

**Université Pierre et Marie Curie
Paris 6**

**MÉMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITÉ AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MÉDICALE »**

**Démarche Qualité pour le
Centre National de Référence
CNR *Neisseria gonorrhoeae***

**Évaluation des points critiques
Élaboration d'un Plan d'action**

***NASSAR Nayla
Année 2011***

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 de D.U. concerné. ».

AUTEUR DU MÉMOIRE

NASSAR Nayla

Biologiste Médical

Laboratoire de Biologie

CNR des gonocoques

Institut Alfred Fournier

75014 Paris

REMERCIEMENTS

Au Dr Sednaoui pour ces conseils précieux pour mener à bien ce travail,

Au personnel du laboratoire de l'institut Fournier pour sa collaboration et son implication dans la démarche qualité,

A la direction de l'institut Fournier pour son soutien logistique,

Aux intervenants de ce Diplôme Universitaire pour la qualité de leur enseignement,

Aux membres du Jury qui me font l'honneur de juger ce travail.

SOMMAIRE

GLOSSAIRE	2
A- INTRODUCTION	3
I- Intérêts et objectifs	3
II- Présentation du laboratoire et du CNR	3
III- Le CNR et la démarche qualité	5
IV- Limites de l'étude et Planification	6
B- DÉROULEMENT DU TRAVAIL	7
I- Analyse critique selon la méthode des 5M	7
1- Méthode: Analyse de l'existant Moyens de maitrise à développer	7
2- Main-d'œuvre: Analyse de l'existant Moyens de maitrise à développer	14
3- Matériel: Analyse de l'existant Moyens de maitrise à développer	16
4- Matière : Analyse de l'existant Moyens de maitrise à développer	22
5- Milieu : Analyse de l'existant Moyens de maitrise à développer	25
II - Analyse et interprétation	26
III- Elaboration d'un plan d'action pour la méthode : Outil PDCA	27
1 - Objectifs : <u>P</u> réparer / To <u>P</u> lan	27
2 - Réalisations : <u>D</u> évelopper / To <u>D</u> o	27
3 - Évaluations : <u>C</u> omprendre / To <u>C</u> heck	30
4 - Mesures correctives : <u>A</u> gir / To <u>A</u> ct	30
C – CONCLUSION	30
BIBLIOGRAPHIE	31
ANNEXES	33

GLOSSAIRE

Accréditation : procédure par laquelle une instance habilitée reconnaît à la fois la compétence technique et l'impartialité d'un organisme pour mener des tâches particulières. L'accréditation peut soit être réglementaire et obligatoire (soumise à un organisme national d'accréditation tel que le COFRAC) soit relever d'une démarche volontaire.

Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA SFM) : Comité chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques (S, I, R) et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Centre national de référence (CNR) : Les Centres nationaux de référence (CNR) sont des laboratoires localisés au sein d'établissements publics ou privés de santé, d'enseignement ou de recherche. Ils sont nommés pour 4 ans par le Ministre chargé de la santé sur proposition de l'InVS

Concentration minimale inhibitrice (CMI) : plus petite concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber in vitro la croissance d'une souche bactérienne.

Contrôle interne de qualité (CIQ) : 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 de limites de tolérance préétablies.

Contrôle externe de qualité (CEQ) : procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais d'une comparaison inter-laboratoire réalisée par une tierce organisation. Cette évaluation permet ensuite de comparer les résultats du laboratoire à ceux obtenus par d'autres laboratoires et, le cas échéant, de motiver des actions correctives et/ou préventives.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) : Centre Européen pour la prévention et le contrôle des maladies.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST): Comité européen pour la standardisation des méthodes d'étude des sensibilités des germes aux antibiotiques.

Institut National de Veille Sanitaire (INVS) : Établissement public, placé sous la tutelle du ministère chargé de la Santé, l'Institut de veille sanitaire (InVS) réunit les missions de surveillance, de vigilance et d'alerte dans tous les domaines de la santé publique.

A-INTRODUCTION

I - Intérêt et objectifs

La confiance tout au long du processus d'analyse reste un objectif principal pour tout laboratoire. Néanmoins, des incertitudes demeurent présentes notamment en bactériologie avec la manipulation de paramètres vivants. Le concept Assurance Qualité en bactériologie a des caractéristiques spécifiques additionnelles pour plusieurs raisons :

- Utilisation des cultures pour l'identification et la réalisation de l'antibiogramme. Cette technologie engendre des contraintes très particulières en Assurance Qualité
- Utilisation de plusieurs techniques en parallèle pour réaliser une seule analyse bactériologique. Une cohérence entre les résultats obtenus doit être assurée.
- Le laboratoire de bactériologie et plus particulièrement le Centre National de Référence est la source première des alertes épidémiologiques. La qualité et la reproductibilité de ses résultats conditionnent la qualité et la précocité de l'alerte. Les souches doivent pouvoir être conservées et tracées pour documenter ces épisodes.

La gestion de toutes ces particularités dépend de l'organisation du laboratoire. Elle nécessite une analyse en profondeur des processus utilisés.

L'ordonnance 2010-49 du 13 janvier 2010 (1) portant réforme de la biologie médicale conditionne désormais le fonctionnement des laboratoires d'analyses de Biologie Médicale à l'obtention d'une accréditation selon la norme ISO 15189 (2).

Le travail présenté a pour but de mettre en conformité les pratiques du Centre National de Référence (CNR) des Gonocoques, intégré au secteur bactériologie du laboratoire de l'Institut Alfred Fournier (IAF), avec la réglementation et les normes en vigueur. Il se base sur une synthèse des principaux points critiques à analyser, puis sur l'élaboration d'un plan d'action. Il va nous permettre d'identifier les points faibles, de suivre les progrès accomplis. Cette évaluation devrait aider à dégager des pistes de travail pour avancer dans notre démarche qualité et la mise en application de la norme 15189 au sein du CNR en premier pour l'étendre au secteur microbiologie puis à l'ensemble du laboratoire par la suite.

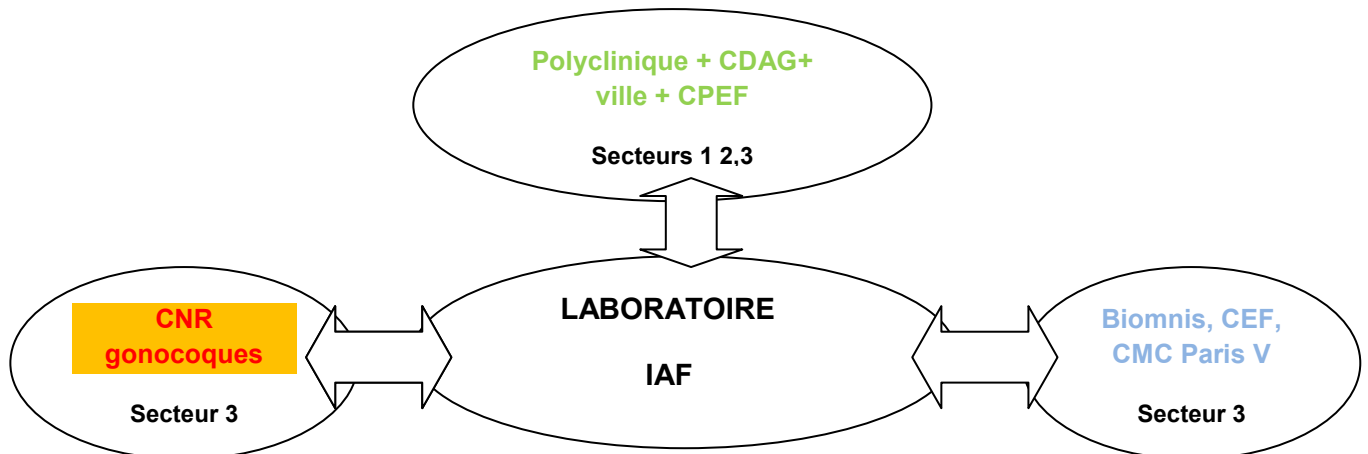
II-Présentation du laboratoire et du CNR des gonocoques

1-Description et locaux

Le laboratoire existe depuis la création de l'institut en 1923. D'abord spécialisé dans la recherche et le diagnostic de la syphilis, son activité s'est élargie aux maladies infectieuses et plus particulièrement les Infections Sexuellement Transmissibles (IST).

Il est composé de 4 salles de prélèvements dont deux réservées aux prélèvements bactériologiques et mycologiques. Une zone est dédiée à la réception et préparation des échantillons et aliquotes. Le plateau technique est partagé en trois grands secteurs dont un dédié à la bactériologie et au CNR :

- Biochimie -Hématologie-Immunologie (secteur 1)
- Biologie moléculaire (secteur 2)
- Bactériologie + Le CNR des gonocoques (secteur 3)



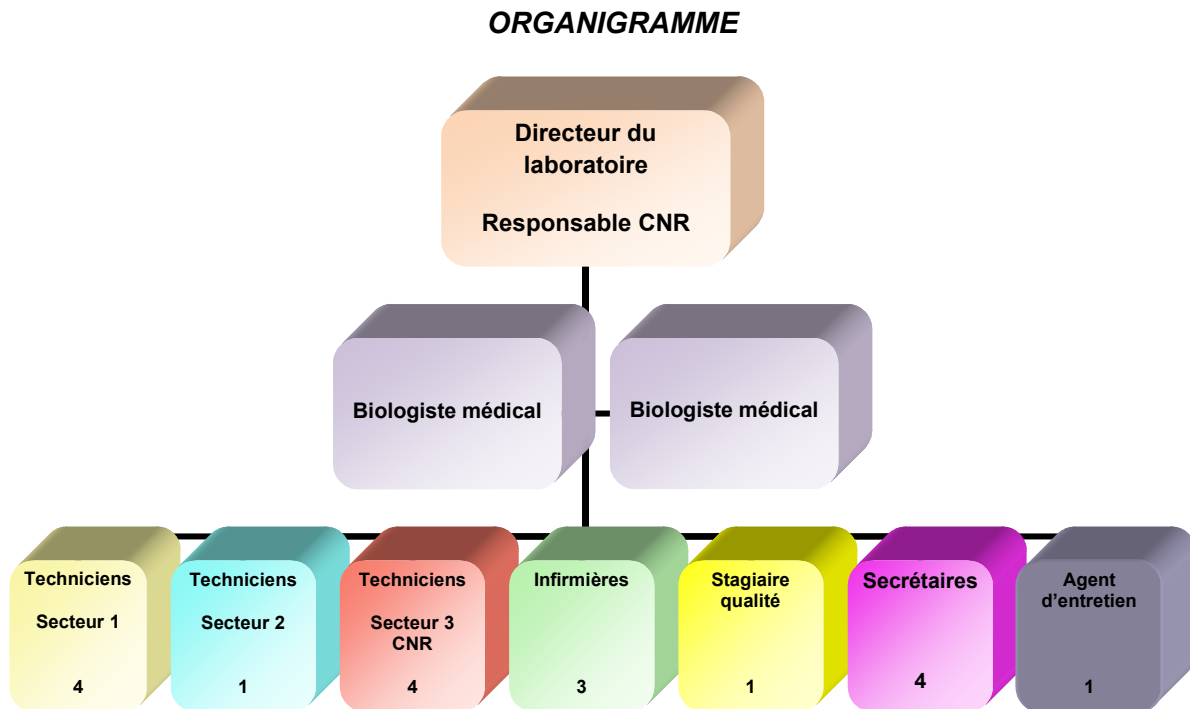
Les secteurs 1, 2 et 3 traitent les prélèvements des patients de la polyclinique de l'IAF, des patients de ville, des centres de planning familial (CPEF) et du Centre de Dépistage Anonyme et Gratuit (CDAG) de l'institut. Le secteur 3 gère en plus les prélèvements bactériologiques de Biomnis, de la clinique CMC Paris V, et le Centre National de Référence des Gonocoques (CNR gonocoques).

CNR gonocoques :

Instauré en 1986, le réseau RENAGO (Réseau National des gonocoques) repose sur un réseau de laboratoires de microbiologie volontaires répartis dans toute la France métropolitaine. L'objectif de ce réseau est d'estimer les tendances évolutives des gonococcies en France et d'étudier la sensibilité des souches de *N. gonorrhoeae* à 6 classes d'antibiotiques. Chaque laboratoire participant envoie à l'Institut de Veille Sanitaire une fiche épidémiologique mensuelle où sont notifiés le nombre de gonocoques isolés et certaines données épidémiologiques comme le sexe, l'âge du patient, le site de prélèvement ou la région du laboratoire. Chaque souche isolée est envoyée au Centre National de Référence des gonocoques, pour confirmation de l'identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques. En 2010, le CNR a traité 2000 souches provenant de 240 laboratoires (85% réseau ; 15% autres).

2-Effectifs :

La ressource humaine est composée d'un biologiste directeur et responsable du CNR et 2 biologistes médicaux, 9 techniciens dont 4 pour le secteur bactériologie et le CNR, 4 secrétaires, 3 infirmières, une stagiaire qualité et un agent d'entretien.



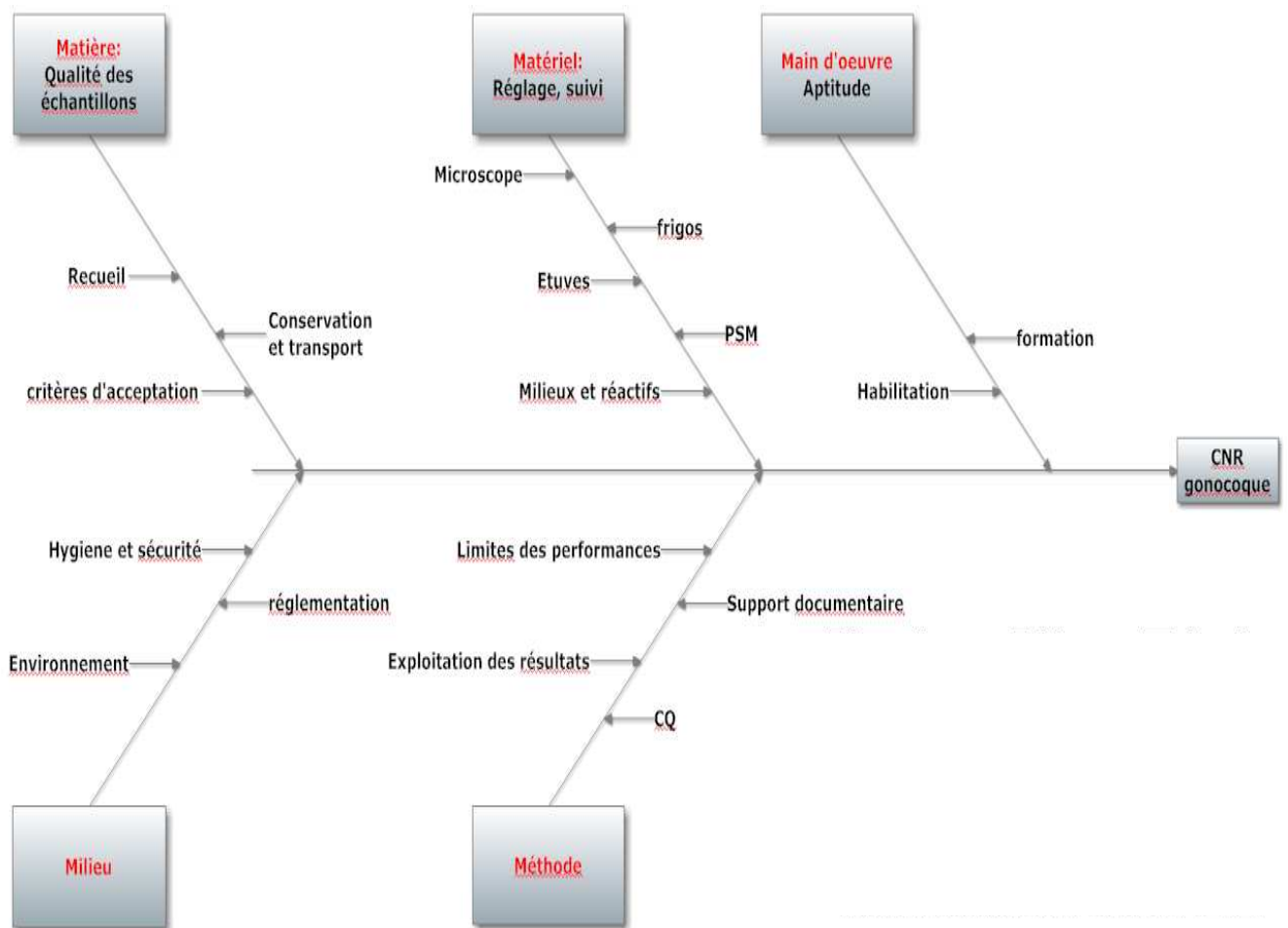
III- Le CNR et la démarche qualité

Le laboratoire incluant le CNR s'efforce de respecter au mieux les réglementations décrites dans le GBEA (3) et se prépare progressivement à une pratique en adéquation avec les exigences de la norme ISO 15189, avec pour objectif une accréditation en 2016. Dans ce sens, le laboratoire s'est inscrit en 2010 à «Bioqualité» (15) pour l'accompagner dans sa démarche qualité. De même, un logiciel qualité « Kalilab » (16) est en cours d'installation. Un projet de bactériologie « sans papier » est prévu pour l'an prochain. La gestion de l'Assurance Qualité est assurée par une collègue biologiste, une stagiaire qualité et moi-même. Cette politique qualité est encouragée par la direction du laboratoire et de l'institut. Le concept Assurance Qualité doit être présent dans tout laboratoire et plus particulièrement pour un CNR. De plus, notre centre est sollicité en permanence, via des questionnaires, par les responsables qualité de ses différents laboratoires correspondants pour connaître son avancement dans la démarche qualité. Ainsi, Il nous a semblé capital, avec la direction du laboratoire, d'engager une réflexion pour nous situer par rapport aux exigences réglementaires en commençant par le CNR.

IV- Limites de l'étude et planification

Comme il a été précisé en introduction, le concept Assurance Qualité en bactériologie a des caractéristiques spécifiques additionnelles. Il convient pour l'analyser, d'avoir une approche tenant compte des éléments susceptibles d'impacter l'incertitude du résultat. Une analyse de risque de type 5M m'a semblé pertinente pour organiser la réflexion et aborder les différents points à analyser : Matière, Milieu, Main d'œuvre, Matériel et Méthode. En me basant sur le modèle d'Ishikawa (Figure 1) et pour informatiser la démarche d'analyse des risques, j'ai utilisé un modèle graphique assez proche = la carte heuristique avec un logiciel gratuit Freemind (17). (Annexe 1). Dans un premier temps, pour chaque M, j'ai voulu développer les principaux facteurs critiques puis les moyens de maîtrise. Par la suite, à partir des résultats de cette analyse j'ai voulu dégager un plan d'action en commençant par la maîtrise de la méthode.

Figure 1: Analyse de risque type 5M : Modèle d'Ishikawa



B- DÉROULEMENT DU TRAVAIL

I- Analyse critique selon la méthode des 5M

Dans un premier temps, j'ai procédé à l'évaluation de l'existant au CNR pour les 5M. Mon travail s'est donc fait en 5 étapes. Pour chaque M, j'ai défini les principaux points critiques à évaluer en me basant sur les exigences techniques (chapitre 5) de la norme (2) (6 – 12). Pour chaque point, j'ai d'abord répertorié et classé tous les éléments matériels existants (documents, matériel.....). J'ai ensuite interrogé l'équipe des techniciennes du CNR sur des détails techniques précis de leur activité au quotidien depuis la réception des échantillons jusqu'au rendu des résultats (manipulations, gestion des réactifs, des contrôles, transcription des résultats...). Enfin, j'ai répertorié tous les éléments importants concernant les locaux ainsi que les bases d'hygiène et sécurité appliquées au laboratoire. A partir de cette première étape j'ai classé tous les éléments déjà existants et pour chaque élément proposé les moyens de maîtrise à développer pour adhérer au mieux aux exigences normatives.

1- Méthode

Chaque souche isolée est envoyée au CNR dans un milieu Amies-Charbon (TGV AER, Biorad). La souche est repiquée sur gélose chocolat enrichie en Polyvitex et incubée pendant 3 jours dans une atmosphère enrichie à 8% CO₂. Le CNR pratique sur chaque souche, une identification bactériologique, et une étude de la sensibilité aux antibiotiques.

a) Identification bactériologique

- Examen microscopique

La microscopie permet la visualisation directe du gonocoque, après coloration de Gram, par la mise en évidence des diplocoques à Gram négatif « en grain de café ».

- Culture

Les recommandations établies en Europe, au Royaume-Uni, et aux États-Unis positionnent la culture comme un *gold standard* pour le diagnostic de l'infection à *N. gonorrhoeae* (4) (5) (14). Cette mise en culture permet :

- L'identification bactériologique :

Les souches sont identifiées selon leurs caractéristiques biochimiques : oxydase positif (test à l'oxydase), glucose positif, mais maltose et saccharose négatifs (Api NH et rapid NH).

- Le typage bactérien (sérotypage et génotypage) :

Effectué dans des cas particuliers : études épidémiologiques, souches de CQE.

b) Étude de la sensibilité aux antibiotiques

Dans un contexte mondial d'augmentation des résistances aux antibiotiques, le CNR pratique sur chaque souche un antibiogramme par diffusion et une étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode E-test selon les conditions suivantes :

- Gélose chocolat Polyvitex®
- Inoculum de standardisation en solution de tampon phosphate au standard McFarland 1
- Lecture après 18-24 heures d'incubation à 35-37°C en atmosphère contenant 5 % de CO₂
- Les concentrations critiques (c, C) et les diamètres critiques (D, d) pour *N. gonorrhoeae* sont interprétés selon les critères CA-SFM /EUCAST
- Les 6 antibiotiques testés sont la pénicilline, la tétracycline, la ciprofloxacine, la ceftriaxone, le cefixime et la spectinomycine.
- La production d'une bêta-lactamase : test API NH ou disque nitrocéfine.

c) Participation à un programme externe d'évaluation de la qualité

Quatre fois par an le CNR participe à un programme externe d'évaluation de la qualité.

d) Conservation des souches

Chaque souche identifiée est conservée dans deux tubes à cryobilles référencés (numéro dossier, référence RENAGO et date du jour). Ils sont placés à -80°C dans deux congélateurs séparés pour une conservation sécurisée en cas de panne.

e) Retranscription et exploitation des résultats

Tous les résultats sont lus, interprétés et enregistrés par les techniciens sur un système expert (SIRSCAN 2000, I2A). Les comptes-rendus de cette lecture (diamètres et CMI) sont validés sur papier par le biologiste. Les résultats sont ensuite saisis par les techniciens sur le SIL avant la dernière validation informatique par le biologiste.

Les chapitres 5-5, 5-6 et 5-7 de la norme (2) traitent la manière dont le laboratoire doit organiser, réaliser, assurer la qualité et valider les résultats de sa phase analytique. Partant de ces exigences, j'ai classé les points critiques concernant la méthode en trois chapitres :

- 1) La maîtrise du support documentaire** : les procédures, modes opératoires et instructions nécessaires.
- 2) La maîtrise des limites des performances analytiques**: L'identification bactérienne et l'antibiogramme en diffusion doivent faire l'objet d'un contrôle de qualité (CIQ et CEQ).
- 3) La phase post analytique** : la conservation des souches, la retranscription des résultats, la validation biologique et le compte-rendu des analyses.

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>1-Maîtrise du système documentaire :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Une procédure analytique incluant toutes les étapes de prise en charge d'une souche de <i>N. gonorrhoeae</i> (ré-isolement des souches, Identification bactériologique, étude de la sensibilité aux antibiotiques, conservation des souches) est disponible au poste de travail. (<i>Annexe 2</i>). ▪ Elle n'est pas documentée: bibliographie ▪ Elle est revue en fonction des besoins ou modifications mais pas de façon systématique. - Les certificats de sécurité et notices analytiques des fournisseurs (fiches des galeries, disques ATB, bandelettes E-test...) ne sont pas gérés dans un système documentaire. <p><u>2- Limites des performances analytiques</u></p> <p><u>2-1 Le CIQ</u></p> <p>Les recommandations de la norme (2), du LAB GTA 06 (13) pour les CIQ ne sont pas appliquées.</p> <p>Les lots des milieux et réactifs (géloses, galeries, test oxydase, disques ATB, E test) ne sont pas contrôlés à la première utilisation, ni d'une façon régulière.</p>	<p><u>1- Maîtrise du système documentaire :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Revoir la procédure analytique en y incluant des étapes de gestion de CIQ et CEQ. - Mettre à disposition aux postes de travail des données de bibliographie pour documenter les performances de la méthode utilisée (identification NG, ATB, typage..) - Prévoir une revue systématique annuelle - Récupérer les certificats de sécurité. - Vérifier que les notices analytiques des fournisseurs soient à jour et noter la date de leur mise en service. - Les inclure dans le système documentaire. <p><u>2- Limites des performances analytiques</u></p> <p><u>2-1 Le CIQ</u></p> <p>Prévoir la mise en place d'un CIQ pour :</p> <ul style="list-style-type: none"> -L'identification bactérienne de <i>N. gonorrhoeae</i>. -L'antibiogramme par diffusion et E-test. <p><u>a) Identification bactérienne :</u> trois paramètres :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- <u>Géloses, galerie Api NH et rapidNH</u> : passage d'une souche de référence (souche clinique bien identifiée et publiée OMS QA10) à chaque changement de lot. 2- <u>Test à l'oxydase</u> : souche de référence_ATCC à chaque changement de lot. <i>P.aeruginosa</i> (27853) (oxydase+) et <i>E. coli</i>(25922) (oxydase-). 3- <u>Coloration de gram</u>: CQ fournisseur1/semaine

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p>2-2 <u>CEQ</u></p> <p>Les recommandations de la norme (2), du LAB GTA 06 (13) pour les CEQ sont respectées. Plusieurs confrontations sont réalisées dans le cadre de l'ECDC* :</p> <p>1- <u>UK NEQAS** for genital pathogens</u> :(4/an)</p> <p>Deux échantillons humains prélevés dans un contexte d'IST sont testés pour la recherche de <i>N.gonorrhoeae</i>. (Annexe 3). Les résultats des contrôles sont basés sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> - La détection et identification de <i>N.gonorrhoeae</i> dans un échantillon. - L'antibiogramme S/I/R pour un panel d'antibiotiques à tester. <p>2- <u>EU STI*** Microbiology Network</u> :</p> <p><u><i>N.gonorrhoeae antimicrobial resistance quality assurance programme</i></u> : (4/an)</p> <p>Cinq souches OMS de <i>N.gonorrhoeae</i> sont testées pour la détermination des CMI sur un panel d'antibiotiques (Ciprofloxacine, Ceftriaxone, Cefixime, Azithromycine, Gentamycine, Spectinomycine) et recherche bêta-lactamase.</p>	<p><u>b) Antibiogramme par diffusion et E test</u> :</p> <p><u>Disques d'ATB et Bandelettes E test</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Choisir une souche de référence (OMS QA10) - Passage bimensuel en diffusion et E-test. <p><u>c) Conservation des souches de CQ</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Une fois par an : subculture de la souche de référence distribuée en aliquotes à -80°C. - Procédure de conservations des souches CQ <p>2-2 <u>CEQ</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Rédiger la procédure de gestion du CEQ - Assurer la traçabilité des résultats CEQ - Assurer la traçabilité des mesures correctives prises le cas échéant.

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p>3- <u>EU STI*** Microbiology Network : Sentinel Surveillance of Gonococcal Antimicrobial Susceptibility</u> : (2/an)</p> <p>Dans le cadre du Projet Européen de Surveillance des IST, le CNR participe à la surveillance de la résistance aux antibiotiques de <i>N.gonorrhoeae</i> (AMR surveillance programme).</p> <p>- Les CMI d'une série de 50 souches isolées par le CNR, leurs données épidémiologiques (site, sexe du patient, âge, orientation sexuelle, antécédents IST...) sont envoyées au ESSTI****. Pour assurer la qualité des résultats rendus, les CMI de 7 souches de référence OMS (5 testées en début de série et deux en fin de série) sont envoyées en parallèle.</p> <p>Ces données assurent une étude longitudinale, à travers 17 pays d'Europe, de la résistance aux antibiotiques de <i>N.gonorrhoeae</i>. Ceci permet d'établir et d'ajuster les stratégies thérapeutiques.</p> <p>Tous les résultats sont analysés à leur retour par les biologistes. Ils sont restitués à toute l'équipe avec mise en place d'actions correctives le cas échéant (ex : lecture CMI).</p> <p>*ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control.</p> <p>**UKNEQAS: UK National External Quality Assessment Service for Microbiology</p> <p>***EU STI Microbiology Network: European Surveillance of Sexually Transmitted Infections Network.</p> <p>****ESSTI: European Surveillance of Sexually Transmitted Infections</p>	

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>2-3 La validation analytique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - La validation de l'identification obéit à des règles écrites préétablies dans une procédure. (<i>Annexe 2</i>) - Les caractères de l'identification bactérienne (code api NH, oxydase) ne sont pas mentionnés sur la feuille de travail. - Les initiales de la ou les technicienne(s) réalisant la validation analytique (identification et antibiogramme) ne sont pas mentionnées sur la feuille de travail. <p><u>3-Phase post analytique</u></p> <p><u>3-1 Conservation des souches</u></p> <p>La conservation des souches se fait sur des tubes cryobilles référencés en double (-80°C).</p> <p><u>3-2 Retranscription des résultats</u></p> <p>Saisie manuelle sur le SIL à partir de la feuille de travail par les techniciennes ou biologistes.</p> <p><u>La feuille de travail comporte :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Le code de la souche (INVS) / La date de naissance et sexe/ Le numéro de dossier/ La date d'envoi et de réception/ La durée de transport/Le site d'isolement/ L'identification/ La date de conservation. - Le compte rendu antibiogramme du système expert (Sirscan) : résultats des diamètres et CMI (bruts et interprétés) lus et saisis manuellement par les techniciennes. Cette lecture est toujours vérifiée sur papier par le biologiste mais pas sur le SIL. 	<p><u>2-3 La validation analytique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Revoir la procédure analytique (voir chapitre système documentaire). - Assurer la traçabilité de l'identification bactérienne: imprimer le compte rendu de lecture Api NH, y inscrire l'oxydase et l'agrafer à la feuille de travail. - Tracer les initiales de la ou les technicienne(s) réalisant la validation analytique sur la feuille de travail. <p><u>3-Phase post analytique</u></p> <p><u>3-1 Conservation des souches</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Prévoir une procédure de gestion des souches traitées par le CNR. <p><u>3-2 Retranscription des résultats</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Prévoir une vérification de la saisie manuelle sur le SIL : double lecture par exemple.

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>3-3 Validation biologique</u></p> <p>Elle est assurée en deux étapes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vérification à la paillasse de la lecture par les techniciennes de tous les diamètres et CMI sur le système expert. - Validation biologique tracée sur le SIL : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Consultation des renseignements cliniques et thérapeutiques fournis. ▪ Interprétation systématique de tous les résultats selon les critères du CA-SFM / EUCAST. <p><u>3-4 Comptes- rendus d'analyses</u></p> <p>Deux comptes - rendus sont édités par souche pour le labo transmetteur et l'INVS.</p> <p>Ils comportent :</p> <ul style="list-style-type: none"> - L'en tête du CNR - Le code de la souche (donné par l'INVS) - Les coordonnées du labo transmetteur et de l'In VS - Le numéro du dossier CNR - La date de réception - Le temps de transport - La date d'édition - Le nom et signature d'un biologiste du laboratoire. <p>Ils sont transmis aux destinataires par la poste.</p>	<p><u>3-3 Validation biologique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Prévoir une procédure de validation biologique. <p><u>3-4 Comptes - rendus d'analyses</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Prévoir une procédure pour la transmission des comptes-rendus.

2- Main d'œuvre

Le directeur du laboratoire est responsable du CNR gonocoque avec deux biologistes médicaux suppléants. L'équipe technique est composée de 4 techniciennes dont trois ayant une expérience > 10 ans en bactériologie.

La compétence technique du personnel (lecture des grams, identification bactérienne, réalisation et lecture de l'antibiogramme) est un des éléments clés dans la mesure où il s'agit d'une technique manuelle et opératoire dépendante. C'est là que la formation continue, l'évaluation des connaissances et de la technicité du personnel prennent toute leur importance.

Plusieurs exigences concernant le personnel sont détaillées dans le chapitre 5-1 de la norme (2) ainsi que dans différents documents COFRAC concernant les exigences spécifiques et les guides techniques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale » (9) (10) (12). J'ai classé les points critiques en deux chapitres:

- 1) La gestion du personnel.**
- 2) La formation du personnel.**

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>1- Gestion du personnel</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - L'administration de l'IAF gère : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Des fiches de poste définissant les fonctions et responsabilités des membres du personnel du laboratoire sans organigramme précis. ▪ Des dossiers comportant les diplômes, contrats de travail, fiches de poste et CV. - Des entretiens d'évaluations sont réalisés tous les deux ans environ par le chef de service dans lesquels des objectifs sont fixés pour une amélioration continue. - Un planning de travail est établi et affiché chaque mois. Il définit la répartition des techniciens au niveau des paillasse. <p><u>2- Formation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Au recrutement, la formation des nouveaux techniciens à la paillasse se fait par l'équipe en place. La qualification et habilitation ne sont pas formalisées. - Une politique de formation continue est mise en place: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Recueil des souhaits de formation notamment au cours de l'entretien individuel. ▪ Certaines formations collectives intra-service sont données selon un planning défini en début d'année. 	<p><u>1- Gestion du personnel</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Etablir un organigramme fonctionnel</u> : lister toutes les fonctions du laboratoire avec des référents et des suppléants - <u>Compléter le dossier personnel</u> : diplômes, contrat de travail, CV, qualifications, attestations de formations, évaluations des compétences, fiches de fonction qui définissent les sphères de responsabilités et identifient les fonctions clés, registre de vaccinations, fiche de médecine de travail. - <u>Cibler et tracer les entretiens d'évaluations</u> : Tous ces documents sont à conserver sous forme d'enregistrements. <p><u>2- Formation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Définir le mode de qualification du personnel</u> : Pour les nouveaux recrutés, bien définir : <ul style="list-style-type: none"> - La formation/qualification et la phase d'intégration au laboratoire: encadrement par responsables bien définis. - <u>Définir les critères d'évaluation pour l'habilitation définitive</u> : ex. créer une fiche d'évaluation portant sur les points critiques à maîtriser: (antibiogramme, lecture CMI.) - <u>Améliorer la gestion de la formation continue</u> : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Etablir un plan de formation annuel ▪ Recueillir les attestations de présence. ▪ Evaluer les formations. <p><u>3- Rédiger les procédures appropriées</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Gestion du personnel - Formation et habilitation du personnel.

3- Matériel

Le chapitre 5-3 de la norme dresse la liste des exigences techniques concernant le matériel en matière de choix des équipements, d'enregistrement et de maintenance. Plusieurs points sont à gérer. Le laboratoire doit :

- Posséder tous les équipements requis pour effectuer les analyses.
- Démontrer la performance de ses équipements (qualification).
- Maîtriser ses équipements (maintenance).
- Avoir des enregistrements pour répertorier ses équipements.
- Avoir les procédures de maîtrise de l'intégrité des données informatiques.

Les instruments, les matériaux de référence, les consommables, les réactifs et les systèmes analytiques sont inclus dans le matériel. Pour établir un plan d'évaluation, je me suis appuyée sur le questionnaire EVALMIC de la SFM (6) qui récapitule les exigences de ce chapitre. En se basant sur le travail quotidien au CNR, le matériel nécessaire a été classé en trois sous-chapitres dans lesquels j'ai voulu évaluer les principaux points critiques.

1) Equipements :

- PSM
- Sirscan (lecteur antibiogrammes)
- Appareil pour coloration de Gram (Aerospray, Elitech Group)
- Petit appareillage (pipettes, densitomètre...)
- Microscopes
- Enceintes et appareils thermostatés :
 - Réfrigérateurs et Congélateurs
 - Etuves

2) Milieux et réactifs :

- Géloses Chocolat Polyvitex et Chocolat Polyvitex VCAT3
- Galeries Api NH et réactifs de révélation
- Disques d'antibiotiques
- Bandelettes E-test
- Tubes de conservation cryobilles
- Tubes de transport TGV
- Colorants
- Eau distillée, NaCl
- Disques Oxydase

3) Informatique :

- SIL (sysmex Mollis)
- Logiciel Sirscan

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>1- Equipement :</u> <u>1-1 Dispositions générales</u> a- Les équipements ne sont pas bien identifiés.</p> <p>b- Les équipements du service ne sont pas répertoriés dans une liste exhaustive.</p> <p>c- Les dossiers matériels existent uniquement pour quelques équipements (Sirscan, Aerospray...) et sont incomplets.</p> <p><u>1-2 PSM</u> Deux PSM sont dédiés au secteur : - Pas de procédure d'utilisation. - Pas de contrat d'entretien PSM.</p>	<p><u>1- Equipement :</u> <u>1-1 Dispositions générales</u> a- Étiqueter les équipements:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nom ▪ Fournisseur ▪ N° de série ▪ Date de mise en service ▪ N° SAV <p>b- Établir une liste de tous les équipements avec une fiche signalétique individuelle:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nom ▪ N° de série ▪ Fabricant ▪ Nom du responsable ▪ Date de mise en service ▪ Emplacement actuel ▪ Maintenances <p>c- Mettre en place un dossier matériel :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cahier des charges ▪ Évaluation du fournisseur ▪ Bon de commande ▪ Notice complète du fournisseur ▪ Rapports de qualification à réception ▪ Rapport d'étalonnage et vérification ▪ Contrat d'entretien ▪ Suivi des maintenances <p><u>1-2 PSM</u> - Rédiger un mode opératoire d'utilisation. - Classer le suivi de maintenances (dossier PSM). Distinguer les :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Préventives programmées ▪ Curatives suite à une panne

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>1-3 Sirscan (I2A)</u></p> <p>Un dossier matériel existe avec :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2 classeurs: guide utilisateur. - La procédure de démarrage utilisateur. - La gestion des analyses. - Le paramétrage de tous les thésaurus utilisés par l'appareil : liste des prélèvements, bactéries, antibiotiques, règles du système d'interprétation des antibiogrammes, etc.... - Les fiches d'intervention. <p><u>1-4 Aerospray (Elitech Group)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> -Un dossier matériel a récemment été rédigé selon le plan de la norme. -Le tableau des maintenances est affiché avec les procédures quotidiennes, hebdomadaires et mensuelles. <p><u>1-5 Pipettes et écouvillons stériles (Greiner)</u></p> <p>Des pipettes stériles boutonnées à usage unique et des écouvillons stériles sont utilisés pour la réalisation de l'antibiogramme. Les lots ne sont pas tracés.</p> <p><u>1-6 Densitomètre (Biomérieux)</u></p> <p>Utilisé pour la évaluer la densité des suspensions utilisées pour les galeries ApiNH et l'antibiogramme.</p> <p>La densité (Mc Farland) n'est pas contrôlée.</p> <p><u>1-7 Microscopes</u></p> <p>Contrôlés une fois par an selon un contrat d'entretien annuel.</p>	<p><u>1-3 Sirscan (I2A)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Rédiger un mode opératoire d'utilisation. - Classer le suivi de maintenances curatives et préventives (dossier Sirscan). <p><u>1-4 Aerospray (Elitech Group)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Classer le suivi de maintenances curatives et préventives. - Assurer la traçabilité des lots de colorants utilisés. <p><u>1-5 Pipettes et écouvillons stériles (Greiner)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Assurer la traçabilité des lots utilisés. <p><u>1-6 Densitomètre (Biomérieux)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Mettre en place un contrôle hebdomadaire de la densité (Mc Farland) à l'aide de contrôles bien définis. - Rédiger un mode opératoire d'utilisation. <p><u>1-7 Microscopes</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Rédiger un mode opératoire d'entretien. - Classer le suivi des maintenances.

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>1-8 Réfrigérateurs</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Un réfrigérateur (Polyfroid) pour la conservation des réactifs et milieux : contrôlé par un enregistrement continu de la température. - Un réfrigérateur pour la conservation des tubes de transport des souches non contrôlé. <p><u>1-9 Congélateurs</u></p> <p>Un Congélateur à -80°C pour la conservation des souches : contrôlé par un enregistrement continu de la température.</p> <p><u>1-10 Etuves</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Enregistrement de la température affiché en continu. -Enregistrement de la concentration en CO2 affiché en continu. 	<p><u>1-8 Réfrigérateurs</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Mettre en place un contrôle métrologique de la température pour tous les réfrigérateurs: modalités, fréquence, traçabilité... - Prévoir de plus un enregistrement de la température pour le réfrigérateur dédié à conservation des tubes de transport. <p><u>1-9 Congélateurs</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Mettre en place un contrôle métrologique de la température : modalités, fréquence, traçabilité... <p><u>1-10 Etuves</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Mettre en place un contrôle métrologique de la température : modalités, fréquence, traçabilité... - Prévoir un protocole de vérification de la concentration en CO2 : modalités, fréquence, traçabilité...

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>2- Milieux et réactifs</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - La traçabilité des contrôles qualité fournisseurs réalisés lors de la production n'est pas assurée. - Les lots des géloses, galeries NH et rapid IDNH, le test oxydase ainsi que les disques ATB et bandelettes E-test ne sont pas validés par des souches de référence. - Les dates de réception, de mise en service, les numéros de lots, les dates de péremption des produits ne sont pas tracées clairement. - Les conditions de stockage font l'objet d'un suivi continu de la température mais sans suivi métrologique des réfrigérateurs. <p>Répartition selon Fournisseurs :</p> <p>2-1 : BioMérieux</p> <ul style="list-style-type: none"> - Géloses Chocolat Polyvitex - Géloses Chocolat Polyvitex VCAT3 - Galeries Api NH, James et ZymB - Eau physiologique 0, 85% - NaCl 0,85% - Bandelettes E-test : PG, SC, TX, IX, TC, CI <p>2-2 BIORAD</p> <ul style="list-style-type: none"> - Disques d'ATB: AMX, AMC, CF, NA, C, E - Disques Oxydase - Tubes de transport TGV <p>2-3 AES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tubes de conservation cryobilles <p>2-4 OXOID</p> <ul style="list-style-type: none"> - Rapid ID NH system - NitA, NitB, Indole <p>2-5 GREINER</p> <ul style="list-style-type: none"> - Colorant Violet - Colorant Lugol - Colorant Safranine 	<p><u>2- Milieux et réactifs</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Assurer la traçabilité des contrôles qualité (fiches fournisseurs) réalisés lors de la production. - Prévoir des souches de référence ATCC pour assurer un contrôle régulier CQI des géloses, galeries NH et réactif oxydase. (voir chapitre méthode). - Assurer la traçabilité de la date de réception, de mise en service, les numéros de lots, les dates de péremption des produits reçus. - Assurer un suivi métrologique des réfrigérateurs (cf chapitre précédent).

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>3-Informatique</u> <u>3-1 SIL (Molis)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Les connexions sont validées par un dossier test si besoin mais pas d'une façon systématique. - La sauvegarde est quotidienne mais pas de procédure de sauvegarde et de modification des données. - Les maintenances sont faites par une société externe. Pas de procédures de maintenance. - La salle informatique est isolée et protégée par un accès limité. - Les logiciels et programmes sont protégés (login, mot de passe, accès maintenance externe, antivirus, pare-feu..). - En cas de panne, la conduite à tenir (procédure dégradée) n'est pas bien formalisée. <p><u>3-2 Logiciel lecture et interprétation antibiogramme (Sirscan)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Le paramétrage de tous les thésaurus utilisés par l'appareil : liste des prélèvements, bactéries, antibiotiques, règles du système d'interprétation des antibiogrammes existe dans le dossier matériel. <p>Les connexions ne sont pas vérifiées : données numériques (diamètres et CMI) et interprétations (S, I, R) ainsi que les mécanismes de résistances.</p>	<p><u>3-Informatique</u> <u>3-1 SIL (Molis)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Prévoir des dossiers tests d'une façon systématique. - Rédiger une procédure de sauvegarde et de modification des données. - Rédiger une procédure de maintenance. - Rédiger une procédure dégradée en cas de panne informatique. <p><u>3-2 Logiciel lecture et interprétation antibiogramme (Sirscan)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Vérifier les connexions avec le SIL par des dossiers tests.

4-Matière

Dans ce chapitre, j'ai voulu étudier tout ce qui influence la qualité des échantillons reçus par le CNR. Les souches arrivant au CNR sont anonymes et identifiées par un numéro attribué par l'INVS. Elles sont accompagnées d'une fiche de renseignements INVS à compléter pour chaque souche envoyée et qui sert de feuille de prescription.

Le chapitre 5-4 de la norme (2) aborde les exigences relatives à la gestion de la phase pré-analytique. Les principaux points critiques à explorer (9) (10) (12) concernent :

- 1) Les modalités de recueil.**
- 2) La conservation et transport.**
- 3) Les critères d'acceptation.**
- 4) La traçabilité des horaires (recueil, réception, technique).**

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>1- Les modalités de recueil et conservation</u></p> <p>Sur le site internet de l'IAF sont disponibles :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Une fiche technique</u> : repiquage des souches sur milieux de transports (TGV). Toutes les conditions analytiques y sont détaillées. (Annexe 4) - <u>Une fiche de renseignements épidémiologiques INVS</u> : elle comporte des questions sur le sexe, la date de naissance, les dates de prélèvement et d'envoi, les sites de prélèvements, la clinique, les IST associées, le lieu de contamination, les identifications déjà effectuées, le nom et adresse du médecin prescripteur (Annexe 5) <p><u>2- Le transport des échantillons</u></p> <p>Le transport des souchesensemencées sur milieu TGV est assuré par une société spécialisée.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chaque souche arrive dans un sachet (Diagnobag A5) individuel étanche + absorbant avec sa fiche épidémiologique et dans un coffret individuel conforme ADR. - L'étiquetage du coffret porte : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Les mentions Matières Biologiques catégorie B et UN3373. ▪ Les adresses: expéditeur et destinataire. ▪ La température de transport ▪ Le numéro de transport. ▪ La date et heure d'enlèvement. ▪ La date de livraison. <p>La traçabilité du transport (température, date et heure) est assurée grâce à un système de code à barres.</p>	<p><u>1- Les modalités de recueil et conservation</u></p> <p>Revoir :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la fiche d'instructions concernant la préparation et l'envoi des échantillons (souches) reçus par le CNR. - la fiche de renseignements épidémiologiques qui sert de feuille de prescription. <p>Documents :</p> <ul style="list-style-type: none"> - A inclure dans le système documentaire et le manuel de prélèvements. - Doivent être consultables (voie électronique) car prélèvements toujours réalisés par du personnel extérieur au laboratoire. <p><u>2- Le transport des échantillons</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Prévoir une procédure concernant <u>le circuit des échantillons CNR</u>: - Le transport - La réception - L'acceptation - L'étiquetage - Le traitement - Le compte rendu des résultats.

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>3- Les critères d'acceptation</u></p> <p>A la réception des échantillons sont vérifiés :</p> <ul style="list-style-type: none"> - L'emballage - L'état de l'échantillon - Le délai de transmission (1 à 2 j) - L'identification du correspondant. <p>Si une non-conformité est constatée, une fiche est remplie et si besoin un autre échantillon est demandé au laboratoire transmetteur.</p> <p><u>4-La traçabilité des horaires (recueil, réception, technique)</u></p> <p>Elle est assurée à différents niveaux :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Sur la fiche de renseignements INVS:</u> <ul style="list-style-type: none"> ▪ La date de prélèvement du laboratoire expéditeur. ▪ La date d'envoi de la souche au CNR. - <u>Sur l'étiquetage du coffret de transport :</u> <ul style="list-style-type: none"> ▪ La date et d'enlèvement par le transporteur. ▪ La date de livraison. <p>La livraison se fait selon une tournée à un horaire précis. Si modification ponctuelle de cet horaire ceci est tracé sur le registre de réception de prélèvements.</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Sur le SIL</u> <ul style="list-style-type: none"> ▪ La date d'envoi de la souche. ▪ La date de réception. ▪ La durée de transport. 	

5) Milieu :

Dans ce chapitre, les points critiques abordés ont pour but d'améliorer la maîtrise des conditions ambiantes en matière de locaux et conditions environnementales pour répondre au chapitre 5.2 de la norme :

- 1) **Hygiène et sécurité** : Agents biologiques pathogènes, gestion des déchets.
- 2) **Conception des locaux** : Locaux aux normes NSB2 (*Arrêté du 16 juillet 2007*).
- 3) **Aménagements**.

ANALYSE DE L'EXISTANT	MOYENS DE MAÎTRISE À DÉVELOPPER
<p><u>5-1 Hygiène et sécurité</u></p> <ul style="list-style-type: none">-Les ensemencements et préparation des antibiogrammes ne sont pas toujours effectués sous PSM.-Des containers spécifiques sont utilisés pour les déchets : DASRI, élimination des colorants... <p><u>5-2 Conception des locaux</u></p> <ul style="list-style-type: none">-Ventilation mécanique dédiée.-Les vestiaires sont séparés des salles techniques.- Le secteur bactériologie est bien signalé avec un accès limité mais sans sas.- Le secteur est séparé par une porte verrouillable sans fenêtre d'observation.- L'entretien des locaux et équipements est effectué mais sans plan précis. <p><u>5-3 Aménagements</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Sols et parois lavables (P2)- Lave mains à déclenchement non manuel- Utilisation de matériel à usage unique. <p>Mais</p> <ul style="list-style-type: none">- Bec Bunsen encore utilisé- Zone dédiée pour la conservation des échantillons et milieux ensemencés (frigo) mal identifiée.	<p><u>5-1 Hygiène et sécurité</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Effectuer ensemencements et ATB sous PSM.- Ecrire la procédure de traitement des déchets.- Ecrire le document d'évaluation des risques pour la protection du personnel et du prélèvement. <p><u>5-2 Conception des locaux</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Prévoir un sas pour un niveau de confinement 3.- Prévoir une fenêtre d'observation- Ecrire la procédure d'entretien des locaux et équipements (paillasses, étuves, réfrigérateurs, jarres...). <p><u>5-3 Aménagements</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Arrêter l'utilisation du bec bunsen- Identifier la zone de conservation des échantillons.- Ecrire une procédure décrivant les méthodes de travail et les mesures de protection.

II- Analyse et interprétation

Cette analyse m'a permis de connaître les principaux points critiques liés aux 5 M. Plusieurs axes d'améliorations sont à développer à tous les niveaux : la maîtrise de la méthode, la qualité des milieux et réactifs, les logiciels d'interprétation, la formation du personnel, un suivi métrologique adapté....

Le logiciel qualité « Kalilab » qui est en cours d'installation nous aidera à mieux structurer notre démarche et déjà répondre à plusieurs exigences :

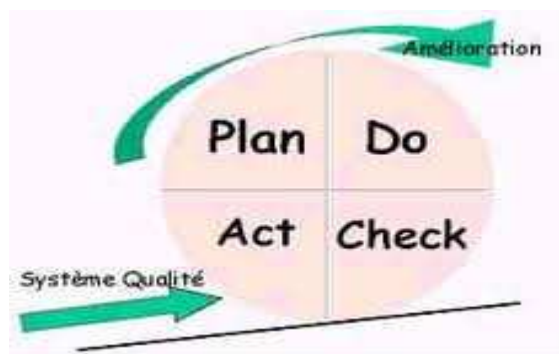
- La gestion documentaire : La maîtrise de la documentation (diffusion, suivi de lecture, revue de documents,...)
- La gestion du personnel : description des tâches, définition des responsabilités, compétences, formations, qualifications...
- La gestion du matériel : liste des équipements et produits existants et liste des examens dédiés, identification du matériel (fiche signalétique), maintenances, étalonnages..
- La gestion des achats : permet de gérer les fournisseurs, les produits, les lots, les stocks avec une traçabilité des commandes, réception, stockage et utilisation des réactifs et consommables.
- La gestion de CIQ et CEQ : traçabilité des résultats des CIQ et des comparaisons inter-laboratoires / évaluation externe de la qualité. Traçabilité des mesures correctives en cas de non conformités constatées.

La bactériologie "sans papier", où la feuille de suivi d'un échantillon sera remplacée par une saisie informatique à chaque poste technique en temps réel, à l'aide d'un équipement et d'un logiciel dédiés, permettra d'harmoniser les résultats par une standardisation des réponses.

Consciente de l'impossibilité d'ouvrir tous les chantiers en même temps, et pour une action efficace, j'ai voulu fixer des objectifs accessibles, pertinents, compréhensibles et acceptés par tous pour débiter. Mon plan d'action, en premier lieu et pour ce travail de mémoire, concernera la méthode décrite.

Les moyens de maîtrise à suivre, quant à eux, concerneront le support documentaire, la maîtrise des limites de performances analytiques, la phase post-analytique ainsi que la retranscription et l'exploitation des résultats.

III. Élaboration d'un plan d'action pour la méthode : Outil PDCA



1-Objectifs : Préparer / To Plan

- Maîtrise du système documentaire de la méthode.
- Maîtrise des limites des performances analytiques :
 - CIQ : mise en place et suivi d'un CIQ pour :
 - L'identification bactérienne de NG.
 - L'antibiogramme par diffusion et E-test.
 - CEQ et CIQ :
 - Traçabilité des résultats.
 - Traçabilité des mesures correctives prises.
- Maîtrise de la validation analytique : traçabilité de la validation analytique.
- Maîtrise de la phase post analytique :
 - Conservation et gestion des souches.
 - Sécurité de la retranscription des résultats.
 - Procédure de validation biologique.
 - Procédure de transmission des comptes-rendus.

2- Réalisation : Développer / To Do

Pour chaque objectif, déterminer une action avec un responsable, un ou des acteurs, des moyens, un échéancier :

Objectif	Action	Responsable	Acteurs	Moyens	Echéancier
Mise à jour Procédure CNR	Rédaction d'une procédure CNR incluant les CQ	Biologiste responsable CNR	Biologiste responsable CNR + Technicienne	- Rédiger une nouvelle procédure complète CNR en se basant sur la procédure existante, et en rajoutant le traitement des CQ. - A inclure et diffuser dans kailib	Sept 2011
Mise à jour des fiches fournisseur	Revue des fiches fournisseurs pour les réactifs : Api NH, RapidNH, disques ATB, Etest, disques oxydase, géloses chocolat PVX.	Biologiste responsable CNR	Stagiaire qualité	- Demander aux fournisseurs des réactifs leurs fiches sécurité produits. - Vérifier les versions en cours des fiches analytiques et noter leurs dates de mise en service.	Oct. 2011
Données bibliographiques accessibles	Recueil des données bibliographiques	Biologiste responsable CNR	Biologiste responsable CNR	- Classer tous les documents concernant le CNR : publications du labo, documents SFM/EUCAST, REMIC, document HAS - Les mettre à disposition du personnel	Oct. 2011
Mise en place d'un CIQ :	Mise en place s'un CIQ pour : - <u>Coloration de gram</u> : CQ fournisseur 1/semaine	Biologiste responsable CNR	Technicienne	- Passer le CQ fournisseur pour le colorateur Aerospray 1/semaine.	Dès Sept 2011
Identification bactérienne	- <u>Test à l'oxydase</u> : Passage bimensuel de deux souches de référence ATCC	Biologiste responsable CNR	Biologiste responsable CNR	- Commander les souches ATCC <i>P. aeruginosa</i> (27853) pour (oxydase+) et <i>E. coli</i> (25922) pour (oxydase-).	Sept 2011
			Technicienne	- Une fois par an : subculture de la souche de référence et aliquotes à -80°C.	Une fois/an
			Technicienne	- Passage bimensuel d'un aliquote de chaque.	Dès oct. 2011
	- <u>Galerie Api NH et rapidNH</u> : Passage d'une souche de référence à chaque changement de lot.		Technicienne	Souche (OMS QA10). Aliquotes à -80°C	Dès oct. 2011

Objectif	Action	Responsable	Acteurs	Moyens	Echéancier
Mise en place d'un CIQ : Antibiogramme	Mise en place s'un CIQ pour : -Géloses, Disques d'ATB et Bandelettes E test ; passage bimensuel d'une souche de référence en diffusion et Etest	Biologiste responsable CNR	Technicienne	-Souche (OMS QA10) Aliquotées à -80°C	Dès oct. 2011
Suivi du CIQ et CEQ : Identification bactérienne et Antibiogramme	- Assurer le suivi et la traçabilité des résultats. - Assurer le suivi et la traçabilité des mesures correctives prises le cas échéant.	Biologiste responsable CNR	Biologiste responsable CNR	- Définir les limites d'acceptabilité : diamètres d'inhibition, CMI. - Tracer: date, type, lot, résultats dans kallilab. -Si mesures correctives, tracer la correction et son suivi dans kallilab.	Dès oct. 2011
Maîtrise de la validation analytique	- Assurer la traçabilité de l'identification bactérienne.	Biologiste responsable CNR	Technicienne	- Imprimer les comptes-rendus de lecture ApiNH, y inscrire les résultats de l'oxydase et les agraffer aux feuilles de travail. - Mentionner les initiales des technicienne(s) réalisant la validation analytique sur la feuille de travail.	Dès août 2011
Maîtrise de la phase post analytique	- Rédiger une procédure de conservation et gestion des souches. - Assurer la sécurité de la retranscription des résultats. - Rédiger une procédure de validation biologique. - Rédiger une procédure de transmission des comptes-rendus.	Biologiste responsable CNR	Technicienne Biologiste responsable CNR	-Décrire la conservation et des souches en cryobilles et leur classement. -Vérifier la saisie manuelle sur le SIL des résultats de l'identification et antibiogramme : double lecture - Décrire les étapes de validation biologique (paillasse, SIL) avec les critères d'interprétation CASFM/EUCAST. - Décrire les mentions figurant sur les CR et le délai de rendu	Sept 2011 Dès août 2011 Nov. 2011

3-Évaluation : Comprendre / To Check

La qualité va reposer sur des actions *a priori* destinées à *s'assurer* que les points critiques (M) sont bien analysés. Mais aussi sur des actions *a posteriori* permettant de contrôler le processus complexe qu'est l'analyse de bactériologie (mise en place d'indicateurs). Pour vérifier l'avancement du plan, une cellule de pilotage a été créée. Elle est formée du biologiste responsable CNR, la stagiaire qualité et moi-même. Le but principal est de faire un suivi mensuel de l'évolution des actions. Deux indicateurs d'avancement sont créés pour vérifier la cohérence des actions par rapport aux objectifs :

- Nombre de résultats CIQ antibiogrammes intégrés dans kalilab au bout de trois mois.
- Présence d'initiales de techniciennes effectuant la validation analytique sur les feuilles de travail : feuilles avec initiales / total feuilles. Évaluation sur une semaine.

4-Mesures correctives : Agir / To Act

Communiquer sur le suivi me semble indispensable. Si des retards à l'avancement du plan sont détectés, les responsables seront avertis pour corriger et adhérer au mieux au plan.

C- CONCLUSION

Le laboratoire de l'IAF gérant le Centre National de Référence (CNR) pour les gonocoques, le but de ce travail était d'adhérer à la démarche qualité pour le CNR en première instance.

Après l'identification des facteurs les plus susceptibles d'influencer le résultat des mesures (analyse de risque 5M), l'objectif était de maîtriser ceux ayant l'influence la plus significative. Cette analyse a permis de dégager plusieurs axes de travail. L'accompagnement par « Bioqualité », l'installation d'un logiciel qualité et par la suite la bactériologie « sans papier » apporteront une aide précieuse à plusieurs des exigences détectées. Pour développer le plan d'action, j'ai voulu commencer par la maîtrise de la méthode et de ses implications : la gestion documentaire, les CQ, la validation analytique et la phase post-analytique. Deux indicateurs sont mis en place pour contrôler le processus.

Cette évaluation ainsi que la mise en place d'un plan d'action ont été très bénéfiques pour le laboratoire. Ils ont permis d'approfondir les exigences de la norme, notamment le chapitre 5, de se situer par rapport à ses exigences et de choisir un axe de travail de départ. Par la suite, et en se basant sur le travail effectué et ses résultats, cette démarche sera étendue à la bactériologie, puis à l'ensemble du laboratoire, selon les expériences acquises dans l'application des méthodologies prescrites.

BIBLIOGRAPHIE

Textes réglementaires

- (1) Ordonnance N° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. Journal Officiel de la République Française. 15 janvier 2010.
- (2) Norme ISO EN 15 189 versions 2007
- (3) GBEA : arrêté officiel du 26 novembre 1999

Documentations spécialisées et ouvrages

- (4) Dépistage et prise en charge de l'infection à *Neisseria gonorrhoeae* : état des lieux et propositions, HAS / Service évaluation économique et santé publique, décembre 2010.
- (5) Le REMIC, Référentiel en Microbiologie médicale, Société française de Microbiologie, 4^{ème} édition, 2010, Montmorency.
- (6) EVAMIC, Questionnaire d'auto-évaluation d'assurance qualité en microbiologie. Collège de Bactériologie-Virologie, Hygiène des Hôpitaux, Société Française de Microbiologie (SFM), 1998.
- (7) Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, SFBC. Ann. Biol. Clin. (2010), 68 (hors série n° 1), John Libbey Ed.
- (8) Hammad. M, PARIS. L, Accréditation en bactériologie. Retour d'expérience, Feuillet de biologie, volLII N°300-Mai 2011, 39-48.

BIBLIOGRAPHIE

Documents COFRAC

(9) **SH REF 02**, Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, 15/12/2010

(10) **SH GTA 04**, Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes de biologie médicale, 23/03/2011

(11) **SH FORM 03**, Questionnaire d'auto-évaluation - Préparation de l'évaluation sur site selon la norme NF EN ISO 15189, 01/04/2010

(12) **SH GTA 01**, Guide Technique d'Accréditation en biologie médicale, 25/07/2011

(13) **LAB GTA 06**, Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale, 01/07/2005

Sites Internet

(14) SFM, Société Française de Microbiologie, <http://www.sfm.asso.fr>

(15) Bioqualité, [www.bioqualité.fr](http://www.bioqualite.fr)

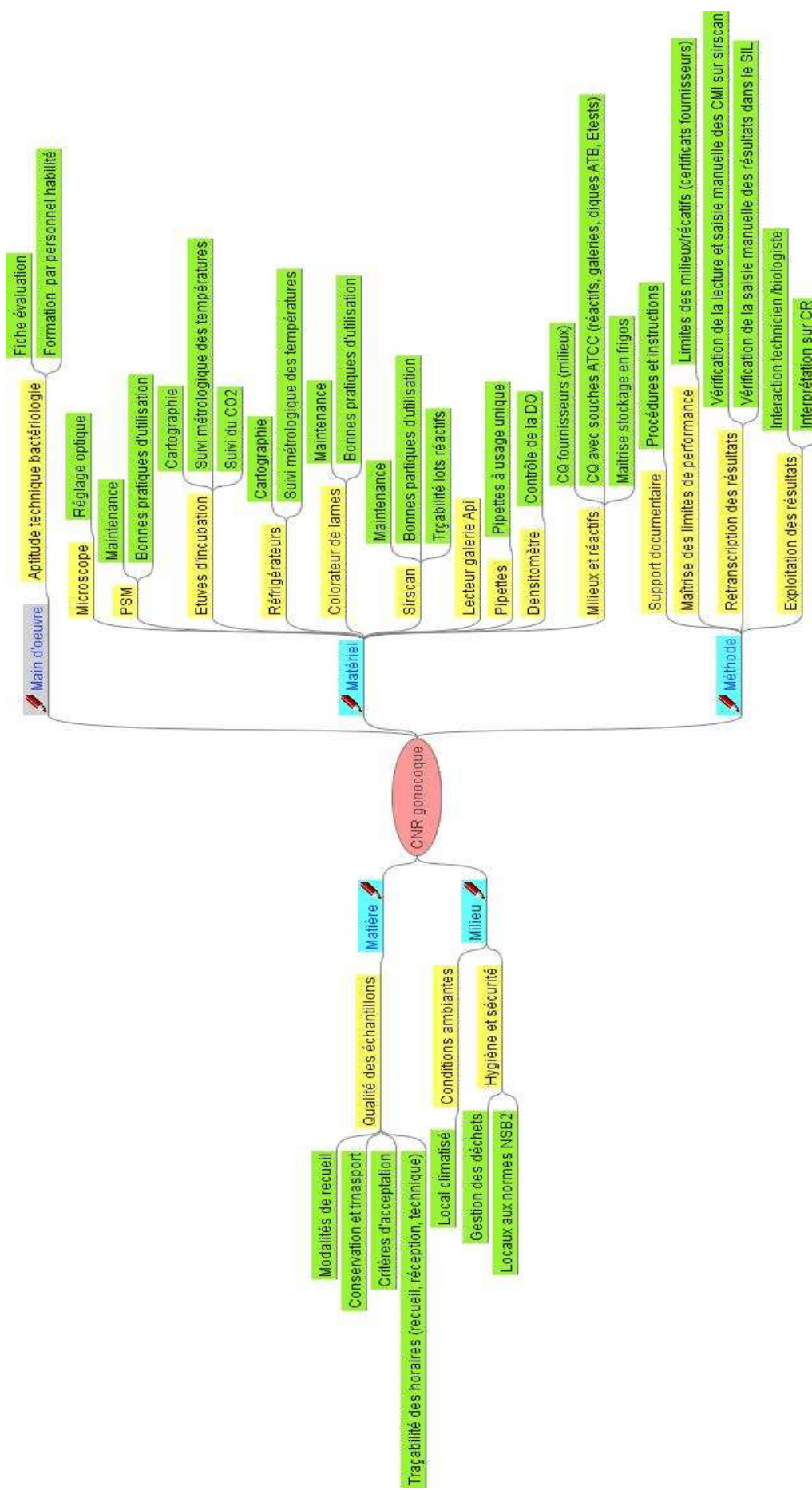
(16) Kalilab, www.netika.fr

(17) Freemind, www.freemind.com

ANNEXES

Annexe 1 : Carte heuristique : Analyse de type 5M	34
Annexe 2: Procédure : Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	36
Annexe 3: CEQ UK NEQAS** for genital pathogens	43
Annexe 4 : Fiche d'utilisation des milieux de transport pour gonocoques http://www.institutfournier.org	46
Annexe 5 : Fiche de renseignements épidémiologiques à compléter : InVS / RENAGO http://www.institutfournier.org	48

Annexe 1 :
Carte heuristique : Analyse de type 5M



Annexe 2 :
Procédure : Souches de *Neisseria gonorrhoeae*
du réseau RENAGO

Institut A. Fournier Laboratoire	Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	Date 19/05/2009	LAB/ TEC /BAC/RNG/1 Page: 1/6
-------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------	--------------------------------------

OBJET:	Techniques bactériologiques des souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du Réseau National des Gonocoques (RENAGO) reçues au Centre National de Référence des Gonocoques (CNR)
--------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

DOMAINE D'APPLICATION :
Laboratoire de Bactériologie

LISTE DE DIFFUSION:
Personnel du Laboratoire de Bactériologie

Rédigé par : N. NASSAR et M. GUY	Date : 20/05/2009	Signature
Validé par : P. Sednaoui	Date : 26/05/2009	Signature

Institut A. Fournier Laboratoire	Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	Date 19/05/2009	LAB/ TEC /BAC/RNG/1 Page: 2/6
-------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------	--------------------------------------

1 – GENERALITES

Instauré en 1986, le réseau RENAGO (Réseau National des gonocoques) repose sur un réseau de laboratoires de microbiologie volontaires répartis dans toute la France métropolitaine. L'objectif de ce réseau est d'estimer les tendances évolutives des gonococcies en France et d'étudier la sensibilité des souches de *N. gonorrhoeae* à 6 classes d'antibiotiques.

Chaque souche isolée est envoyée pour étude bactériologique au Centre National de Référence des gonocoques (CNR) qui y pratique une identification bactériologique, un sérotypage et une étude de la sensibilité aux antibiotiques.

II- REISOLEMENT DES SOUCHES (J0)

Les souches de *N. gonorrhoeae* sont envoyées dans un milieu de transport Amies-Charbon (TGV AER, Biorad) ou sur une culture datant de 24h sur gélose chocolat enrichie en Polyvitex (PVX)

A- Méthodes de repiquage

- A partir d'un écouvillon reçu dans un milieu de transport : Réaliser un Z sur chacune des géloses chocolat (PVX) et gélose chocolat sélective (VCAT) . Etirer ensuite à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.

- A partir d'un isolement sur gélose PVX : Prélever 5 colonies suspectes que l'on ensemence en formant des quadrants.

B- Conditions de cultures

Les géloses sont placées à 37°C pendant 24 à 48h, dans une étuve ayant une atmosphère chargée de 8 à 10% de CO₂.

C-Conservation des prélèvements envoyés

- L'écouvillon est replacé dans son milieu de transport.

- Si la souche a été envoyée sur gélose PVX, prélever des colonies sur un écouvillon placé dans un tube contenant un milieu de conservation. Ces écouvillons sont ensuite conservés au réfrigérateur (4°C) jusqu'au rendu des résultats et pourront être utilisés si les cultures sont négatives pour rechercher la présence du gonocoque par PCR.

Institut A. Fournier Laboratoire	Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	Date 19/05/2009	LAB/ TEC /BAC/RNG/1 Page: 3/6
-------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------	--------------------------------------

III- Identification bactériologique des cultures (J1-J2)

A- Si absence de culture au bout de 24 heures

Laisser les géloses à l'étuve 24h de plus, à 37°C et sous CO₂.

B- Si absence de culture au bout de 48 heures

Les souches sont testées en PCR . La pratique de la PCR NG (Amplicor Roche) (Cf procédure techniques de Biologie moléculaire) sur les milieux de transport adressés permet de donner rapidement une identification présomptive de la souche en cas de non remise en culture de celle-ci au laboratoire du CNR

C- Si culture poly microbienne

Repiquer une colonie suspecte (cf. description au paragraphe D) sur gélose chocolat + PVX et Chocolat + VCAT selon la même méthode que pour le repiquage en jour j0.

.D- Si Souche pure → Identification bactériologique possible

Après 24 à 48 heures d'incubation selon les conditions de cultures citées précédemment, on observe sur ces géloses des colonies moyennes (2mm), circulaires à bords réguliers, lisses et bombées, grisâtres, qui deviennent de plus en plus muqueuses et difficilement prélevables au cours du temps. Ces colonies peuvent correspondre à la famille des *Neisseria* ou des *Haemophilus*.

1-Coloration de Gram

- Réalisation d'un frottis

Faire une suspension de colonies suspectes dans une goutte d'eau physiologique et étaler sur une lame référencée avec le numéro du patient. Laisser sécher sous hotte.

- Coloration de Gram

* Déposer du violet de Gentiane sur la face de la lame où a été réalisé le frottis. Laisser agir 30 secondes. Les bactéries sont alors colorées en violet.

* Enlever l'excédent de colorant et recouvrir avec le Lugol, ce qui permet de fixer la coloration. Laisser agir 30 secondes. Cette opération est appelée mordantage.

* Enlever l'excédent de Lugol et rincer à l'eau du robinet

* verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Les bactéries dites « à gram négatif » sont alors décolorées.

* Rincer abondamment les lames à l'eau du robinet

Institut A. Fournier Laboratoire	Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	Date 19/05/2009	LAB/ TEC /BAC/RNG/1 Page: 4/6
-------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------	--------------------------------------

Réaliser une contre coloration à la Fuchsine pendant 20 secondes, ce qui colore les bactéries Gram en rose, alors que les Gram + sont restées violettes.

→ **si dipolcoques à Gram négatif → bactérie de genre *Neisseria***

→ sinon → donner la souche en PCR

2-Test à l'Oxydase

Déposer un disque imprégné de PDA sur une lame et l'hydrater avec une goutte d'eau physiologique. Puis déposer dessus une colonie.

Si coloration violette sur le disque → **La bactérie est OXYDASE + → *N. gonorrhoeae* probable**

Si pas de coloration violette sur le disque → La bactérie est OXYDASE - → donner la souche en PCR

3- Galerie API NH

- Ensemencement d'une galerie API NH

Préparer une suspension riche (équivalent à 4 Mc Farland) avec des colonies suspectes.

dans une ampoule API NAACL 0,85% Médium (2mL)

Ensemencer la galerie, les cupules soulignées doivent être recouvertes d'huile de paraffine, celles encadrées remplies entièrement de suspension bactérienne. La galerie est incubée 2h à 37°C.

- Révélation galerie

Après 2h d'incubation, Rajouter le réactif nécessaire à la réaction (Zym B ou James) et lire selon le tableau d'interprétation fourni.

Les codes 1000 et 1001 identifient le gonocoque.

Si l'identification biochimique (API NH) est positive (codes : 1000 ou 1001) → *N. gonorrhoeae*

Si l'identification (API NH) est négative (codes #1000 ou 1001) → ensemencer une galerie 4h (Oxoid)

à révéler après 4h avec NitA, NitB et indole. **Si l'identification (Oxoid) est + → *N. gonorrhoeae***

Si l'identification (Oxoid) est - → donner la souche en PCR

Institut A. Fournier Laboratoire	Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	Date 19/05/2009	LAB/ TEC /BAC/RNG/1 Page: 5/6
-------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------	--------------------------------------

IV-Étude de la sensibilité aux ATB : sur les souches identifiées *N. gonorrhoeae*

→ Deux méthodes sont utilisées en parallèle :

A-Antibiogramme : Diffusion en milieu gélosé sur chocolat PVX + 12 disques d'ATB :

Chloramphénicol, Érythromycine, Ciprofloxacine, Acide Nalidixique, Bactrim, Pénicilline G, Amoxicilline, Augmentin, Ceftriaxone, Spectinomycine, Cefalotine et Tétracycline.

- Réaliser une suspension 0,5 Mc Farland dans 9mL d'eau distillée.
- Inonder 2 gélose chocolat + PVX avec 2mL de cette suspension . Enlever l'excédent à l'aide d'une pipette pasteur.
- Laisser sécher les géloses sous la hotte de sécurité microbiologique
- Déposer ensuite les disques d'ATB grâce à deux distributeurs. Selon un ordre prédéfini
- Les deux boîtes sont incubées 24h à 37°C sous atmosphère enrichi en CO₂.

B- Détermination des CMI avec les bandelettes E-test :

- Avec le reste de la suspension à 0,5 Mc Farland utilisée pour faire les antibiogrammes, ensemercer 3 boîte chocolat + PVX à l'aide d'un écouvillon en faisant des stries serrées et en tournant la boîte de 60° de manière à recouvrir entièrement la boîte de l'inoculum.
- Déposer 6 bandelettes E test d'ATB testés : Céfixime, Tétracycline, Ciprofloxacine, Spectinomycine, Pénicilline G et Ceftriaxone (2 bandelettes / boîtes)
- Incuber 24h à 37°C sous 8% de CO₂.

C- Lecture des résultats :

Tous les résultats sont lus, interprétés et enregistrés par un système expert (SIRSCAN 2000, I2A). Les critères d'interprétation des résistances sont ceux élaborés par le NCCLS

V- Sérotypage des gonocoques

- Utiliser le reste de la suspension ayant servi pour ensemercer la galerie API NH qui est très riche afin de faciliter la réaction. Cette suspension est placée dans un tube conique plastique fermé.
- Placer ce cône au bain marie, 20 minutes à 100°C environ. La chaleur lyse les bactéries, rendant ainsi les antigènes membranaires accessibles pour réaliser le Sérotypage.

Institut A. Fournier Laboratoire	Souches de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> du réseau RENAGO	Date 19/05/2009	LAB/ TEC /BAC/RNG/1 Page: 6/6
-------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------	--------------------------------------

- Réaliser ensuite le typage en plaque. Les gonocoques du groupe B étant les plus nombreux, on teste en premier les anticorps monoclonaux correspondants à ce groupe (Ac monoclonaux o,p,r,s,t,u,v,x,y) puis si aucune agglutination n'est visible, on teste les Ac correspondants au groupe A (o,r,s,t,x). Une souche de gonocoque peut posséder à sa surface plusieurs antigènes d'un même groupe.

La réaction d'agglutination se fait en mettant en présence une goutte de suspension bactérienne avec 1 goutte de l'Ac monoclonal testé.

- Agiter manuellement puis sur l'agitateur jusqu'à ce qu'un réseau d'agglutination soit visible. Si la souche n'agglutine pas avec les Ac monoclonaux du groupe B, on teste ceux du groupe A.

VI- Conservation en Cryo-Bille

A-Gélose de conservation.

Chaque souche identifiée doit être conservée. Pour cela une gélose chocolat PVX est ensemencée en faisant des stries serrées et incubée 24h à 37°C sous CO₂.

B- Tubes de conservation

- Deux tubes sont référencés avec les n° du laboratoire et du système RENAGO, ainsi que la date.

- A partir de la culture sur gélose pour conservation, ensemencer les 2 tubes cryobilles

- Dissocier les bactéries et vortexer pour homogénéiser et permettre aux bactéries d'adhérer aux billes.

- Retirer le surnageant de la solution cryo-conservatrice à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

Reboucher le tube

- Placer les tubes dans 2 congélateurs différents à -70°C (conservation sécurisée en cas de panne) .

FIN

Annexe 3:
CEQ UK NEQAS** for genital pathogens

UK National External Quality Assessment Service for Microbiology



UKNEQAS for Genital pathogens	Laboratory : 92626
Distribution : 2862	Page 1 of 2
Dispatch Date : 04-Jul-2011	ECD CGE

Intended Result	Your Report	Your Score
Specimen 0414 <i>Neisseria gonorrhoeae</i>		
Pathogen <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2
Azithromycin susceptible	susceptible	2
Beta-lactamase negative	negative	2
Cefixime susceptible	susceptible	2
Ceftriaxone susceptible	susceptible	2
Ciprofloxacin resistant	resistant	2
Penicillin intermediate	intermediate	Not scored
Spectinomycin susceptible	susceptible	2
Tetracycline susceptible	susceptible	Not scored
Specimen 0415 <i>Candida albicans</i>		
Pathogen <i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	2

Cumulative score information

Total number of specimens sent to you for **UK NEQAS for Genital pathogens [Identification]** over the last 3 distributions is 6
Specimen numbers 0007 0008 0195 0196 0414 0415 have been analysed and scored.

Number of reports returned and scored 6
Number of specimens reported as not examined (not scored) 0
Number of specimens received too late for analysis (not scored) 0
Number of specimens for which no report was received (scored as 0) 0
Your cumulative score for these specimens was 12 out of a possible total of 12

The mean score calculated from the reports returned by **ALL** laboratories was 10.11 with a standard error of 2.27.

Performance rating

Your performance rating for **UK NEQAS for Genital pathogens [Identification]** (i.e. the number of standard errors by which your cumulative score lies above or below the mean for **ALL** laboratories) is 0.83.

Antimicrobial susceptibility testing

Total number of specimens sent to you for **UK NEQAS for Genital pathogens [Susceptibility]** over the last 3 distributions was 5
Specimen numbers 0007 0008 0195 0196 0414 have been analysed and scored
Your cumulative score for the specimen/test combinations that you reported was 60 out of a possible 60
The mean score calculated from the reports returned by **ALL** laboratories testing the specimen/test combinations you examined was 57.31 with a standard error of 2.81

Performance rating

Your performance rating for **UK NEQAS for Genital pathogens [Susceptibility]** (i.e. the number of standard errors by which your cumulative score lies above or below the mean for **ALL** laboratories) is 0.96.

A performance rating of more than 1.96 standard errors below the mean indicates possible poor performance.

Performance ratings may change if other participants' results are amended.

Turn around time, web users only: The time taken to report your results was 7 days. This information is provided for your own use and does not form part of your performance assessment.

Comment

Specimen 0414: This specimen contained a strain of *Neisseria gonorrhoeae*. Participant performance for identification of the organism was very good with 94% (67/71) of participants reporting the correct result. Antimicrobial susceptibility testing results were not scored for penicillin and tetracycline as there was less than 80% participant concordance with the intended result. There were no problems with testing for the remaining antibiotics.

Specimen 0415: This specimen contained a strain of *Candida albicans*. A good performance where 89% (65/73) of participants achieved a fully correct result. Of the remaining participants, four reported a yeast isolated, and four returned a negative result.

Enquiries

Repeat specimens can be obtained by fax +44(0)20 8205 1488 or email organiser@ukneqasmicro.org.uk Please state your laboratory number, distribution number and type, and specimen number/s.
Any technical enquiries related to this distribution, please contact Shila Seaton using the email address above. In-house test results are available should you experience a technical failure and wish to discuss the results.
Digital images of the results obtained in UK NEQAS with this distribution are available on our secure website; click on the DIST button to access intended results, images and any additional comments; usually available on the day following the closing date.

Report authorised by: Christine Walton, Scheme Organiser

UK National External Quality Assessment Service for Microbiology



UKNEQAS for Genital pathogens	Laboratory : 92626
Distribution : 2862	Page 2 of 2
Dispatch Date : 04-Jul-2011	ECDCGE

Specimen : 0414 HVS: Purulent discharge. The presence of significant pathogens was queried. The specimen contained *Neisseria gonorrhoeae*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Streptococcus mitis*.

	All(%)	Score	Unexpected pathogen: <i>Enterococcus faecalis</i>
Unexpected pathogen	1 (1.4)	-1	
Negative result	2 (2.8)	0	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	67(94.4)	2	Incorrect species: <i>N.cinerea</i> 0(1)
Incorrect <i>Neisseria</i> sp.	1 (1.4)	0	
		71	

Specimen : 0415 HVS: Recurrent thrush. The presence of significant pathogens was queried. The specimen contained *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*.

	All(%)	Score
Negative result	4 (5.5)	0
Unnamed <i>Candida</i> sp.	17(23.3)	2
<i>Candida albicans</i>	48(65.8)	2
Unnamed yeast	4 (5.5)	0
		73

Specimen : 0414

Antimicrobial agent	Correct result	MICs in mg/L Ref. Labs		No. of laboratories reporting as			% of Laboratories with correct result FR (All)
		1	2	S	M/I	R	
Azithromycin	susceptible	0.023		30	0	0	100
Beta-lactamase	negative	Neg		64	0	8	88.9
Cefixime	susceptible	0.094		27	0	2	93.1
Ciprofloxacin	resistant	1.5		2	0	43	95.6
Ceftriaxone	susceptible	0.016		33	0	4	89.2
Penicillin	intermediate	0.125		4	29	7	72.5
Spectinomycin	susceptible			26	0	0	100
Tetracycline	susceptible	0.19		25	8	2	71.4

Annexe 4 :
Fiche d'utilisation des milieux de transport
pour gonocoques

<http://www.institutfourmier.org>

RESEAU NATIONAL GONOCOQUE

RENAGO

Utilisation des Milieux Transport pour Gonocoques

Les milieux de transport doivent être conservés au réfrigérateur s'ils ne sont pas utilisés immédiatement.

La date limite de validité est indiquée sur le tube.

Il est préférable de réchauffer les milieux de transport avant leurs ensemencements en les plaçant au préalable quelques minutes à la température du laboratoire.

La souche de gonocoque doit être impérativement repiquée avant l'envoi sur une gélose chocolat supplémentée en isoVitalax et incubée pendant 18-24 heures à 37°C sous 5 à 10% de CO₂.

Nous vous demandons de ne pas nous adresser les réisolements qui ont plus de 24 heures.

La totalité de la culture doit être recueillie à l'aide de l'écouvillon coton fourni avec le milieu de transport. Cet écouvillon devra être piqué au centre du milieu gélosé.

Casser le manche en bois de l'écouvillon de façon à ce que l'écouvillon demeure dans le milieu gélosé durant son transport.

Expédier immédiatement le tube à l'Institut Alfred Fournier en utilisant les services du transporteur spécial mis à votre disposition par l'InVS. La prise en charge de ce transport est uniquement proposée pour les laboratoires qui participent volontairement au réseau RENAGO.

La société de transport vous fournira la boîte dans laquelle vous placerez votre tube ainsi que la fiche d'identification. Ceux-ci devront être obligatoirement identifiés à l'aide des étiquettes d'anonymat fournies par l'InVS.

Afin d'éviter tout retard dans la transmission de votre souche, nous vous demandons de faxer votre demande d'enlèvement la veille du jour de passage et avant 17h00.

La durée habituelle du transport est de 24h.

Nous vous demandons de ne pas nous envoyer des souches de gonocoque les vendredis ou les veilles de jours fériés (pas de dépôt à l'IAF le samedi ou jours fériés).

Annexe 5 :
Fiche de renseignements épidémiologiques
à compléter : InVS / RENAGO
<http://www.institutfourmier.org>

Code Laboratoire :

RENAGO

Année : Mois :

IMPORTANT
Coller ici l'étiquette InVS fournie
Ne pas oublier de coller la 2^{ème} étiquette sur le tube
contenant la souche

Fiche de renseignements épidémiologiques à compléter

Sexe : Masculin <input type="checkbox"/> Féminin <input type="checkbox"/>		Age ou Date de naissance : JJ MM AAAA					
Date du prélèvement : JJ MM AAAA		Date d'envoi de la souche au Centre de référence : JJ MM AAAA					
Sites de prélèvements (case à cocher, plusieurs choix possible) <input type="checkbox"/> Urètre <input type="checkbox"/> Col Vagin <input type="checkbox"/> Anus <input type="checkbox"/> Pharynx <input type="checkbox"/> Autre(s), précisez :		Motifs du prélèvement : Symptomatologie clinique <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Ne sait pas Partenaire infecté : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Ne sait pas					
I.S.T. associées ? <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Ne sait pas Si OUI, lesquelles ?		Lieu de contamination ? France métropolitaine? <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Ne sait pas Si NON, précisez le pays :					
Technique d'identifications positives : <input type="checkbox"/> Culture <input type="checkbox"/> Direct <input type="checkbox"/> Enzymo <input type="checkbox"/> Hybridation moléculaire <input type="checkbox"/> Amplification génique (PCR)		Recherche β Lactamase : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Ne sait pas Si oui, résultats : <input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N					
Médecin prescripteur : <input type="checkbox"/> Généraliste <input type="checkbox"/> Dermatologue <input type="checkbox"/> Gynécologue <input type="checkbox"/> Proctologue <input type="checkbox"/> Urologue <input type="checkbox"/> Urgentiste <input type="checkbox"/> Autre, Précisez :		Structure : <input type="checkbox"/> Cabinet privé ou Clinique <input type="checkbox"/> Service hospitalier <input type="checkbox"/> CIDDIST - Planning familial <input type="checkbox"/> autre, précisez :					
Nom du médecin prescripteur :							
Code postal : <table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 25%;"></td> <td style="width: 25%;"></td> <td style="width: 25%;"></td> <td style="width: 25%;"></td> </tr> </table>							

Envoyer la souche et cette fiche à l'adresse suivante via TSE :

RÉSUMÉ

L'analyse bactériologique est un processus complexe à tous les niveaux. Ceci est essentiellement lié aux contraintes de la technologie de la culture bactérienne. Son Assurance Qualité nécessite une analyse soigneuse et précise pour définir et assumer toute la complexité du processus.

Le travail présenté a pour but de mettre en conformité les pratiques du Centre National de Référence (CNR) des Gonocoques, intégré au secteur bactériologie du laboratoire de l'Institut Alfred Fournier (IAF), avec la réglementation et les normes en vigueur (Norme 15189).

Dans un premier temps, les facteurs susceptibles d'influencer les résultats du CNR (identification et antibiogramme de *Neisseria gonorrhoeae*) ont été identifiés et classifiés. Pour ce faire, une analyse de risque de type 5M (Méthode, Main d'œuvre, Matériel, Matière, Milieu) a été élaborée. Pour chaque M, les facteurs qualifiés les plus significatifs ont été comparés selon l'existant et les moyens de maîtrise à développer. Faisant suite à cette analyse, un plan d'action concernant la méthode a été développé pour établir le normatif et d'assurer sa rigueur aux nouvelles normes.

Cette évaluation a ainsi permis de dégager des pistes de travail pour avancer la démarche qualité et la mise en application de la norme 15189 au sein du CNR en première instance, pour ensuite l'étendre au secteur bactériologie puis à l'ensemble du laboratoire par la suite.