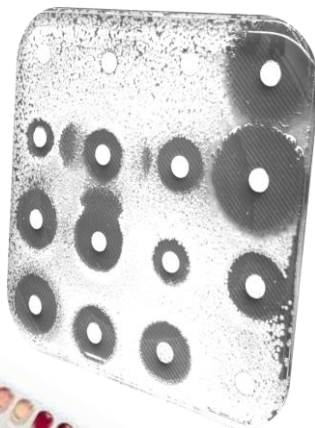
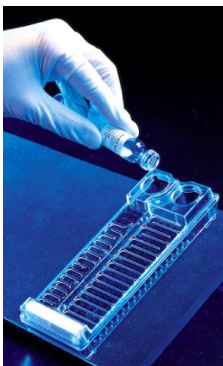


MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE »

MISE EN PLACE DU CONTRÔLE
INTERNE DE LA QUALITE AU
LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE



MENUET Daria
2010-2011

Tuteur du mémoire :
Docteur GROS Isabelle

NOTE AUX LECTEURS :

Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire « Assurance Qualité au Laboratoire 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.

AUTEUR DU MEMOIRE :

MENUET Daria

Technicienne de laboratoire

Laboratoire de Microbiologie-Virologie-Hygiène
Centre Hospitalier de Saint-Denis – Hôpital Delafontaine
2, rue du Dr Delafontaine
93200 Saint-Denis

TUTEUR DU MEMOIRE :

GROS Isabelle

Biologiste médicale

Laboratoire de Microbiologie-Virologie-Hygiène
Centre Hospitalier de Saint-Denis – Hôpital Delafontaine
2, rue du Dr Delafontaine
93200 Saint-Denis



Centre Hospitalier de **Saint-Denis**

REMERCIEMENTS :

Je tiens particulièrement à remercier le Dr Isabelle GROS, tutrice de ce mémoire et membre du groupe de travail « Contrôles Internes de la Qualité en bactériologie », pour ses précieux conseils, son implication et son aide dans la réalisation de ce mémoire ainsi que pour sa disponibilité.

Un grand merci au Dr Chantal CHAPLAIN, chef du service de microbiologie-virologie-hygiène, et à M^{elle} Gaëlle LACOUR, technicienne du laboratoire de microbiologie-virologie-hygiène, membres du groupe de travail « Contrôles Internes de la Qualité en bactériologie », pour leur participation active à la réalisation de ce mémoire. Merci également à M^{me} Edith QUEMERE, cadre du service de bactériologie, pour son aide dans la recherche d'informations relatives aux souches et aux différents réactifs utilisés au sein du laboratoire.

Mes remerciements s'adressent également au Dr Fatima KADDARI, Responsable Assurance Qualité du laboratoire du Centre Hospitalier de Saint-Denis, de m'avoir soutenue dans mes démarches pour participer au Diplôme Universitaire « Assurance Qualité au Laboratoire de Biologie Médicale » (DUAQ), ainsi que pour ses nombreux conseils.

Je voudrais également remercier les responsables du DUAQ, particulièrement le Dr Michel VAUBOURDOLLE, pour m'avoir permis de suivre cet enseignement. Ma gratitude s'adresse également à l'ensemble des participants qui ont dispensé une formation réellement enrichissante qui me sera d'une grande utilité.

Enfin, merci à mes collègues pour leur soutien tout au long de cette année et pour avoir pallié à mes absences du laboratoire lors de ma formation.

SOMMAIRE :

GLOSSAIRE ET ABREVIATIONS	1
1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS DU MEMOIRE	2
2. PRESENTATION.....	3
2.1. PRESENTATION DU CENTRE HOSPITALIER DE SAINT-DENIS.....	3
2.2. PRESENTATION DE LA FEDERATION DES LABORATOIRES	5
2.3. AVANCEMENT DE LA QUALITE A CE JOUR	6
2.4. PRESENTATION DU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE.....	7
3. METHODE.....	8
3.1. PLANIFICATION (PLAN)	9
3.1.1. <i>Objectifs</i>	9
3.1.2. <i>Moyens</i>	9
3.1.3. <i>Etat des lieux</i>	10
3.1.3.1. Le contexte normatif	10
3.1.3.2. Les recommandations des sociétés savantes	11
3.1.3.3. Les recommandations des fournisseurs	12
3.1.3.4. L'existant au Centre Hospitalier de Saint-Denis.....	13
3.2. REALISATION (DO).....	14
3.2.1. <i>Domaine d'application</i>	14
3.2.2. <i>Analyse de risques</i>	16
3.2.2.1. Identification manuelle.....	18
3.2.2.2. Antibiogramme manuel, CMI et BLSE	19
3.2.2.3. Identification et antibiogramme automatisés (Phoenix™100).....	20
3.2.2.4. Milieux de culture.....	20
3.2.2.5. Petits tests	21
3.2.2.6. ECBU et coloration de Gram	22
3.2.3. <i>Choix des souches</i>	22
3.2.4. <i>Choix de la fréquence</i>	25
4. PERSPECTIVES	26
4.1. VERIFICATION (CHECK)	26
4.2. AJUSTEMENT (ACT).....	27
5. CONCLUSION	28
BIBLIOGRAPHIE	30
ANNEXES.....	31

GLOSSAIRE ET ABREVIATIONS

DUAQ : Diplôme Universitaire « Assurance Qualité au Laboratoire de Biologie Médicale »

CHSD : Centre Hospitalier de Saint-Denis

CQ : Contrôle de Qualité

CIQ : Contrôle Interne de la Qualité = procédure réalisée au sein d'un laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction des limites de tolérances préétablies.

PDCA : Plan Do Check Act

MCO : Médecine, Chirurgie et Obstétrique

EHPAD : Etablissement d'Hébergement pour les Personnes Agées hospitalisées Dépendantes

PMI : Protection Maternelle et Infantile

SMUR : Service Mobile d'Urgence

HAS : Haute Autorité de Santé

ETP : Equivalent Temps Plein

EPS : Etablissement Public de Santé

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale

MAQ : Manuel Qualité

RAQ : Responsable Assurance Qualité

RQ : Référent Qualité

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

CNQ : Contrôle National de Qualité

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

IO : Instruction Opératoire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

Rémic : Référentiel en Microbiologie médicale

ONERBA : Observatoire National d'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

BLSE : β -Lactamase à Spectre Etendu

CoI.BVH : Collège de Bactério-Viro-Hygiène

DLU : Date limite d'utilisation

1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS DU MEMOIRE

Le Guide de Bonne Exécution des Analyses^[1] de biologie médicale (GBEA) évoquait déjà - dans le chapitre V. « L'assurance de qualité » - la nécessité de réaliser des contrôles qualité (CQ), notamment les contrôles internes de la qualité (CIQ) qui permettent « de détecter les anomalies et les erreurs de mesure pour y remédier immédiatement ».

La récente réglementation, en rendant l'accréditation selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189^[2] opposable, impose aux laboratoires la mise en place des CIQ afin de s'assurer que « la qualité prévue des résultats est bien obtenue ».

Comme pour les autres secteurs, en bactériologie, le CIQ a un rôle primordial puisqu'il permet d'une part d'uniformiser et donc d'améliorer les pratiques, de vérifier le bon fonctionnement des automates (particulièrement après une maintenance) et la qualité des réactifs utilisés d'autre part mais surtout il permet de contrôler la fiabilité et la reproductibilité des performances du laboratoire^[6].

Actuellement, il n'y a pas (ou très peu) de recommandations concernant les CIQ de bactériologie. De plus, hors des CIQ de l'antibiogramme, ils sont très peu implantés dans les laboratoires de bactériologie.

Ce mémoire a pour but de mettre en place, en conformité avec les exigences normatives, une politique concernant les CIQ au sein du laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier de Saint-Denis (CHSD) sur les analyses les plus fréquentes^[4].

Ce projet va être mis en place en suivant la méthode PDCA (roue de DEMING). Nous allons nous concentrer dans ce document aux deux premières étapes : Plan (la planification) et Do (la réalisation). Les deux autres étapes (Check – la vérification et Act – l'ajustement) seront traitées à l'issue de ce mémoire.

Après une présentation du CHSD, de la fédération des laboratoires, du laboratoire de bactériologie et de l'avancement de la qualité dans cette structure, seront

présentés un état des lieux comprenant le contexte normatif, les recommandations des diverses sociétés savantes, des fournisseurs et de l'existant au CHSD.

Nous résumerons l'analyse de risque faite sur les analyses les plus fréquentes^[4]. De cette analyse découleront le choix des analyses qui seront contrôlées ainsi que le choix des souches bactériennes qui seront utilisées pour les CIQ.

2. PRESENTATION

2.1. Présentation du Centre Hospitalier de Saint-Denis

Le CHSD est un établissement public de santé d'une capacité d'accueil de 750 lits. Son activité d'hospitalisation est assurée sur 2 différents sites :

- L'hôpital Delafontaine, qui propose une activité de Médecine, Chirurgie et Obstétrique (MCO)
- L'hôpital Casanova, qui offre une activité de gériatrie et de médecine physique – réadaptation fonctionnelle.

Le bassin d'attraction de l'établissement est d'environ 300 000 habitants. Pour une moyenne de 20% d'étrangers sur le département, la proportion peut atteindre 50 à 70% dans certains quartiers proches du centre hospitalier. Cette situation fait du CHSD un centre de référence pour la prise en charge des migrants et de leurs pathologies^[3].

En partenariat avec le conseil général, il administre :

- Un établissement d'hébergement pour les personnes âgées hospitalisées dépendantes (EHPAD)
- Un centre de protection maternelle et infantile (PMI)
- Un centre de planification familiale.

Le CHSD est également conventionné avec un centre privé d'hémodialyse.

Les activités de l'établissement sont organisées en pôles^[3] :

- **Administration, département d'information médicale**
- **Technique et logistique**

- **Chirurgie** : chirurgie générale et digestive, orthopédique, ophtalmologique et ORL
- **Femme – Enfant** : centre de périnatalité de niveau III, service de pédiatrie et urgences pédiatriques
- **Gériatrie** : court séjour, soins de suite gériatriques (unité de soins longue durée ou EHPAD)
- **Médecine** : médecine interne, maladies infectieuses et tropicales, gastro-entérologie, diabétologie – endocrinologie – maladies métaboliques, soins palliatifs...) en hôpital de jour ou de semaine ou soins de suite
- **Médico-technique** : imagerie médicale, pharmacie et laboratoires
- **Neurologie – médecine physique et réadaptation fonctionnelle** : l'axe fondateur de ce pôle est la filière neuro-vasculaire
- **Psychiatrie – addictologie** : psychiatrie des enfants et des adultes, plus particulièrement concernant les toxicomanes
- **Urgences – Réanimation – Cardio-pneumologie** : réanimation polyvalente (20 lits), service de cardio-pneumologie, urgences (médicales et chirurgicales) et service mobile d'urgences (SMUR) régulé par le Samu 93.

Le CHSD emploie 1855 personnes dont 249 médicaux et internes en équivalent temps plein (ETP).

Le bilan chiffré de l'activité du CHSD pour l'année 2010 est le suivant :

- Hospitalisation : il y a eu 34 319 entrées (hors psychiatrie), 3 170 accouchements ; la durée moyenne de séjour est de 3,84 jours en MCO
- Activité externe : le CHSD comptabilise 81 097 passages aux Urgences et 77 973 actes de consultation.

Le CHSD a été certifié en 2008 par la Haute Autorité de Santé (HAS) selon les exigences du référentiel V2, pour une durée de 4 ans.

2.2. Présentation de la fédération des laboratoires

Depuis 1999, les laboratoires de biologie médicale sont regroupés en fédération avec pour objectif la gestion et l'organisation de leurs activités partagées (qualité, garde et continuité de service, réception des prélèvements et secrétariat, sous-traitance, informatique, locaux, laverie).

A tour de rôle, les praticiens hospitaliers assurent pour 3 ans la coordination de la fédération.

La fédération des laboratoires du CHSD est composée de différents services, séparés administrativement (**Annexe 1** : Organigramme du LBM) :

- Le laboratoire de **Biochimie-Immunologie**
- Le laboratoire **d'Hématologie**
- Le laboratoire de **Microbiologie-Virologie-Hygiène**
- Le laboratoire d'**Anatomo-cytopathologie**
- Le laboratoire de **Pharmaco-toxicologie** (rattaché à la pharmacie).

Les biologistes et les techniciens sont spécialisés par service. Une astreinte polyvalente est assurée par les biologistes de biochimie, hématologie, microbiologie.

Dans le cadre d'un groupement de coopération sanitaire, les laboratoires réalisent les examens biologiques :

- D'un centre privé d'hémodialyse depuis octobre 2007
- De deux établissements publics de santé (EPS) depuis avril 2010 (EPS Ville-Evrard et EPS Maison Blanche).

L'activité annuelle de l'ensemble des laboratoires pour l'année 2010 s'élève à 35,7 millions de B.

2.3. Avancement de la qualité à ce jour

Après la publication du Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) en 1999, les laboratoires ont connu une dynamique en termes de qualité, avec la rédaction de nombreux documents.

La collaboration en fédération a permis la réalisation d'enquêtes de satisfaction (dernière enquête en mars 2010), la rédaction en 2003 d'un manuel qualité (MAQ) révisé en 2010 et la rédaction d'un guide des examens de biologie médicale.

Faute de responsables qualité désignés, la dynamique s'était essouffée mais depuis la parution de l'ordonnance n° 2010-49 et la participation d'une biologiste du laboratoire de biochimie au diplôme universitaire « Assurance qualité au laboratoire de biologie médicale », l'ensemble du personnel du laboratoire est désormais impliqué dans la démarche qualité, avec pour but l'accréditation des laboratoires.

Une cellule qualité a été créée en juin 2010 (**Annexe 2** : Organigramme de la cellule qualité). Des référents ont été instaurés dans chacun des secteurs. Cette cellule qualité se réunit deux fois par trimestre.

La création de cette cellule qualité a permis de créer la cartographie des processus, de maîtriser le processus de gestion documentaire (création de la base documentaire, rédaction des procédures de maîtrise documentaire et gestion des enregistrements) et de créer différents groupes de travail (gestion des non-conformités...).

Actuellement, plusieurs projets qualité sont en cours de réalisation : gestion des ressources humaines (habilitations, tutorats..), maîtrise des non-conformités, maîtrise des CQ (dans les secteurs autres que la bactériologie)...

Depuis le 31 janvier 2011, nous bénéficions d'un accompagnement qualité (société Alain Cœur Conseil).

2.4. Présentation du laboratoire de bactériologie

Le laboratoire de bactériologie est organisé en différentes paillasses en fonction du type de prélèvement.

Il dispose de différents automates :

- Système BD PhoenixTM100 pour l'identification et l'antibiogramme automatisés
- SirScan[®] 2000 (i2A) pour la lecture des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé ainsi que la validation biologique de tous les antibiogrammes après interprétation par le système expert
- BacT/ALERT[®] 3D, pour l'incubation des flacons d'hémoculture et la détection des flacons positifs.

Les spécificités techniques du laboratoire de microbiologie du CHSD sont :

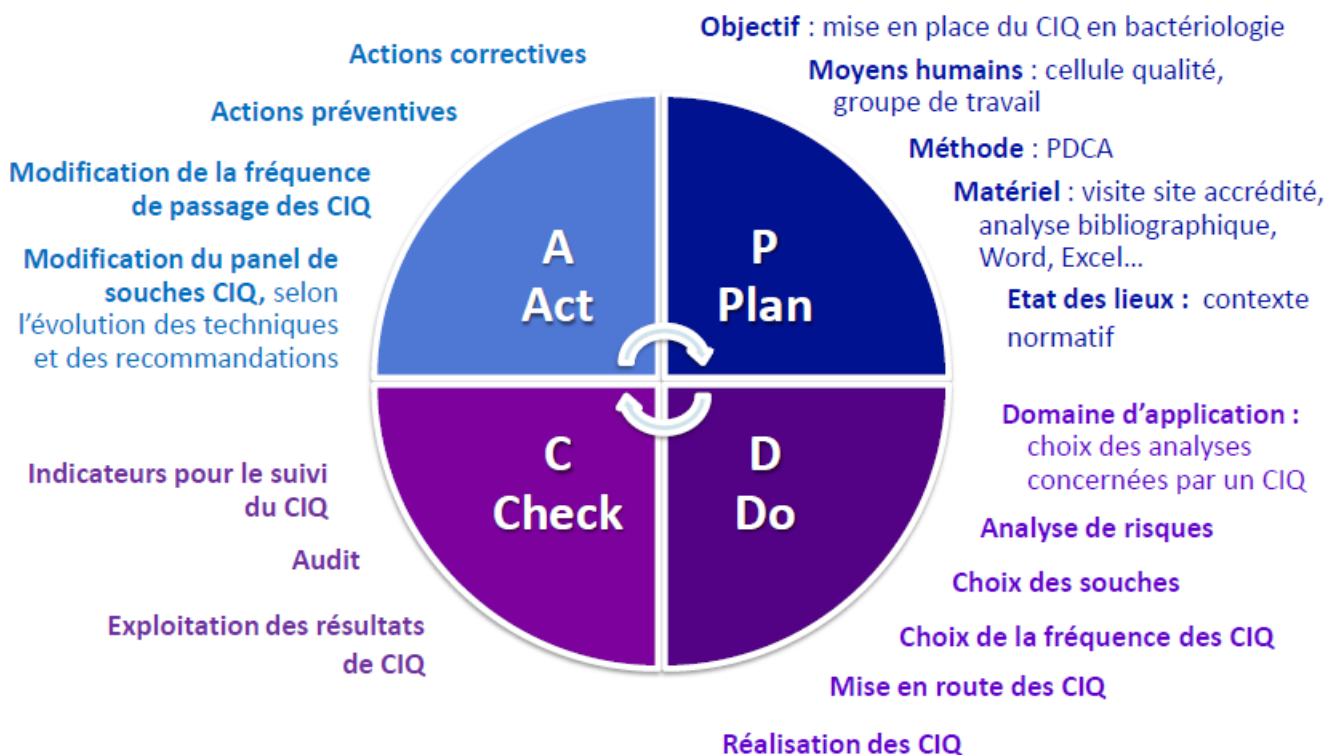
- **Antibiogramme :**
 - Antibiogramme manuel par diffusion en milieu gélosé
 - Antibiogramme automatisé (PhoenixTM100)
- **Identification bactérienne :**
 - Identification manuelle (galeries miniaturisées Api bioMérieux[®]) :
 - Api 20E[®] : identification des bacilles Gram négatif
 - Api 20NE[®] : identification des bacilles Gram négatif non Entérobactéries
 - Api NH[®] : identification des bactéries du genre *Neisseria* et *Haemophilus*
 - Api Coryné[®] : identification des corynébactéries et bactéries corynéformes
 - Api 20 Strep[®] : identification des Streptocoques
 - Rapid ID 32 A[®] : identification des germes anaérobies
 - Identification (et antibiogramme) automatisés (PhoenixTM100) :
 - UNMIC/ID : utilisé pour l'antibiogramme et l'identification des bacilles Gram négatif type entérobactérie isolés de prélèvements urinaires

- UNMIC : utilisé pour l'antibiogramme seul des bacilles Gram négatif type entérobactérie isolés de prélèvements urinaires
 - NMIC/ID : utilisé pour l'antibiogramme et l'identification des bacilles Gram négatif type entérobactérie
 - NID : identification seule des bacilles Gram négatif
 - PMIC : antibiogramme des Staphylocoques
 - PID : identification seule des germes Gram positif
- **Cytologie urinaire** : comptage manuel
 - **Colorations** : la coloration de Gram et la coloration rapide pour formule leucocytaire ne sont pas automatisées.

En 2010, le laboratoire de bactériologie a comptabilisé 49 979 actes soit 4 749 340 B (sans prendre en compte l'activité d'hygiène hospitalière).

3. METHODE

La mise en place des CIQ en bactériologie va être réalisée selon les étapes de la méthode PDCA, suivant le plan ci-dessous.



3.1. Planification (Plan)

3.1.1. Objectifs

L'objectif de ce mémoire est la mise en place du CIQ sur les analyses les plus fréquentes en bactériologie^[4].

3.1.2. Moyens

Ce travail a commencé par la création du groupe de travail « CIQ en bactériologie », composé des 2 biologistes du laboratoire de bactériologie (les Dr Chantal CHAPLAIN et Isabelle GROS) et de 2 techniciennes de laboratoire (M^{elle} Gaëlle LACOUR et moi-même).

La participation du Dr GROS à la journée du Collège de Bactério-Viro-Hygiène (Col.BVH), le 28 janvier 2011 à Lyon (à Hôpital Saint-Joseph Saint-Luc) nous a permis de prendre connaissance de diverses informations relatives à l'accréditation des laboratoires dans le domaine de la microbiologie.

Le 6 juin 2011, Isabelle GROS et moi-même avons visité un laboratoire accrédité pour les analyses de microbiologie : le laboratoire d'analyses médicales du Dr Mouloud HAMMAD à Tourcoing. Le Dr HAMMAD, médecin biologiste, est auditeur Co-frac (qualiticien et technique, notamment dans les programmes de bactériologie) et RAQ d'une SEL de 4 laboratoires, accrédités selon la norme NF EN ISO 15189 depuis 2007 (2 laboratoires) et 2010 (2 autres laboratoires).

Nous avons pu observer l'organisation de ce laboratoire, la façon dont ils gèrent leurs CIQ.

Une revue bibliographique et l'étude des documents normatifs nous a permis de faire un état des lieux et de nous informer des exigences normatives relatives aux CIQ de bactériologie.

3.1.3. Etat des lieux

Aujourd'hui, les recommandations relatives aux CIQ sont encore très hétérogènes (selon les divers documents normatifs, sociétés savantes et les fournisseurs) aussi bien concernant le nombre de souches à tester, que les analyses, les espèces bactériennes, leur phénotype de résistance, leur fréquence de passage...

En bactériologie, on peut distinguer plusieurs types d'analyses :

- Les analyses de type **quantitatif vrai**, fournissant un résultat chiffré sur une échelle continue de mesure dont les limites hautes et basses sont connues (CMI...)
- Les analyses de type **qualitatif**, pour lesquelles on répond généralement par « présence » ou « absence » (recherche BLSE,...)
- Les analyses **assimilables à des analyses de type quantitatif**, fournissant un résultat qualitatif, extrapolé à partir de données quantifiables (antibiogramme : S, I, R...).

3.1.3.1. Le contexte normatif

La norme NF EN ISO 15189 (2007 :10) insiste au chapitre 5.6.1. sur l'obligation de « concevoir des systèmes de contrôle interne de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est obtenue »^[2].

Le document LAB GTA 06^[4] publié par le COFRAC définit (chapitre 8.2) le CIQ comme une « procédure réalisée au sein du laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction des limites de tolérance préétablies ».

De plus, il stipule qu'actuellement, le CIQ est « limité aux analyses fréquentes de Bactériologie *stricto sensu* ».

Ce document recommande également le passage de différentes souches bactériennes (**Tableau 1**), mais reste toutefois assez imprécis quant à ses recommandations concernant la fréquence de passage puisqu'il indique qu'une « fréquence bi-

mensuelle semble un objectif raisonnable » mais aussi que la « périodicité recommandée des contrôles en Bactériologie est variable selon les différents auteurs et divers documents utilisés » (entre hebdomadaire et mensuelle).

	LAB GTA 06
<i>Staphylococcus aureus</i>	CIP 76.25
<i>Enterococcus faecalis</i>	CIP 103214 (=ATCC 29212)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619
<i>Escherichia coli</i>	CIP 76.24 (=ATCC 25922)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CIP 76.110 (=ATCC 27853)

Tableau 1 : Souches recommandées par le LAB GTA 06

3.1.3.2. Les recommandations des sociétés savantes

- Le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Dans ses recommandations 2011, le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) ^[5] précise qu'un « contrôle de qualité interne doit être organisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus » en proposant cinq souches à tester.

	CA-SFM
<i>Staphylococcus aureus</i>	CIP 76.25
<i>Escherichia coli</i>	CIP 76.24 (=ATCC 25922)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CIP 76.110 (=ATCC 27853)
<i>Providencia stuartii</i>	CIP 107808
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CIP 104485

Tableau 2 : Souches recommandées par le CA-SFM

- Le Référentiel en Microbiologie médicale

Le Référentiel en Microbiologie médicale (Rémic) considère que les CIQ constituent un moyen de « vérifier la fiabilité et la reproductibilité des performances du laboratoire »^[6].

Il recommande d'effectuer le contrôle des milieux de cultures (tests de stérilité et de fertilité), des galeries d'identification et des antibiogrammes.

Les souches recommandées sont celles préconisées par le CA-SFM.

Concernant les techniques manuelles (coloration, lecture de frottis, comptage de cellules...) il est précisé que les CIQ seront « couplés aux évaluations des compétences des opérateurs »^[6].

- Observatoire National d'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

Dans ses Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de microbiologie^[7] de 2001, l'Observatoire National d'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) préconise également l'utilisation des souches recommandées par le CA-SFM.

3.1.3.3. Les recommandations des fournisseurs

Nous avons listé les souches bactériennes recommandées par les fournisseurs pour l'ensemble des matériaux utilisés au laboratoire du CHSD pour lesquels un CIQ est recommandé (**Annexe 3.a, 3.b, 3.c** : Liste des souches bactériennes recommandées).

Au total, 60 souches bactériennes de référence différentes sont recommandées et permettraient d'effectuer 118 CIQ différents.

En ajoutant les souches recommandées par le CA-SFM^[5] et le LAB GTA 06^[4], nous obtenons 62 souches distinctes et un total de 128 CIQ à effectuer.

3.1.3.4. L'existant au Centre Hospitalier de Saint-Denis

Actuellement, c'est le technicien en poste à la paillasse « Urines et ponctions » qui effectue les CIQ (un technicien différent tous les mois).

La politique concernant les CIQ au laboratoire de bactériologie du CHSD a été établie en 2000 par la rédaction d'une instruction opératoire (IO) intitulée « Procédure du contrôle de qualité des antibiogrammes », qui a été révisée 4 fois depuis sa création (dernière révision le 30 juillet 2009).

Une fois par mois sont testées 4 souches bactériennes pour les antibiogrammes :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 :
 - Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé
 - Antibiogramme automatisé :
 - UNMIC
 - NMIC/ID
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 :
 - Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé uniquement
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 :
 - Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé uniquement
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé
 - Antibiogramme automatisé :
 - PMIC.

Il s'agit des souches bactériennes recommandées par le fournisseur de nos galeries d'identification et d'antibiogramme automatisés (BD PhoenixTM100).

Toutefois, ces souches ne sont testées que pour un nombre limité de galeries d'antibiogrammes automatisés.

3.2. Réalisation (Do)

3.2.1. Domaine d'application

Selon le guide LAB GTA 06^[4], le « contrôle de qualité développé concernera d'abord en Bactériologie des analyses pour lesquelles des travaux ont été faits et publiés avec des recommandations consensuelles et présentant une facilité de mise en œuvre, comme l'identification des espèces microbiennes et l'antibiogramme. [...] Au sens de la définition des contrôles [...], il s'agit d'un CIQ actuellement limité aux analyses fréquentes de Bactériologie *stricto sensu*, comme en particulier :

- la réalisation des **cytologies urinaires** dans le cadre des ECBU,
- les **identifications bactériennes** en méthodes classiques ou automatisées,
- les **techniques d'antibiogramme** et les **examens assimilés** (CMI). »

Le tableau ci-dessous présente un récapitulatif des différentes recommandations des sociétés savantes, du Dr B. CHEVALIER^[9] (présentation orale, lors de la journée du Col.BVH à Lyon) et du Dr M. HAMMAD :

	Antibiogrammes et CMI	Galleries d'identification	Milieux de cul- ture	Cytologies urinaires	Petits tests	Automate hé- mocultures
CA-SFM	✓
Cofrac	✓	✓	—	✓	—	—
Rémic	✓	✓	✓	✓	✓	—
B. CHEVALIER Hôpital Desgenettes	✓	✓	✓	✓	✓	—
M. HAMMAD Laboratoires Biocentre	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Tableau 3 : Récapitulatif des CIQ recommandés par les sociétés savantes et le laboratoire accrédité

Face à ce récapitulatif, nous avons décidé de nous intéresser aux analyses pour lesquelles un CIQ est souvent recommandé :

- Identifications bactériennes :
 - manuelles (galeries Api[®] les plus fréquemment utilisées)
 - automatisées
- Antibiogrammes :
 - manuels (de sorte à ce que chaque type d'antibiogramme soit testé)
 - automatisés
- Cytologies urinaires
- Petits tests
- Milieux de culture.

La décision de ne pas mettre en place de CIQ pour le BacT/ALERT[®] 3D a été prise dans la mesure où aucune société savante ne le recommande (seul le laboratoire accrédité effectue ce CIQ). Cette décision sera revue dans un second temps selon l'évolution des recommandations.

Il nous paraît important de définir nos propres besoins, exigences et matériaux en fonction de notre activité, du recrutement de nos patients, des techniques employées au laboratoire, en partant des facteurs pouvant intervenir sur les résultats d'analyses (les 5M).

3.2.2. Analyse de risques

Nous avons essayé de déterminer les facteurs pouvant intervenir sur la qualité des résultats, en se limitant aux analyses fréquentes^[4], recommandées ou contrôlées dans notre état des lieux, en utilisant la méthode des 5M.

Cette méthode peut être utilisée pour identifier les causes potentielles d'un problème et sélectionner celles qui feront l'objet d'une analyse poussée afin de trouver des solutions.

Le tableau ci-après présente, pour chacune des analyses effectuées au laboratoire, une analyse des différents risques pouvant influencer sur la qualité des résultats en précisant de quel domaine il dépend (Main d'œuvre, Matériel, Méthode...).

		Analyse des risques				
		Matériel	Méthode	Main d'œuvre	Matière	Milieu
Identification manuelle	Réactifs ZymA, ZymB et FB sensibles à la lumière et peu stables après reconstitution	.	.	X	X	X
	Conservation des galeries Api [®] et respect de la date de péremption	.	.	.	X	X
	Certains caractères (décarboxylases, urée) parfois critiques	.	.	X	X	X
	Inoculum à standardiser	.	X	X	X	.
	Culture pure et jeune	.	.	X	X	.
Antibiogramme manuel, CMI, BLSE...	Conservation et respect de la péremption des géloses	.	.	X	X	X
	Culture pure et jeune	.	.	X	X	.
	Inoculum standardisé	.	.	X	X	.
	Conservation, charge et respect de la péremption des antibiotiques (disques et bandelettes E-test [®])	.	.	X	X	X
	Lecture de l'antibiogramme sur le SirScan [®] 2000	X	.	X	.	.
	Lecture visuelle des CMI	.	.	X	.	.
Identification et antibiogramme automatisés	Conservation et respect de la péremption des galeries	.	.	X	X	X
	Conservation du réactif AST Indicator Solution [™] et respect de la péremption après ouverture	.	.	X	X	X
	Bon fonctionnement de l'automate	X	.	X	.	.
	Inoculum standardisé	X	.	X	X	.
	Bon volume distribué par les pipettes	X	.	X	.	.
	Culture pure et jeune	.	.	X	X	.
Milieus de culture	Stérilité et fertilité des milieux	.	.	.	X	X
	Conservation des géloses	.	.	.	X	X
Petits tests	Conservation adéquate et bonne utilisation des disques d'oxydase	.	X	X	.	X
	Conservation et utilisation adéquate des disques de céfinase	.	X	X	.	X
	Gram	.	X	X	X	.
	ECBU	.	X	X	.	X
	Pastorex Staph Plus [®] (agglutination <i>S. aureus</i>)	.	.	X	.	X
	Catalase	.	.	X	X	X
	Slidex Strepto Kit [®] (groupage Streptocoques)	.	.	X	X	X

Tableau 4 : Analyse des risques

3.2.2.1. Identification manuelle

Le contrôle des galeries est sous la responsabilité des fournisseurs (qui nous fournissent des certificats). De plus, le transport de ces galeries s'effectue par un transporteur agréé et un contrôle visuel des colis à réception est réalisé. Un contrôle de la température des enceintes de stockage est réalisé quotidiennement.

En revanche, il nous semble important de contrôler la **stabilité de réactifs critiques** tels que ZymA, ZymB et FB pour lesquels on observe fréquemment une dégradation quelques jours après leur ouverture (ce qui compromet la qualité des résultats) et des **galeries comprenant des cupules critiques** (urée, décarboxylases...) :

- Galerie Api 20E[®], pour vérifier la sensibilité des cupules d'urée et des décarboxylases
- Galerie Api 20 Strep[®], qui permettra de vérifier la bonne conservation des réactifs ZymA et ZymB
- Galerie Api Rapid ID 32 A[®], qui permettra de vérifier la bonne conservation du réactif FB.

D'autres galeries (Api NH[®], Api Coryné[®]...) utilisent les réactifs ZymA et ZymB, mais n'ayant pas observé de problèmes d'identification pour celles-ci et les réactifs à risque étant testés avec la galerie Api 20 Strep[®], il nous semble inutile de les tester.

Le choix des souches devra être fait de sorte que le plus grand nombre de caractères utilisant les réactifs à risque ou de cupules fragiles soit testé.

En plus de ces CIQ, une surveillance visuelle des réactifs ZymB et FB sera mise en place car comme le précise le fournisseur, une altération de la couleur (qui passe de orangé à brunâtre) indique une dégradation du réactif.

La date limite d'utilisation (DLU), 4 semaines après ouverture, doit être inscrite directement sur le flacon.

Pour chaque identification, un réisolement devra être effectué systématiquement en parallèle afin de s'assurer de la pureté de la souche bactérienne.

3.2.2.2. Antibiogramme manuel, CMI et BLSE

Pour l'antibiogramme en méthode manuelle, plusieurs risques sont recensés, notamment l'absence de traçabilité des lots et des changements de cartouches d'antibiotiques, et l'inoculum, réalisé sans néphélomètre, qui n'est pas standardisé (s'appuie sur l'expérience).

Nous disposons de 4 types de distributeurs pour chaque type de bactérie : Entérobactéries, bacilles à Gram négatif non fermentant, Staphylocoques, Streptocoques et Neisseria-Hémophiles-Anaérobies-Campylobacter.

Les cartouches d'antibiotiques, une fois placées dans les distributeurs, ne sont stables que 6 semaines (sauf exception). Nous décidons de changer toutes les cartouches d'un même distributeur le même jour et de noter la date du changement sur le distributeur. Une feuille de traçabilité devra également être remplie, comprenant les informations précédentes ainsi que l'émargement du technicien opérateur.

Concernant les CMI par la technique du E-test[®], le premier risque identifié est la dégradation du gradient de concentration en antibiotiques lors des manipulations successives par les opérateurs (multiples congélations, décongélations...). Le second risque identifié est la lecture de la CMI.

Un CIQ sera donc nécessaire afin de vérifier la stabilité de ces bandelettes et une double lecture sera effectuée, comme pour les patients.

La mise en place de néphélomètre à chaque paillasse pour la réalisation des identifications et des antibiogrammes en méthode manuelle est une priorité pour le laboratoire.

Les antibiogrammes effectués en milieu gélosé sont lus par la caméra du SirScan[®] 2000 afin de valider le réglage de l'appareil et la capacité du technicien à valider la lecture.

Pour s'assurer de la pureté des antibiogrammes (et méthodes assimilées), des réisolements seront réalisés systématiquement en parallèle.

3.2.2.3. Identification et antibiogramme automatisés (Phoenix™100)

Le principal risque recensé ici est un réactif critique (AST Indicator Solution™). En effet, il doit être utilisé dans les 2 semaines qui suivent l'ouverture et être remis dans les plus brefs délais à +4°C après chaque manipulation. Il est donc indispensable, comme nous le faisons actuellement, d'inscrire la DLU directement sur le flacon.

Etant équipés d'un néphélomètre pour les identifications et antibiogrammes en méthode automatisée, la densité de l'inoculum est maîtrisée.

Chaque galerie devra faire l'objet d'un CIQ : nous contrôlerons ainsi la méthode, le réactif critique ainsi que le couple galerie-automate.

Pour s'assurer de la pureté des identifications et des antibiogrammes, un réisolement sera effectué systématiquement.

3.2.2.4. Milieux de culture

En ce qui concerne les milieux de culture, les certificats des fournisseurs nous assurent de la qualité des milieux.

Cependant, nous avons été amenés à constater que certaines géloses sélectives sont parfois trop inhibitrices, notamment les géloses EMB (Eosine Bleu de Méthylène) sélectives des entérobactéries et Hektoen (HEK) permettant la détection des Salmonelles et Shigelles : une croissance difficile des germes sélectionnés a en effet déjà été observée.

Il nous paraît donc intéressant de mettre en place un CIQ pour ces 2 milieux de culture, qui sont utilisés au quotidien (1 600 coprocultures réalisées et 14 620 géloses EMB commandés chaque année).

Seul un contrôle de fertilité sera mis en place, car les défauts de stérilité des géloses (contaminations) surviennent de manière ponctuelle et sont exceptionnels. De plus, ils sont généralement liés à une contamination de l'eau de condensation.

Pour les géloses Mueller Hinton, utilisées pour les antibiogrammes, les certificats des fournisseurs suffisent à prouver leur qualité. Les contrôles de la fertilité et de stérilité ne seront donc pas instaurés pour ces géloses.

3.2.2.5. *Petits tests*

Bien qu'utilisés au quotidien, ils ne font actuellement l'objet d'aucun contrôle. Nous allons tenter de déterminer pour quels tests instaurer un CIQ :

- **Pastorex Staph Plus**[®] (latex pour agglutination des *Staphylococcus aureus*) : nous contrôlerons le bon fonctionnement et la bonne utilisation du réactif et de vérifier les bonnes conditions de conservation au sein du laboratoire
- **Slidex Strepto Plus**[®] (test de groupage des Streptocoques) : seuls les contrôles internes du coffret seront effectués
- **Oxydase** : les problèmes observés sont liés à la manipulation (un disque trop humidifié peut conduire à un résultat faussement négatif) et aux conditions de conservation, c'est pourquoi un CIQ sera mis en place
- **Céfinase** : bien qu'aucun risque n'ait été identifié à présent, il nous semble nécessaire de contrôler l'absence de dégradation de ce réactif en instaurant un CIQ
- **Hippurate** : ce test est très rarement utilisé (identification des *Campylobacter*) et n'ayant jamais constaté de problème particulier, un CIQ ne nous semble pas indispensable
- **Catalase** : les problèmes observés sur ce test peuvent être liés au manipulateur ou à la dégradation du réactif. Un contrôle positif et un contrôle négatif seront réalisés avec des souches isolées sur Gélose au sang frais (risque de faux positifs).

3.2.2.6. ECBU et coloration de Gram

L'**ECBU** au laboratoire de bactériologie du CHSD n'étant pas automatisé, le résultat du comptage des éléments dépend entièrement de l'opérateur.

Des difficultés se posent quant au choix d'un CIQ. Les recherches que nous avons menées se sont avérées infructueuses : en effet, les seuls CIQ commercialisés sont destinés aux automates et sont des solutions turbides ne comportant pas d'éléments cellulaires. Il est donc impossible d'utiliser ces contrôles dans le cadre de l'ECBU non automatisé.

Nous allons donc procéder à un comptage en double et en aveugle d'un certain nombre d'urines^[4,8], toutes placées dans la même cellule de comptage afin de limiter les erreurs aléatoires liées à l'échantillonnage.

Les **colorations de Gram** sont également réalisées de façon manuelle, sous forme de petites séries. Nous n'avons établi aucun risque quant aux colorants utilisés.

Le CIQ sera mis en place lorsque le laboratoire sera pourvu d'un colorateur automatique, ce que nous considérons comme une priorité.

3.2.3. Choix des souches

Comme nous l'avons vu précédemment (chapitre 3.1.3.3), si nous voulions satisfaire à l'ensemble des recommandations des fournisseurs et des sociétés savantes, nous devrions utiliser 62 souches différentes pour effectuer 128 CIQ.

Bien que le prix total d'achat de ces souches semble acceptable à l'échelle du laboratoire (**Annexe 3.c** : Listing des souches recommandées), la surcharge de travail engendrée serait bien trop importante et équivaldrait à faire de la sur-qualité, ce qui se ferait au détriment des analyses de patients.

C'est pourquoi nous avons décidé de restreindre le nombre de souches bactériennes à tester, au vu de la recherche des risques effectuée dans le chapitre précédent.

Nous testerons toutes les souches recommandées par le CA-SFM, ainsi que quelques souches supplémentaires, choisies en fonction de notre activité, du recrutement de nos patients et du contexte épidémiologique actuel^[4].

Nous avons tenu compte des recommandations du Cofrac en choisissant d'inclure à la liste des souches pour le CIQ de bactériologie des souches présentant des phénotypes de résistance naturelle (*P. stuartii* recommandée par le CA-SFM) et acquise (Entérobactérie productrice de BLSE, *S. aureus* résistant à la métililine...)^[4,8].

Cela permettra de vérifier la capacité du laboratoire à détecter les mécanismes de résistance, ce qui est primordial au CHSD puisque l'hôpital dispose d'un service de réanimation et de soins de suites gériatriques, services dans lesquels les patients sont soumis à une forte pression antibiotique et où le risque d'épidémie est élevé.

Pour la majorité des souches (notamment celles concernant le CIQ de l'antibiogramme) seront utilisées des souches de collection. En revanche, comme nous l'autorise le LAB GTA 06^[4], nous serons amenés à utiliser également des « souches cliniques, différentes des souches de référence et correspondant à des souches isolées en pathologie infectieuse, bien identifiées ».

Il s'agira de souches identifiées partiellement au laboratoire du CHSD et transmises à un laboratoire de référence qui aura effectué l'identification complète de la souche bactérienne.

Le choix des souches bactériennes que nous avons décidé d'ajouter à celles recommandées par le CA-SFM a été fait de sorte à ce qu'un maximum de tests « critiques » (urée et décarboxylases pour la galerie Api 20E[®], cupules où interviennent les réactifs ZymA, ZymB pour les autres galeries Api[®]) soient contrôlés.

Le tableau ci-après recense pour chaque analyse les souches bactériennes qui seront utilisées pour la réalisation du CIQ.

		IDENTIFICATION						ANTIBIOGRAMME						PETITS TESTS					
		EMB	HEK	Api 20 E®	Api 20 Strep®	Api Rapid ID 32 A®	PID	NID	ATB manuel	CMI (E-test)	UNMIC	UNMIC/ID	NMIC/ID	PMIC	Neosensitabs BLSE	Oxydase	Catalase	Pastorex Staph plus	Céfinase
1	<i>Staphylococcus aureus</i> méti S CIP 76.25						√		√					√			√	√	
2	<i>Staphylococcus aureus</i> méti R ATCC 43300								√					√				√	√
3	<i>Streptococcus pneumo-</i> <i>niae</i> CIP 104485								√	√							√		
4	<i>Streptococcus equi</i> ATCC 700400				√		√												
5	<i>Escherichia coli</i> CIP 76.24	√							√		√	√	√						
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 76.110						√	√							√				
7	<i>Providencia stuartii</i> CIP 107808								√		√	√	√						
8	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659			√			√												
9	<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE ATCC 700603								√		√	√	√	√					
10	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285					√			√										
11	<i>Salmonella typhi</i> murium souche locale contrôlée par centre de référence		√																

Tableau 4 : Souches utilisées pour le CIQ en bactériologie

Cela représente au total une collection de 11 souches, permettant la réalisation de 36 CIQ :

- 8 antibiogrammes en méthode manuelle, 1 CMI et 1 BLSE
- 3 identifications en méthode manuelle
- 2 contrôles de fertilité de géloses sélectives
- 4 identifications en méthode automatique
- 11 antibiogrammes en méthode automatique

- 6 petits tests.

Une instruction opératoire sur la conservation et l'utilisation des souches de CIQ sera rédigée. Chacune de ces souches sera aliquotée et conservée à une température de -80°C en Cryobilles®.

A chaque réalisation de CIQ, les Cryobilles® seront transportées jusqu'au poste de travail dans de la glace, afin d'assurer une bonne conservation des bactéries le temps de la manipulation. Une Cryobille® de chaque souche de référence sera réisolée la veille de la réalisation des CIQ sur un milieu de culture non sélectif, adapté au type de germe (gélose Trypticase-Soja ou gélose Columbia au sang frais).

3.2.4. Choix de la fréquence

Aucune recommandation précise de la fréquence de passage des CIQ ne ressort des exigences normatives et de la bibliographie.

En effet, selon la littérature, la fréquence peut varier d'hebdomadaire à mensuelle^[4,6,8] et selon les exigences normatives, elle doit être au moins mensuelle.

Le choix de la fréquence du CIQ reste du ressort du biologiste^[4] et intègre la notion de série.

La fréquence choisie par le laboratoire du Dr M. HAMMAD (laboratoire accrédité) est mensuelle et à chaque changement de lot.

Compte-tenu de nos séries (15 à 20 antibiogrammes par jour en moyenne) et de notre activité, une fréquence hebdomadaire nous semble trop difficile à absorber en termes de surcharge de travail au vu du nombre d'analyses supplémentaires engendrées par les CIQ (36 analyses).

Nous allons donc commencer par passer l'ensemble des CIQ à une fréquence bimensuelle, qui nous semble être le meilleur compromis dans un premier temps.

De plus, des CIQ pourront être réalisés de manière ponctuelle à chaque changement de lots ainsi qu'après maintenance ou réparation de panne sur un automate.

4. PERSPECTIVES

4.1. Vérification (Check)

- CIQ de l'antibiogramme :

Nous effectuerons un contrôle d'exactitude en étudiant la conformité des résultats de l'antibiogramme. Pour cela, nous allons comparer les diamètres (ou CMI) obtenus avec les souches de référence choisies avec les limites acceptables de variation des diamètres des zones d'inhibition (ou CMI) données par le CA-SFM.

Après 25 mesures, nous calculerons les valeurs moyennes, écart-types et coefficients de variation, et pourrons alors définir nos propres valeurs interprétatives^[9,11].

Un contrôle intermédiaire de fidélité et de justesse pourra être réalisé à l'aide de graphes de type de LEVEY-JENNINGS, qui seront établis pour chacun des antibiotiques testés. Ces graphes seront générés automatiquement sur notre SirScan[®] 2000.

- CIQ de l'ECBU :

Ceux-ci seront couplés à l'habilitation du personnel^[6]. Un comptage en double et en aveugle de 10 échantillons d'urine sera effectué. Le coefficient de variation toléré sera celui établi par le Dr B. CHEVALIER^[9] (tableau ci-après).

Paramètres	Moyenne	Tolérance admise
Hématies - Leucocytes	< 10 ⁴ /mL	+/- 20%
	10 ⁴ à 10 ⁵ /mL	+/- 20%
	> 10 ⁵ /mL	+/- 30%

Tableau 5 : Tolérance admise pour le comptage des ECBU

Pour les cellules, cylindres et cristaux, les résultats seront comparés à ceux du technicien référent (ou du biologiste). Un écart en dehors de la tolérance admise entraînera la création d'une fiche de non-conformité et d'une action corrective.

Nous envisageons de mettre en place des indicateurs pour le suivi des CIQ de bactériologie :

- Taux de CIQ non conformes
- Nombre de CIQ effectués chaque année
- etc...

De plus, un audit sera effectué chaque année.

4.2. Ajustement (Act)

Le panel des souches pour les CIQ sera révisé chaque année, en même temps que l'instruction opératoire « Réalisation du CIQ en bactériologie ». Il sera revu en fonction de l'évolution des techniques et du contexte épidémiologique (en particulier en cas d'épidémies : Entérocoques résistants à la Vancomycine, KPC...).

Après une période de 12 mois, les CIQ seront analysés en termes de reproductibilité, comme le suggèrent JONES^[8] et ISEMBERG^[10]. La fréquence sera alors réévaluée.

5. CONCLUSION

Actuellement, il y a peu de CIQ en bactériologie car cette spécialité travaille sur du matériel vivant, qui est par définition difficile à standardiser. D'autre part, elle était jusqu'à présent peu automatisée.

Certaines analyses sont malgré tout assimilables à des analyses quantitatives et les automates, qui font désormais partie du paysage de la microbiologie, sont de plus en plus présents.

L'absence de réflexion sur le sujet au sein des sociétés savantes amène au constat que nous avons fait au chapitre 3.1.3.3 : si nous devons nous référer uniquement aux recommandations des fournisseurs, le bilan serait de 60 souches de référence à passer pour la réalisation de 118 CIQ (62 souches pour 128 CIQ si l'on inclut les recommandations du CA-SFM et du LAB GTA 06).

Ce nombre est irréalisable en pratique, nos ressources humaines étant insuffisantes au jour d'aujourd'hui (équipes de plus en plus restreintes et activités toujours plus nombreuses et diversifiées).

Notre analyse nous a permis de sélectionner 11 souches bactériennes qui nous permettront de réaliser un total de 36 CIQ (antibiogrammes, identifications et petits tests) à une fréquence bi-mensuelle et à chaque changement de lot, ce qui est un bilan proche de celui du laboratoire accrédité que nous avons visité qui dispose de 8 souches pour un total de 39 CIQ à une fréquence mensuelle et à chaque changement de lot.

La réalisation des CIQ lors des changements de lots sera plus aisée après acquisition d'un logiciel de gestion des stocks, qui nous semble indispensable compte tenu de la diversité des lots à gérer (chaque type de cartouche d'antibiotique, de géloses, de galeries d'identification, de petits tests).

Notre travail se poursuivra selon le calendrier suivant :

- Octobre 2011 : présentation du mémoire à l'ensemble du personnel du laboratoire de bactériologie
- Novembre 2011 : commande des souches de référence et rédactions des IO nécessaires. Nous avons déjà créé le logigramme de la réalisa-

tion des CIQ de l'antibiogramme (**Annexe 4** : Logigramme du CIQ de l'antibiogramme), qui sera intégré dans l'instruction opératoire « Réalisation des CIQ en bactériologie »

- Décembre 2011 : prise en connaissance des IO par l'ensemble des techniciens du laboratoire de bactériologie et formations
- Janvier 2012 : mise en route des CIQ au laboratoire de bactériologie.

Des indicateurs (taux de CIQ conformes, nombre de CIQ réalisés chaque année...) seront mis en place pour assurer le suivi des CIQ et un audit sera effectué après 1 an.

Ce travail présente certaines limites, puisqu'il ne rend pas compte de la faisabilité de la mise en place du CIQ au sein du laboratoire de bactériologie : un bilan à court terme (3 mois après la mise en route) sera nécessaire afin de vérifier que la surcharge de travail engendrée par les CIQ s'intègre convenablement à notre activité.

La nécessité de réorganiser nos activités s'impose, comme celle de ne plus considérer la qualité comme optionnelle mais de l'intégrer dans le fonctionnement du laboratoire en la considérant comme une activité à part entière avec un budget et des moyens.

BIBLIOGRAPHIE

[1] : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA), arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale (Journal officiel du 11 décembre 1999) modifié par arrêté du 26 avril 2002 (Journal officiel du 4 mai 2002)

[2] : Norme NF EN ISO 15189 (2007 :10) ; AFNOR

[3] : Site internet du Centre Hospitalier de Saint-Denis ; <http://www.ch-stdenis.fr/>

[4] : LAB GTA 06 « Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale » Révision 00 – Juillet 2005

[5] : Recommandations 2011 – Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM)

[6] : Référentiel en Microbiologie médicale (Rémic) – 4^{ème} édition 2010 ; par le groupe REMIC de la Société Française de Microbiologie

[7] : Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de microbiologie – ONERBA 2001

[8] : JONES RN, *Antimicrobial susceptibility testing (AST) : a review of changing trends, quality control guidelines, test accuracy, and recommendation for the testing of beta-lactam drugs*, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1983 Mar;1(1):1-24

[9] : CHEVALIER B., *Contrôles de qualité en bactério (CQI, CQE, CIL)*, Congrès Lyon Col.BVH du 28 janvier 2011 « Au secours ! J'accrédite ma bactério !! »

[10] : ISEMBERG HD, *Disk Diffusion Susceptibility testing, Quality Control in Clinical Microbiology Procedures Handbook*, ASM Press, Washington DC Suppl., [s.d], Chap 5.1.10 – 5.1.12

[11] : HONDERLICK P., *Practical application of an internal quality control using SirScan 2000 automatic system for antibiotic susceptibility tests*, dec. 2004, RICAI congrès Paris

ANNEXES

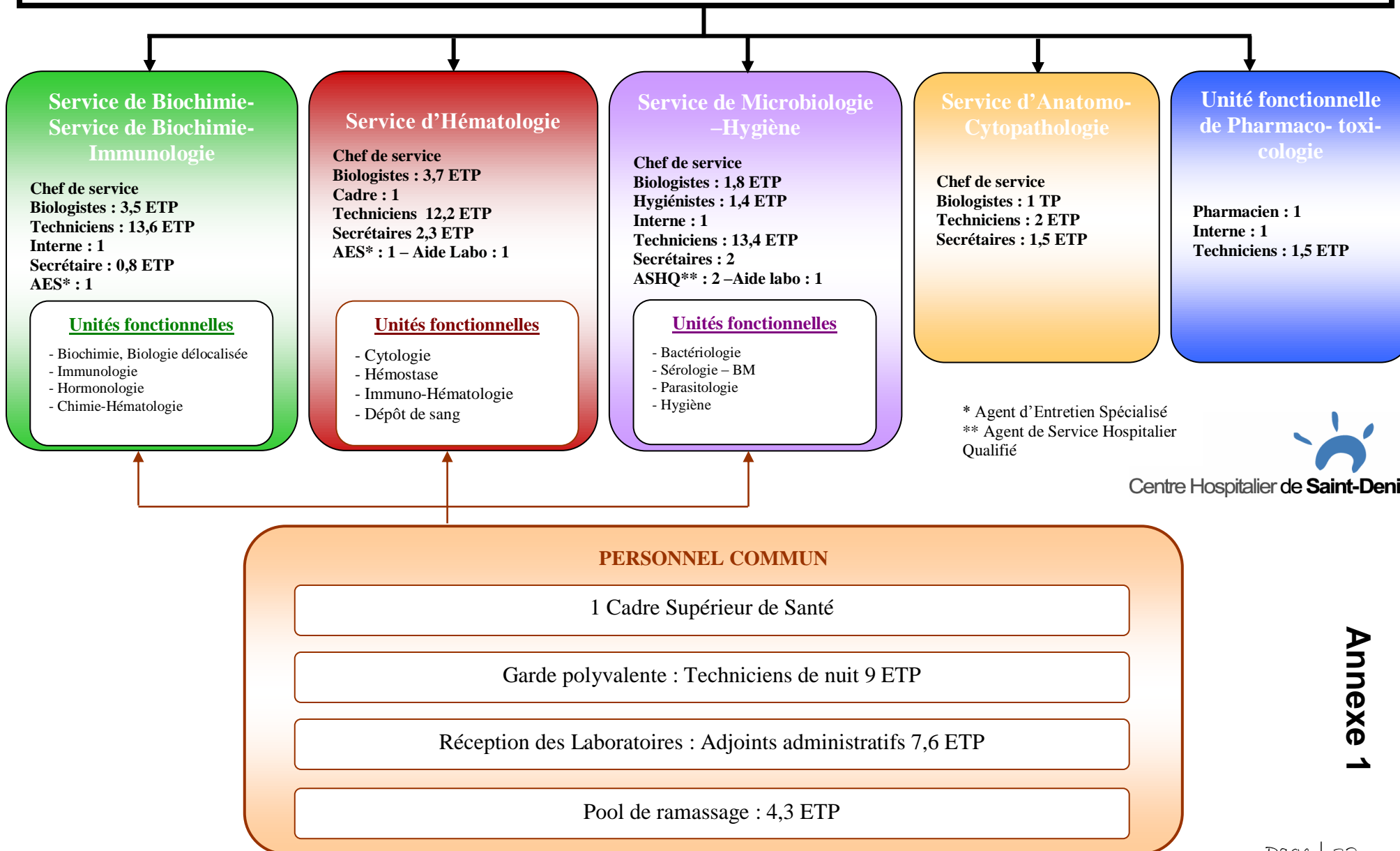
- 1. Organigramme du laboratoire de biologie médicale**

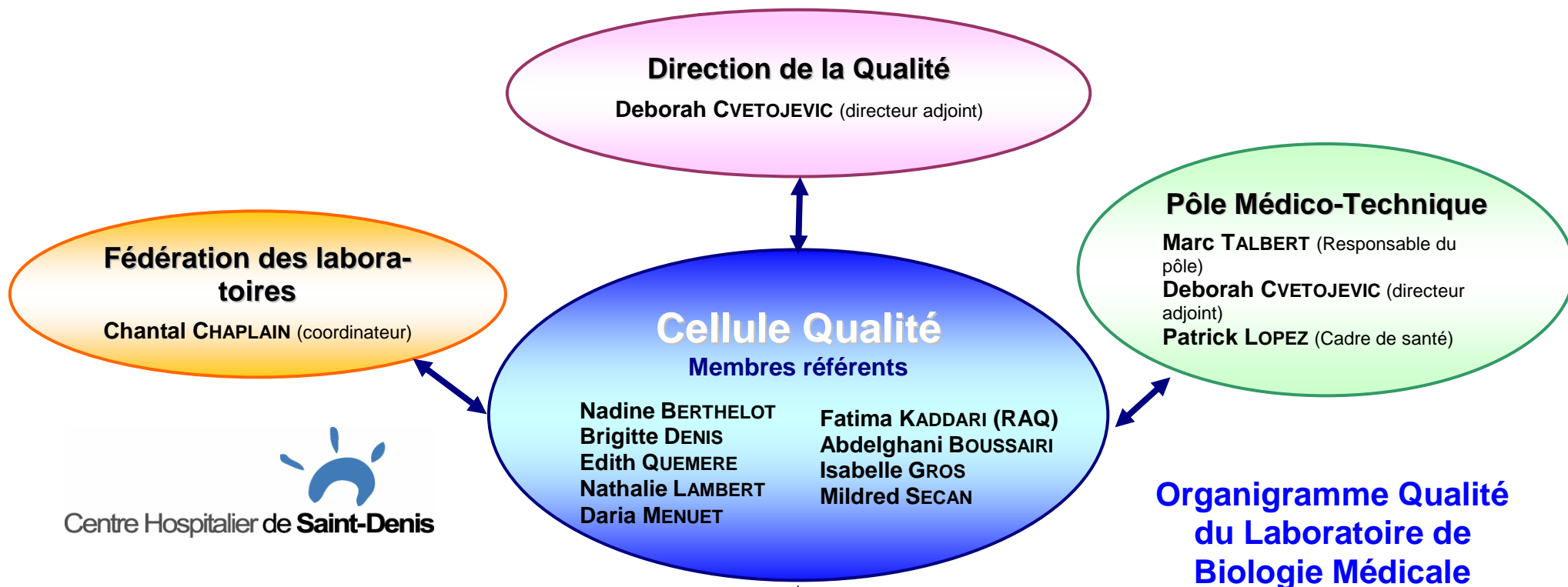
- 2. Organigramme de la cellule qualité**

- 3. Liste des souches bactériennes recommandées :**
 - a. Gram négatif**
 - b. Gram positif**
 - c. Listing des souches recommandées (avec prix)**

- 4. Logigramme du CIQ de l'antibiogramme**

LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE DU CH DE SAINT-DENIS





Référents par Secteur

Accueil – Secrétariat Mildred SECAN et Nathalie LAMBERT			Accueil – Secrétariat
Biochimie Immunologie Fatima KADDARI et Nadine BERTHELOT	Hématologie Catherine ONODY et Brigitte DENIS	Microbiologie Virologie – Hygiène Isabelle GROS et Edith QUEMERE / Daria MENUET	Pharmacologie Toxicologie Abdelghani BOUSSAIRI
Laverie Patricia BAZIN			Laverie

Annexe 3.a

(page 1/2)

Inventaire des souches recommandées Bactéries à Gram négatif

	CASPM	LAB GTA 06	NID	NMCC-ID	UNMIC	UNMIC-ID	Api 20E	Api Rapid ID 32A	Api 20NE	Api NH	E-Test	Disques KPC	Neo-Sensitabs	Oxydase	Gélose Carrimide (CET)	Gélose éthanol Salmoneia (SMT)
<i>Escherichia coli</i>	CIP 76.24	CIP 76.24 ATCC 25922	ATCC 25922	ATCC 25922 ATCC 35218	ATCC 25922 ATCC 35218	ATCC 25922 ATCC 35218	ATCC 25922				ATCC 25922	FN 9414	NCTC 13583 FN 9414	ATCC 25922		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CIP 76.110	CIP 76.110 ATCC 27853	ATCC 27853	ATCC 27853	ATCC 27853	ATCC 27853			ATCC 27853		ATCC 27853	CCUG 51971	ATCC 13983 ATCC 700603 FN 9590	ATCC 27853	ATCC 10145	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>				ATCC 700603	ATCC 700603	ATCC 700603	ATCC 39567									
<i>Providencia stuartii</i>	CIP 107808															
<i>Proteus mirabilis</i>							ATCC 39589									
<i>Proteus vulgaris</i>																
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>							ATCC 51331									
<i>Ehrlichia cloacae</i>							ATCC 13047						FN 9475			
<i>Salmonella typhi</i> <i>mullum</i>																ATCC 14028
<i>Salmonella enteritidis</i>																
<i>Aeromonas hydrophila</i>									ATCC 39554							
<i>Acetivibrio faecalis</i>									ATCC 39555							
<i>Sphingomonas multivorans</i>								ATCC 39556								
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>									ATCC 31426	ATCC 49226			ATCC 19424	ATCC 13090		
<i>Neisseria meningitidis</i>																
<i>Haemophilus influenzae</i>									ATCC 10211	ATCC 49247						
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>									ATCC 49817							
<i>Bacteroides fragilis</i>																
<i>Capnocytophaga putigena</i>							ATCC 29745	ATCC 33612								
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>																
<i>Haemophilus pylori</i>																
<i>Yersinia enterocolitica</i>																
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>																

Annexe 3.a

(page 2/2)

Inventaire des souches recommandées Bactéries à Gram négatif

	Gelose choccolat PolyVitek (PVX)	Gelose Escrine Bleu de Méthylene (EMB)	Gelose PolyVitek VCAT3 (VCAT3)	Gelose Hepton (HEPT)	Gelose Mueller Hinton 2 (MH2)	Gelose Pyrid (PYL)	Gelose Yersinia CIN (YER)	Gelose Kligler (KLIGLER)	Bouillon Schaefer glucose + vit K3	Conservation des souches (Biorad)	Esculin	TCBS (Vibro)	Uréa Indole	URSelect 4	Vande Foie 0.6%
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922			ATCC 25922			ATCC 25922	ATCC 27853	ATCC 25922		ATCC 25922	ATCC 25922	ATCC 25922	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					ATCC 27853				ATCC 27853		ATCC 27853				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>										ATCC 13883		ATCC 13883	ATCC 13883	ATCC 13883	
<i>Providencia stuartii</i>															
<i>Proteus mirabilis</i>												ATCC 25933	ATCC 25933		
<i>Proteus vulgaris</i>												ATCC 13315	ATCC 13315		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>															
<i>Enterobacter cloacae</i>															
<i>Salmonella typhi mulleri</i>				ATCC 14028									ATCC 14028		
<i>Salmonella enteritidis</i>								ATCC 13076							
<i>Aeromonas hydrophila</i>															
<i>Acetivibrio faecalis</i>															
<i>Sphingomonas multivorum</i>															
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 43069		ATCC 43069												
<i>Neisseria meningitidis</i>															
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 10211														
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>															
<i>Bacteroides fragilis</i>								ATCC 25285							
<i>Capnocytophaga spudgens</i>															
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>															
<i>Helicobacter pylori</i>						ATCC 43904									
<i>Yersinia enterocolitica</i>							ATCC 9810								
<i>Vibrio para- hemolyticus</i>												CIP 75.2			

Inventaire des souches recommandées
Bactéries à Gram positif

Annexe 3.b

	CASFM	LAB GTA 06	PID	PMIC	Api 20 Strep	Api Rapid ID 32A	Api Coryne	E-Test	Disque KPC	SLIDEX Strepto plus	Gélose Chapman 2 (MSA2)	Gélose Cloumbia + 5% sang de mouton (COS)	Gélose Hektoen (HEKT)	Gélose Mueller Hinton 2 (MH2)	Gélose Mueller Hinton 2 + 5% de sang de mouton (MHS)	Gélose Trypticase Soja (TSA et TSA-T)	Bouillon Trypticase Soja (TSB-T)	Conservation des souches (Biorad)	UriSelect 4	Esculin	Viande foie 0,6%
<i>Staphylococcus aureus</i>	CIP 7625	CIP 76.25 ATCC 25923	ATCC 29213	ATCC 29213				ATCC 29213	ATCC 25923		ATCC 25923			ATCC 25923		ATCC 6538	ATCC 25923		ATCC 29213	ATCC 29213	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>																		ATCC 14990			
<i>Enterococcus faecalis</i> (var <i>zymogenes</i>)		CIP 103214 ATCC 29212	ATCC 29212	ATCC 29212				ATCC 29212		ATCC 29212			ATCC 29212	ATCC 29212					ATCC 29212	ATCC 29212	
<i>Streptococcus pyogenes</i>										ATCC 19615		ATCC 19615									
<i>Streptococcus agalactiae</i>										ATCC 12386											
<i>Streptococcus sp (F)</i>										ATCC 12392											
<i>Streptococcus sp (G)</i>										ATCC 9884											
<i>Streptococcus equi</i> spp <i>zooepidemicus</i>					ATCC 700400					ATCC 700400											
<i>Streptococcus uberis</i>					ATCC 700407																
<i>Corynebacterium renale</i>							ATCC 19412														
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>							ATCC 27402														
<i>Microbacterium testaceum</i>							ATCC 15829														
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CIP 104485	ATCC 49619						ATCC 49619			ATCC 6305			ATCC 49619							
<i>Clostridium sordelli</i>						ATCC 9714															
<i>Clostridium sporogenes</i>						ATCC 19404															
<i>Actinomyces viscosus</i>						ATCC 15987															
<i>Bacillus subtilis</i>																					ATCC 6633
<i>Clostridium perfringens</i>																					ATCC 13124
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>																					ATCC 27337

Nombre de micro organismes à tester	Genre	Espèce	Numéro de souche	Nombre de techniques utilisant cette souche	Information supplémentaire	Prix	Nombre de souches à tester
BACTERIES A GRAM NEGATIF							
1	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	ATCC 25922	17	= CIP 76.24	78 € / 50 €	1
			ATCC 35218	3	BLSE	78 €	2
			NCTC 13353	1	BLSE	90 £	3
			FN9414	2		?	4
2	<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	ATCC 27853	12	= CIP 76.110	78 € / 50 €	5
			ATCC 10145	1		78 €	6
			FN8168	1		?	7
			CCUG51971	2	métallo- βlactamase	prix non affiché sur le site	8
3	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	ATCC 700603	5	BLSE	308 €	9
			ATCC 13883	4	phénotype sauvage	78 €	10
			ATCC 35657	1		78 €	11
			FN9590	2	métallo- βlactamase	?	12
4	<i>Providencia</i>	<i>stuartii</i>	CIP 107808	1	CASFM	50 €	13
5	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	ATCC 35659	1		78 €	14
			ATCC 25933	2		78 €	15
6	<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	ATCC 13315	2		78 €	16
7	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>maltophilia</i>	ATCC 51331	1		78 €	17
8	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	ATCC 13047	1		78 €	18
			FN 9475	1	AmpC βlactamase	?	19
9	<i>Salmonella</i>	<i>typhi murium</i>	ATCC 14028	3		78 €	20
10	<i>Salmonella</i>	<i>enteritidis</i>	ATCC 13076	1		78 €	21
11	<i>Aeromonas</i>	<i>hydrophila</i>	ATCC 35654	1		78 €	22
12	<i>Alcaligenes</i>	<i>faecalis</i>	ATCC 35655	1		78 €	23
13	<i>Sphingomonas</i>	<i>multivorum</i>	ATCC 35656	1		78 €	24
14	<i>Neisseria</i>	<i>gonorrhoeae</i>	ATCC 31426	1		78 €	25
			ATCC 49226	1		308 €	26
			ATCC 19424	1		78 €	27
			ATCC 43069	2		338 €	28
15	<i>Neisseria</i>	<i>meningitidis</i>	ATCC 13090	1		78 €	29
16	<i>Haemophilus</i>	<i>influenzae</i>	ATCC 10211	2		78 €	30
			ATCC 49247	1		78 €	31
17	<i>Haemophilus</i>	<i>paraphrophilus</i>	ATCC 49917	1		78 €	32
18	<i>Bacteroides</i>	<i>fragilis</i>	ATCC 23745	1		78 €	33
			ATCC 25285	2		78 €	34
19	<i>Capnocytophaga</i>	<i>sputigena</i>	ATCC 33612	1		338 €	35
20	<i>Bacteroides</i>	<i>thetaiotaomicron</i>	ATCC 29741	1		338 €	36
21	<i>Helicobacter</i>	<i>pylori</i>	ATCC 43504	1		308 €	37
22	<i>Yersinia</i>	<i>enterocolitica</i>	ATCC 9610	1	= CIP 80.27	338 €	38
23	<i>Vibrio</i>	<i>parahaemolyticus</i>	CIP 75.2	1		50 €	39

Annexe 3.c

(page 2/2)

Nombre de micro organismes à tester	Genre	Espèce	Numéro de souche	Nombre de techniques utilisant cette souche	Information supplémentaire	Prix	Nombre de souches à tester
BACTERIES A GRAM POSITIF							
24	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	ATCC 25923	6	= CIP 76.25	78 € / 50 €	40
			ATCC 6538	1		308 €	41
			ATCC 29213	5		78 €	42
25	<i>Staphylococcus</i>	<i>epidermidis</i>	ATCC 14990	1		78 €	43
26	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis (var zymogenes)</i>	ATCC 29212	9	= CIP 103214	78 € / 50 €	44
27	<i>Streptococcus</i>	<i>pyogenes</i>	ATCC 19615	2		78 €	45
28	<i>Streptococcus</i>	<i>agalactiae</i>	ATCC 12386	1		78 €	46
29	<i>Streptococcus</i>	<i>sp (F)</i>	ATCC 12392	1		308 €	47
30	<i>Streptococcus</i>	<i>sp (G)</i>	ATCC 9884	1		438 €	48
31	<i>Streptococcus</i>	<i>equi spp zooepidemicus</i>	ATCC 700400	2		308 €	49
32	<i>Streptococcus</i>	<i>uberis</i>	ATCC 700407	1		308 €	50
33	<i>Corynebacterium</i>	<i>renale</i>	ATCC 19412	1		78 €	51
34	<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>cellulans</i>	ATCC 27402	1		438 €	52
35	<i>Microbacterium</i>	<i>testaceum</i>	ATCC 15829	1		438 €	53
36	<i>Streptococcus</i>	<i>pneumoniae</i>	ATCC 49619	3		78 €	54
			ATCC 6305	1		78 €	55
			CIP 104485	1	CASFM	50 €	56
37	<i>Clostridium</i>	<i>sordelli</i>	ATCC 9714	1		78 €	57
38	<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	ATCC 19404	1		78 €	58
39	<i>Actinomyces</i>	<i>viscosus</i>	ATCC 15987	1		338 €	59
40	<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>	ATCC 6633	1		308 €	60
41	<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	ATCC 13124	1		78 €	61
42	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>anaerobius</i>	ATCC 27337	1		78 €	62
Prix total (minimum)						8522 €	
Prix total (maximum)						8606 €	

