boîte est rangée dans la zone de stockage 1 pendant le mois en cours, puis dans la zone de stockage 2 à la fin du mois.

Ces boîtes sont conservées pendant 1 an et 1 mois à -18°C.

B. Recherche et déstockage d'un échantillon en cours de conservation

Un échantillon peut être recherché pour :

- vérification ultérieure d'une analyse
- comparaison de résultats d'une même analyse à 2 moments différents
- une réquisition judiciaire

A partir du nom du patient ou de la date de prélèvement, le numéro de dossier de l'échantillon est recherché à l'aide du logiciel de gestion du laboratoire.

Puis, la feuille quadrillée correspondant à la date est extraite du classeur où ces feuilles sont classées par mois. A partir de cette feuille, le numéro de la boîte de cryoconservation correspondante est relevé, ainsi que l'emplacement de l'échantillon dans cette boîte.

La boîte de cryoconservation correspondante est alors extraite de sa zone de stockage, et à l'aide du repérage alpha et numérique situé sur la boîte, l'échantillon est déstocké.

Toute extraction d'échantillon est alors notée sur la feuille quadrillée.

C. Elimination des échantillons de la sérothèque

Chaque mois, les échantillons du mois M-1 de l'année précédente (cf délai de conservation de la liste des échantillons à conserver en sérothèque) sont éliminés selon les principes d'élimination des déchets d'activités de soin à risques infectieux.

VII. AVENIR

▪ Logiciels informatiques

L'utilisation d'un outil informatique ne nous semble pas utile aujourd'hui, car le système mis en place semble correspondre à nos besoins, que ce soit en capacité comme en coût. De plus, il faut disposer de temps et de personnel formé pour la saisie informatique, ce qui n'est pas le cas à ce jour.

▪ Automates

Il existe également des automates, adaptés à de gros volumes de tubes à conserver en sérothèque, qui assurent :

- la génération automatique des fractions aliquotes (avec pipetage entièrement automatisé)
- la gestion et la traçabilité complète de la sérothèque (recherche d'un tube par son code à barres ou sa date)
 - chaque tube est tracé depuis son entrée jusqu'à sa destruction avec chaque sortie temporaire pour des analyses complémentaires
 - gestion des dates de validité des échantillons
 - gestion de la mise aux déchets

Ces automates paraissent sans intérêt dans le cas de notre laboratoire en raison du faible nombre de prélèvements que nous avons à gérer en sérothèque et de leur coût prohibitif.

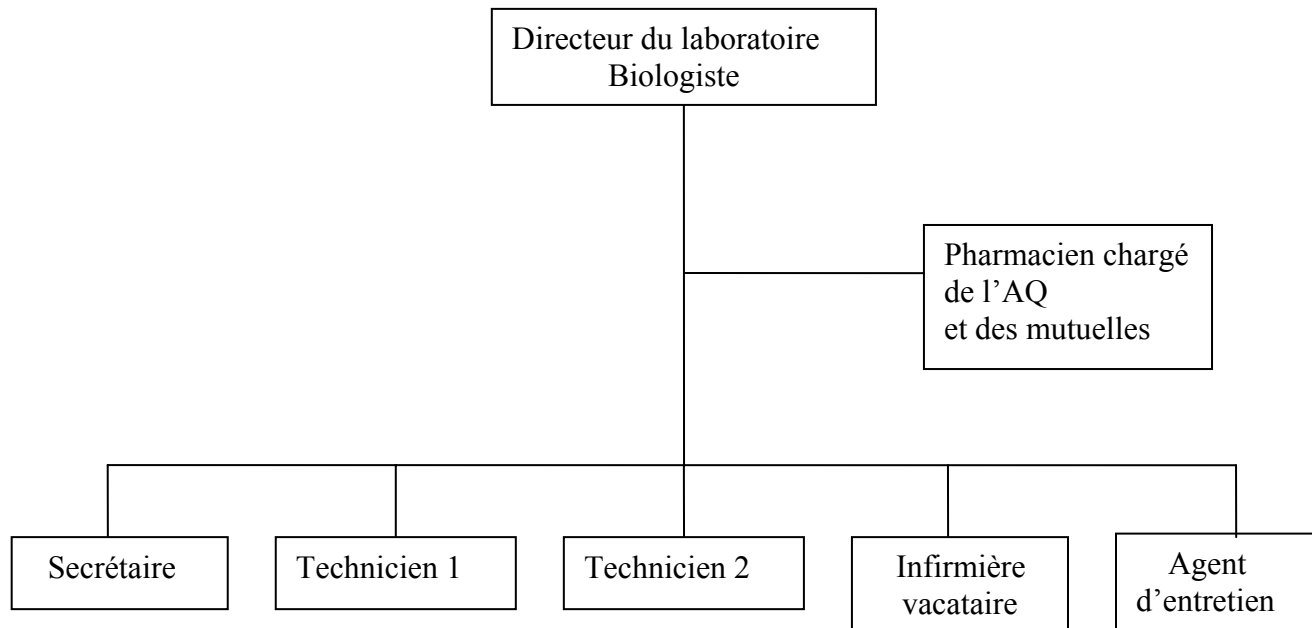
VIII. CONCLUSION

Les objectifs que nous nous étions fixés pour ce mémoire nous ont permis de mettre en place une gestion pratique de la sérothèque tout en nous mettant en conformité avec la réglementation. Malgré l'existence de divergences entre les textes réglementaires, nous avons essayé d'être le plus pragmatique possible. Cela nous a conduit à effectuer l'achat de matériel et d'appareil adaptés à la réglementation et à notre pratique au laboratoire, ainsi que des interventions dans notre logiciel de gestion informatique, notamment au niveau du paramétrage des étiquettes. Un autre point fort de ce travail est d'avoir initié la rédaction des documents indispensables à notre organisation. Il nous reste toutefois à reconsidérer l'intérêt de conserver en sérothèque les échantillons des analyses à envoyer à l'extérieur, ainsi que l'utilisation des cahiers de paillasse. Selon l'évolution des textes réglementaires, des appareils techniques et de notre pratique, nous adapterons nos savoir-faire et nos procédures en conséquence.

IX. ANNEXES

ANNEXE I	ORGANIGRAMME DU LABORATOIRE	59
ANNEXE II	ANNEXE C DU GBEA	60
ANNEXE III	COMPARAISON GBEA ET NABM.....	61
ANNEXE IV	PRECISIONS SUR LA REGLEMENTATION	62
ANNEXE V	PRELEVEMENT ET ETIQUETAGE DES ECHANTILLONS A T ₀	63
ANNEXE VI	ETUDE SUR LE NOMBRE MOYEN D'ECHANTILLONS A CONSERVER	64
ANNEXE VII	ETUDE SUR LE MATERIEL	66
ANNEXE VIII	LOGIGRAMME DE GESTION DE LA SEROTHEQUE	69
ANNEXE IX	SCHEMA DE LA BOITE DE CRYOCONSERVATION	70

Annexe I
Organigramme du laboratoire



Annexe II

Annexe C du GBEA : Conservation des échantillons biologiques

Durée et température de conservation après analyses de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés

Examen biologique	Température de conservation	Durée
Marqueurs tumoraux	- 18°C	1 an
Sérologies bactériennes	- 18°C	1 an
Sérologies virales	- 18°C	1 an
Sérologies parasitaires	- 18°C	1 an
<u>Biologie moléculaire :</u> - Mycobactéries - Virus de l'hépatite B - Virus de l'hépatite C - Virus de l'immunodéficience HIV - Chlamydiae	- 80°C - 80°C - 80°C - 80°C - 30°C	1 an 1 an 1 an 1 an 1 an
<u>Diagnostic prénatal :</u> - Dosage des marqueurs sériques de la trisomie 21 fœtale dans le sang maternel - Diagnostic des embryofœtopathies infectieuses	- 18°C - 80°C	1 an 3 ans

Annexe III

Comparaison des durées et températures de conservation des échantillons biologiques figurant dans le GBEA et la NABM

Examen biologique	Température de conservation GBEA	Température de conservation NABM	Durée GBEA	Durée NABM
Marqueurs tumoraux	- 18°C	-	1 an	-
Sérologies bactériennes	- 18°C	- 18°C	1 an	1 an
Sérologies virales	- 18°C	- 18°C	1 an	1 an
Sérologies parasitaires	- 18°C	- 30°C	1 an	1 an
<u>Biologie moléculaire</u> :				
- Mycobactéries	- 80°C	-80°C	1 an	1 an
- Virus de l'hépatite B	- 80°C	-80°C	1 an	1 an
- Virus de l'hépatite C	- 80°C	-30°C	1 an	1 an
- Virus de l'immunodéficience HIV	- 80°C	-30°C	1 an	1 an
- Chlamydiae	- 30°C	-30°C	1 an	1 an
<u>Diagnostic prénatal</u> :				
- Dosage des marqueurs sériques de la trisomie 21 fœtale dans le sang maternel	- 18°C	-18°C	1 an	1 an
- Diagnostic des embryofœtopathies infectieuses	- 80°C	- 80°C	3 ans	3 ans

Annexe IV

Précisions sur la réglementation

Août 2006

Monsieur CORNIL de l'AFSSAPS, ancien inspecteur des laboratoires et intervenant au DU Assurance qualité, sollicité sur des questions de réglementation concernant la sérothèque, a eu l'amabilité de répondre aux questions ci-dessous :

Question sur la sérothèque réglementaire :

Il apparaît des divergences entre les informations contenues dans la NABM et celles contenues dans le GBEA :

- la conservation des marqueurs tumoraux qui n'est plus demandée dans la version actuelle de la NABM, alors qu'elle l'est dans le GBEA
- la température de conservation pour la sérologie parasitaire :
 - - 30°C dans la NABM
 - - 18°C dans le GBEA

Comment s'y prendre face à ces divergences ; y a-t'il un texte qui prime sur l'autre ?

Réponse : Les conditions de conservation sont définies par le GBEA. Ce texte réglementaire est un texte pris en application du code de la santé publique dont l'application peut être vérifiée lors des inspections ; ce texte prime donc sur le texte de la NABM, qui est un texte pris en application du code de la sécurité sociale et qui fixe les conditions de remboursement.

Question sur les analyses envoyées à l'extérieur :

Ayant interrogé les laboratoires Pasteur Cerba et LCL sur les **échantillons concernés par la sérothèque réglementaire**, ils m'ont répondu qu'ils conservaient en sérothèque les échantillons que nous leur envoyons, et qu'il n'était donc pas nécessaire que nous conservions de notre côté des échantillons dans notre sérothèque. Est-ce correct ?

Pour les **échantillons non concernés par la sérothèque réglementaire**, devons-nous conserver les échantillons que nous envoyons ?

Y a-t'il une quelconque réglementation ou des recommandations ou des habitudes ?

Réponse :

En cas d'envoi d'échantillons biologiques à d'autres LABM (privés ou hospitaliers), les conditions de conservation en sérothèque sont à évoquer dans les contrats de collaboration entre LABM, dans les règlements intérieurs des SEL de LABM, dans les conventions avec les labos hospitaliers et d'une manière générale dans tout contrat liant un LABM à un autre ou plusieurs autres.

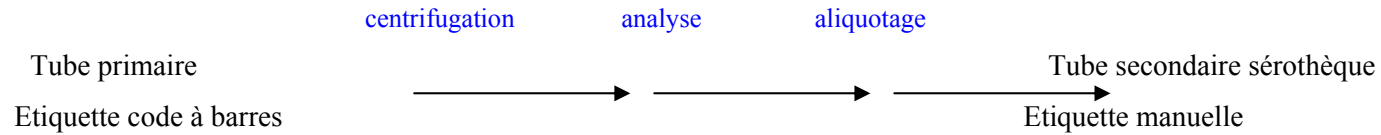
Ainsi, si les modalités et les lieux sont clairement définis, cela sera plus clair en cas de re-contrôles nécessaires, de litiges ou d'inspections.

Pour les paramètres biologiques "non couverts par la sérothèque obligatoire", rien n'est précisé dans les textes, donc pas d'obligations.

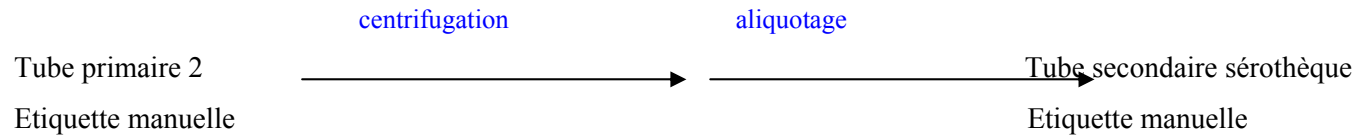
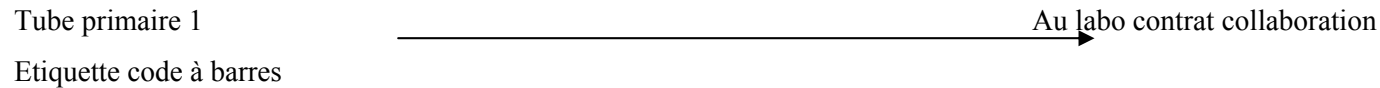
Annexe V

Prélèvement et étiquetage des échantillons biologiques pour la sérothèque au temps T₀

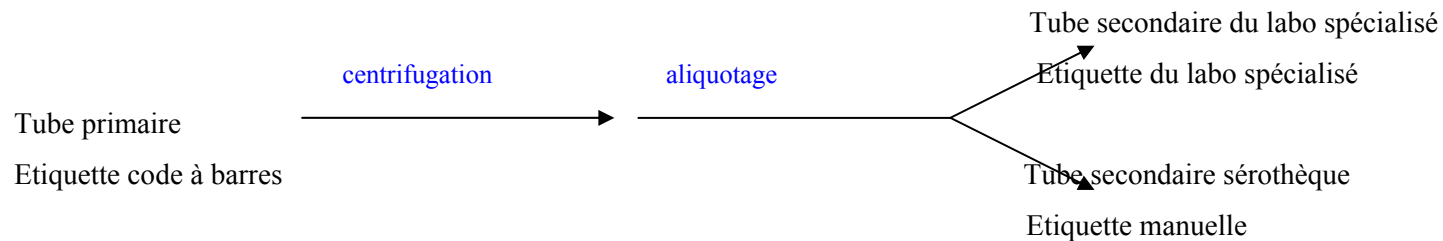
- Si l'analyse est réalisée dans le laboratoire



- Si l'analyse est réalisée dans le laboratoire en collaboration



- Si l'analyse est réalisée dans un laboratoire spécialisé



Annexe VI

Etude sur le nombre moyen d'échantillons à conserver

NOM		N° analyse	*Etiq	Reclassnt	*Etiq	Moyenne / 12 mois	Moyenne retenue
MARQUEURS TUMORAUX							
ACE	Antigène carcino-embryonnaire	646	0	600	47	9,8	9,8
CA125	CA 125	625	66	600	47	1,2	
CA153	CA 15-3	623	66	600	47	5,7	
CA199	CA 19-9	624	66	600	47	2,9	
AFP	α foeto-protéine	681	0	600	47	2,5	2,5
PSA	Antigène prostatique	635	0	600	47	44,9	44,9
PSAL	PSA libre	964	0	600	47	9,9	9,9
SERODIAGNOSTIC BACTERIEN							
BW*	Syphilis	755	47	700	0	21,2	
SEROLOGIE VIRALE							
CMV1	Cytomégalovirus 1ère déter	873	47	700	0	9,9	
CMV2	Cytomégalovirus 2ème déter	874	47	700	0	0,4	
ACHBCG	Ac Hépatite Bc	689	67	600	47	4,3	4,3
ACHBCM	IgM de l'Ac HépBc	878	67	600	47	1,1	1,1
ACHBS	Ac anti-HBs	621	67	600	47	8,8	8,8
AGHBS	Ag HBs	955	67	600	47	9,8	
HAVIGM	IgM Hép.A	698	67	600	47	0,1	0,1
HAVTOT	Ac totaux Hép.A	696	67	600	47	3,3	3,3
HBAPVA	Hép.B (après vaccination)	898	67	600	47	3,4	3,4
HBAVVA	Hép. B (avant vaccination)	897	47	600	47	0,0	
HBC	Ac HBc	893	67	600	47	0,0	
HBGROS	Ag Hép.BS (Surveillance de la grossesse)	958	47	600	47	7,9	
HBGUER	Hép.B (Contrôle de guérison)	896	47	600	47	0,0	
HBINF	Hép.B (Recherche d'infections récentes)	879	47	600	47	8,5	
HBSAC	Ac Hép.BS DE L'HEP B	899	67	600	47	0,3	0,3
HEPSC	Hép.C	695	51	600	47	8,7	
agHBS	Ag Hép.Bs	620	67	600	47	0,0	
HIV	HIV	1882	47	700	0	46,4	30,6
MNI	Mononucléose infectieuse	701	47	700	0	3,3	3,3
RUB1	Rubéole (1ère détermination)	718	47	700	0	14,8	
RUB2	Rubéole (2ème détermination)	729	47	700	0	4,7	
SEROLOGIE PARASITAIRE							
TOX1	Toxoplasmose (1ère détermination)	734	47	700	0	17,1	17,1
TOX2	Toxoplasmose (2ème détermination)	739	47	700	0	29,0	29,0
SEROLOGIES NON CODIFIEES							
						279,5	
XDIV	Divers	1199	48	1197	47	105,8	34,9
Total calculé *							203,1

*Etiquette 47 : SEROTHEQUE
48 : CERBA - LCL
51 : HEPATITE C

66 : LABO COLLABORATION
67 : LABO COLLABORATION

Annexe VI (suite)

* On ne peut pas faire une simple addition des moyennes de chaque analyse, car certaines analyses sont souvent couplées (présentes sur la même ordonnance) et donc ne nécessitent qu'un seul tube de sérum à conserver.

On va donc tenter d'extrapoler un nombre moyen de tubes, sachant que :

- les marqueurs ACE, CA 125, CA 15-3 et CA 19-9 peuvent être couplés
→ on ne retient que le nombre le plus important des quatre
- les analyses BW, CMV, AGHBS HBGROS, HBINF, HEPSC, RUB et TOX sont souvent couplées
→ on ne retient que le nombre le plus important, soit $17,1 + 29,0 = 46,1$
- un tiers des HIV sont couplées
→ on ne retient que les deux tiers des HIV, soit 30,6
- parmi les analyses envoyées à l'extérieur (XDIV), un tiers nécessite une sérothèque, soit 34,9

On aboutit à un total de 203 échantillons à conserver par mois.

Annexe VII

Etude sur le matériel

203 échantillons x 13 mois = 2 639 échantillons à conserver

ETUDE ECONOMIQUE :

§ Tubes TH5 (5ml) :

100 tubes = 1,35 € → 2 639 tubes = 35,63 €

§ Tubes TH3 (3ml) :

100 tubes : 1,37 € → 2 639 tubes = 36,15 €

§ Bouchons à ailettes OBA11 (TH5) :

100 bouchons = 0,85 € → 2 639 bouchons = 22,43 €

§ Bouchons à ailettes OBA10 (TH3) :

100 bouchons = 1,15 € → 2 639 bouchons = 30,35 €

§ Portoirs SH10014 pour 10 x 10 = 100 tubes TH5

1 portoir de 100 tubes = 38,92 €

2 639 tubes → 27 portoirs = 1 050,84 €

Ayant déjà 15 portoirs → il reste 12 portoirs à acheter = 467,04 €

§ Portoirs SH10012 pour 10 x 10 = 100 tubes TH3

1 portoir de 100 tubes = 38,92 €

2 639 tubes → 27 portoirs = 1 050,84 €

Ayant déjà 15 portoirs → il reste 12 portoirs à acheter = 467,04 €

§ Boîtes de cryoconservation en carton hydrophobe pour tubes de 5 ml

BCRY5 pour 100 tubes : 12,70 €

2 639 tubes → 27 boîtes = 342,90 €

§ Boîtes de cryoconservation en carton hydrophobe pour tubes de 3 ml

BCRY2 pour 100 tubes : 7,84 €

2 639 tubes → 27 boîtes = 211,68 €

§ SEROKIT-3

Ce kit de 108,12 € comprend :

- 1 000 tubes de 3 ml (TH3PRO)
- 1 000 bouchons à ailettes (OBA10)
- 10 boîtes de cryoconservation CRYOSYSTEM de 100 tubes (BCRY4) avec repérage alphanumérique
- 10 feuilles quadrillées de 1 à 100

2 639 tubes → 3 SEROKIT-3 = 324,36 €

(10 boîtes → 108,12 €, donc 27 boîtes → 291,92 €)

On a différentes options :

- **Option 1 : tubes 5 ml + bouchons + portoirs = 525,10 €**
- **Option 2 : tubes 5 ml + bouchons + boîtes = 342,90 €**
- **Option 3 : tubes 3 ml + bouchons + portoirs = 533,54 €**
- **Option 4 : tubes 3 ml + bouchons + boîtes = 278,18 €**

- **Option 5 : SEROKIT-3 = 324,36 € (291,92 €)**
Annexe VII (suite)

ETUDE VOLUMETRIQUE :

Dimensions : largeur (cm) x longueur (cm) x hauteur (cm)

§ Tubes TH5 + bouchons OBA11 :
hauteur : 7,5 cm

§ Tubes TH3 + bouchons OBA10 :
hauteur : 5,5 cm

§ Portoirs SH10014 pour 10 x 10 = 100 tubes TH5
20,5 cm x 20,5 cm x 6 cm

§ Portoirs SH10012 pour 10 x 10 = 100 tubes TH3
17,5 cm x 17,5 cm x 4 cm

§ Boîtes de cryoconservation BCRY5 en carton hydrophobe pour 100 tubes de 5 ml
13,6 cm x 13,6 cm x 9,5 cm

§ Boîtes de cryoconservation BCRY2 en carton hydrophobe pour 100 tubes de 3 ml
13,6 cm x 13,6 cm x 5,2 cm

§ SEROKIT-3
13,5 cm x 13,5 cm x 7,5 cm

Sachant que les dimensions d'un tiroir dans le congélateur sont :
47 cm x 38 cm x 15 cm (longueur : 41 cm mais le fond du bac est en pente et la porte du bac prend en profondeur, donc on ramène à 38 cm) et qu'il y a 6 tiroirs :

Option 1 : tubes 5 ml + bouchons + portoirs
1 portoir rempli : 20,5 cm x 20,5 cm x 9 cm
On peut mettre 2 portoirs dans un tiroir → comme on a 27 portoirs, il faut **14 tiroirs** !!

Option 2 : tubes 5 ml + bouchons + boîtes
1 boîte pour tubes de 5 ml : 13,6 cm x 13,6 cm x 9,5 cm
On peut mettre 3 boîtes en largeur, 2 boîtes en longueur et 1 boîte en hauteur, soit 6 boîtes dans un tiroir → comme on a 27 boîtes, il faut 4,5 soit **5 tiroirs**.

Option 3 : tubes 3 ml + bouchons + portoirs
1 portoir rempli : 17,5 cm x 17,5 cm x 7 cm
On peut mettre 2 portoirs en largeur, 2 portoirs en longueur et théoriquement 2 portoirs en hauteur, mais ce n'est pas stable !, donc on ne peut mettre que 4 portoirs dans un tiroir → comme on a 27 portoirs, il faut 6,75 soit **7 tiroirs**.

Option 4 : tubes 3 ml + bouchons + boîtes
1 boîte pour tubes de 3 ml : 13,6 cm x 13,6 cm x 5,2 cm
On peut mettre 3 boîtes en largeur, 2 boîtes en longueur et 2 boîtes en hauteur, soit 12 boîtes dans un bac-tiroir → comme on a 27 boîtes, il faut 2,25 soit **3 tiroirs**.

Annexe VII (suite)

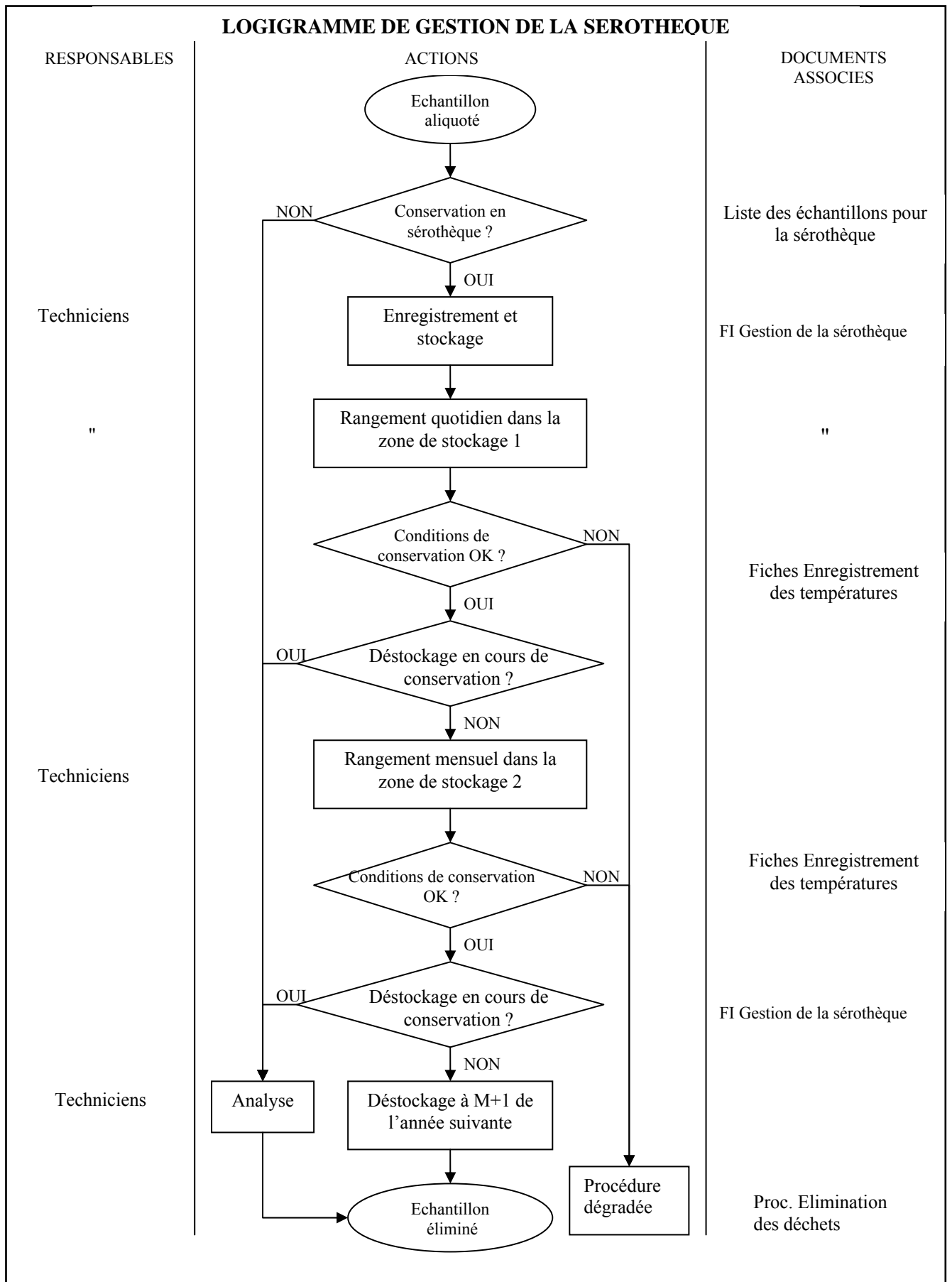
Option 5 : SEROKIT-3

1 boîte SEROKIT-3 : 13,6 cm x 13,6 cm x 7,5 cm

On peut mettre 3 boîtes en largeur, 2 boîtes en longueur et 2 boîtes en hauteur, soit 12 boîtes dans un bac-tiroir → comme on a 27 boîtes, il faut 2,25 soit **3 tiroirs**

Conclusion : l'option 4 et 5 paraissent les plus intéressantes en termes économiques et de volume, la différence de prix n'étant que de 14 € environ.

Annexe VIII



Annexe IX

Schéma de la boîte de cryoconservation et de la feuille quadrillée

ANNEE : 2006

Mois : JUIN

N° : 1

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
10	01007	01010	01011	01016	01021	01036	01045	01048	01052	02003
9	02004	02006	02009	02012	02017	02018	02019	02022	02025	02031
8	02034	02042	03005							
7										
6										
5										
4										
3										
2										
1										