

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

Accréditation en Bactériologie :
L'examen cytologique urinaire

ARSENE Stéphanie

2012-2013

Note au lecteur :

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.

ARSENE Stéphanie

Pharmacien Biologiste

Laboratoire St Martin-Novescia

18 rue des Roquemonts

14000 CAEN

s.arsene@novescia.fr

Remerciements

Merci à l'ensemble de l'équipe du laboratoire, et plus particulièrement à Sonia, Nathalie, Cloé et Isabelle, pour leur participation à ce travail,

Merci à M. et Mme Gué, qui ont rendu ce DU possible,

Merci à mes proches, qui m'ont soutenue et accompagnée.

SOMMAIRE

I-	Introduction	7
II-	Présentation de l'étude	8
	1- Présentation de la structure	8
	2- Présentation de la politique qualité du laboratoire	8
	3- Objectifs de l'étude	9
III-	Méthodologie mise en œuvre : 5M	10
	1- Maîtrise de la Matière : Aspect pré analytique	10
	a- Recueil des renseignements cliniques	10
	b- Maîtrise des conditions de recueil	11
	c- Maîtrise des conditions de transport	12
	d- Maîtrise des délais	12
	2- Maîtrise du Matériel	13
	3- Maîtrise du Milieu : Aspect métrologique	13
	4- Maîtrise de la Méthode	13
	a- Mise en place d'un CIQ	13
	b- Vérification de la méthode	14
	5- Maîtrise de la Main d'œuvre	15
	a- Formation	15
	b- Habilitation	15
	c- Evaluation et maintien des compétences	16
IV-	Résultats	17
	1- Maîtrise de la Matière : Aspect pré analytique	17
	a- Maîtrise des conditions de recueil	17
	b- Maîtrise des délais	17
	2- Maîtrise du Matériel	18
	3- Maîtrise du Milieu : Aspect métrologique	19
	a- Température de la pièce	19
	b- Température des enceintes thermiques	19
	c- Conditions de stockage des milieux d'ensemencement	19
	d- Gestion des dates de péremption	20
	4- Maîtrise de la Méthode	20
	a- Mise en place d'un CIQ	20
	b- Evaluation de la répétabilité	21
	c- Evaluation de la reproductibilité	22
	d- Evaluation de la justesse	23
	5- Maîtrise de la Main d'œuvre	23
	a- Formation	23
	b- Habilitation	24
	c- Evaluation et maintien des compétences	24
V-	Analyse et interprétation	25
VI-	Conclusion	27
VII-	Bibliographie	28
	Annexes	29

GLOSSAIRE

CHP : Centre Hospitalier Privé

CIQ : Contrôle Interne de Qualité

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CRF : Centre de Réadaptation Fonctionnelle

CV : Coefficient de Variation

ECBU : Examen Cyto Bactériologique Urinaire

ED : Examen Direct

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

PSM : Poste de Sécurité Microbiologique

SIL : Système Informatique du Laboratoire

T° : Température

I- Introduction

Le 30 mai 2013, la loi portant la réforme de la biologie médicale a été promulguée, ratifiant l'ordonnance du 13 janvier 2010 qui rend obligatoire l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 pour les Laboratoires de Biologie Médicale ^(1,2). L'entrée dans la démarche d'accréditation devait se faire pour l'ensemble des LBM avant le 31 mai 2013, selon l'arrêté du 17 octobre 2012 ⁽³⁾, et la totalité de leur activité devrait être accréditée d'ici 2020.

Le LBM St Martin, situé à Caen, est un laboratoire polyvalent, rattaché à une clinique chirurgicale, le Centre Hospitalier St Martin. La demande d'accréditation a été faite en octobre 2012 pour les familles d'Hématologie, d'Immuno-Hématologie et d'Hémostase. De nombreux ECBU étant réalisés au laboratoire, dans le cadre des bilans préopératoires et des diagnostics d'infections urinaires, il semblait intéressant d'accréditer cet examen, le premier de la famille de Bactériologie. L'examen cytologique urinaire en constitue la première étape.

L'objectif de cette étude est de constituer le dossier nécessaire à la demande d'accréditation de l'examen cytologique urinaire, en méthode manuelle car le laboratoire ne dispose pas d'automate de cytométrie urinaire. Pour cela, une analyse des risques sera réalisée, selon la méthode des 5M : les risques associés à la Matière, au Matériel, au Milieu, à la Méthode et à la Main d'œuvre seront étudiés. Les moyens mis en place pour maîtriser ces risques, et les résultats obtenus, seront détaillés.

Une analyse des conditions de recueil et des délais pré analytiques sera effectuée, ainsi que la formation et l'habilitation du personnel, la mise en place d'un contrôle interne et d'un contrôle interne externalisé. Le dossier de vérification de méthode, comportant une étude de la répétabilité, de la reproductibilité et de la justesse, sera réalisé pour le comptage manuel des leucocytes et des hématies, qui constituent la partie quantitative de l'examen cytologique urinaire.

A l'issue de ce travail, la demande d'accréditation de l'examen cytologique urinaire devrait pouvoir être déposée au COFRAC, sous la forme de 2 formulaires SH FORM : un SH FORM 43 ⁽⁴⁾ pour l'analyse quantitative des leucocytes et des hématies, et un SH FORM 44 ⁽⁵⁾ pour l'analyse qualitative des cellules, cylindres, cristaux et bactéries.

II- Présentation de l'étude

1- Présentation de la structure

Le laboratoire St Martin se situe au sein du Centre Hospitalier Privé St Martin, centre privé de chirurgie situé dans la région Basse-Normandie, à Caen. Ce centre dispose d'une capacité d'accueil de 220 lits d'hospitalisation, et de 47 places de chirurgie ambulatoire. De nombreuses spécialités chirurgicales sont représentées : chirurgie cardiaque, digestive, orthopédique, gynécologique, urologique, vasculaire, neurochirurgie, chirurgie de la main, chirurgie plastique, ophtalmologie. On retrouve également des spécialités médicales : soins intensifs cardiologiques, gastroentérologie, dermatologie, pneumologie, un service d'hémodialyse et un service d'urgences. Il réalise environ 28 000 hospitalisations par an, 11200 séances d'hémodialyse et 27000 patients sont accueillis dans l'unité des urgences.

2- Présentation de la politique qualité du laboratoire

Le laboratoire a été ouvert au sein du CHP St Martin en 1997. Ouvert 7j/7, 24h/24, il réalise les examens du CHP St Martin, ceux du Centre de Réadaptation Fonctionnelle (CRF) situé à proximité, ainsi que ceux des patients externes, prescrits soit en consultations externes au CHP St Martin, soit par tout autre médecin de l'extérieur.

Le personnel est composé de 6 secrétaires, 16 techniciennes, 4 infirmières et 4 biologistes. Le rôle des infirmières est de prélever l'ensemble des bilans des services, et de les acheminer au laboratoire. Elles sont donc particulièrement sensibilisées aux exigences pré analytiques. Les techniciennes sont toutes polyvalentes. Les biologistes sont polyvalents, mais présentent chacun leur spécialité, la mienne étant la microbiologie.

Depuis son ouverture, le laboratoire est impliqué dans une démarche qualité active. Il a obtenu la Certification selon la norme ISO 9002 en 2000, puis la Certification selon la norme ISO 9001 en 2002, qui a depuis été renouvelée tous les 3 ans, le dernier renouvellement datant de 2012.

De plus, le laboratoire a obtenu la Qualification BioQualité en 2010, qui a été renouvelée en 2013.

Enfin, le laboratoire a déposé sa demande d'entrée dans la démarche d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 auprès du COFRAC en octobre 2012. L'évaluation initiale est prévue en octobre 2013. La demande d'accréditation concerne les familles suivantes : Hématocytologie (NFS et frottis manuel), Hémostase (TP, TCA, Fibrinogène) et Immuno-Hématologie (Groupes Sanguins et Recherche d'Agglutinines Irrégulières).

La politique Qualité de l'année 2013 concerne principalement la constitution des dossiers pour d'autres portées d'accréditation, en particulier pour l'examen cytologique urinaire.

3- Objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est d'accréditer l'examen cytologique urinaire selon la norme NF EN ISO 15189. Ce projet permettra de mettre en application les différentes notions abordées lors du DU d'Assurance Qualité, en utilisant plus particulièrement l'approche des « 5M ». En effet, cette approche est celle qui permettra au mieux de réaliser l'analyse de maîtrise des risques des formulaires SH FORM du COFRAC. La maîtrise du processus pré analytique, la vérification de méthode, la formation et l'habilitation du personnel, sont autant de points critiques à maîtriser lors de la réalisation de cet examen.

Le laboratoire réalise environ 5000 ECBU par an, dans le cadre des bilans pré opératoires et dans le cadre des diagnostics d'infections urinaires, soit communautaires (patients externes, service des urgences) soit liées aux soins (services de la clinique, CRF).

L'accréditation de l'examen cytologique urinaire constitue la première étape de l'accréditation de l'ECBU dans son ensemble. Les autres portées concernées seront : la recherche et l'identification de germes bactériens, en méthode manuelle après coloration (GRAM) et en méthode automatisée (galeries d'identification), et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, en méthodes manuelle et automatisée.

La validation biologique, associée à l'interprétation et à la prestation de conseils, ne sera pas traitée dans cette étude, car elle intervient lors de la finalisation du dossier, après l'étape de culture bactérienne. Cette étude va donc se concentrer sur la première étape de l'ECBU, à J0, qui va de l'émission de l'urine au rendu du résultat de l'examen direct.

III- Méthodologie mise en œuvre : 5M

Le diagramme d'Ishikawa est un diagramme représentant l'ensemble des risques à maîtriser lors du processus analytique. Il décompose ces risques en 5 grands domaines : les risques associés à la Matière, au Matériel, au Milieu, à la Main d'œuvre et à la Méthode. Il est classiquement représenté en « arête de poisson ».

Ce type d'analyse permet de réfléchir de manière complète et structurée aux moyens à mettre en œuvre pour maîtriser ces risques. Cette approche a été choisie dans cette étude car elle s'applique très bien au déroulement de l'analyse de l'examen direct urinaire, et c'est celle qui s'approche le plus de la démarche demandée dans les formulaires d'accréditation. Cette analyse des risques, appliquée à l'examen cytologique urinaire, est présentée ci-dessous : elle fait figurer les différents points critiques à maîtriser, ainsi que les initiales des personnes impliquées dans l'étude.

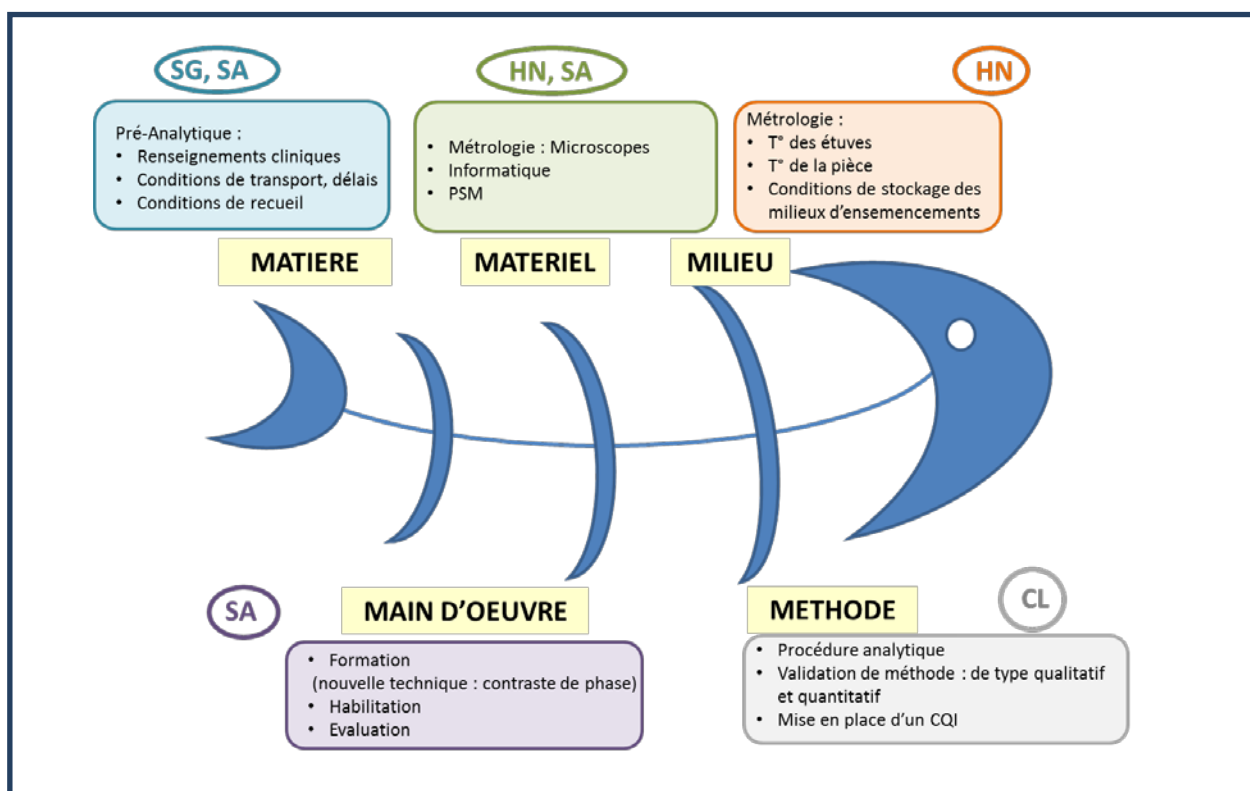


Diagramme d'Ishikawa : Analyse des 5M appliquée à l'examen cytologique urinaire

1- Maîtrise de la Matière : Aspect pré analytique

a-Recueil des renseignements cliniques :

Le recueil des renseignements cliniques est primordial pour pouvoir effectuer une interprétation correcte de l'ECBU. Pour cela, un questionnaire est remis aux patients externes qui viennent faire leur analyse d'urine au laboratoire (Annexe 1). Les patients le

remplissent sur place, puis le remettent aux secrétaires pour qu'il soit associé au dossier jusqu'à la finalisation de l'ECBU.

Pour les patients hospitalisés et le CRF, le recueil de renseignements cliniques, plus succinct, se fait sur le bon de demande. Le personnel soignant peut préciser :

- s'il existe des signes infectieux
- si un traitement antibiotique est en cours
- s'il s'agit d'un prélèvement systématique
- l'origine de l'urine (2^{ème} jet, sondage,...)
- et éventuellement le résultat de la bandelette urinaire si elle a été réalisée dans le service.

Pour les urgences, le motif de consultation aux urgences est souvent mentionné sur la fiche administrative (cystite, douleurs lombaires,...), il est alors saisi dans le SIL.

b-Maîtrise des conditions de recueil :

Les urines sont recueillies sur des flacons stériles sans borate.

Le Guide du préleveur est distribué à tous nos partenaires (services de la clinique, service des urgences, CRF), et devrait bientôt être disponible sur un site internet. Ce manuel précise les conditions d'aseptie nécessaires au recueil, les conditions de recueil des urines de 2^{ème} jet, sur poches pédiatriques, sur sonde. Il précise également le volume minimal à recueillir.

Pour les patients externes effectuant le recueil au laboratoire, des fiches explicatives sont affichées dans les toilettes, et sont expliquées oralement au patient avant le prélèvement.

L'indicateur de la qualité du recueil est le nombre d'urines non contaminées par la flore génitale. Quand elles sont contaminées, on retrouve en culture 3 types de germes ou plus, on parle alors de flore polymorphe. Dans ce cas-là, on ne réalise pas d'antibiogramme, et un ECBU de contrôle est demandé. Il nous a semblé intéressant de rapporter le nombre de flores polymorphes au nombre d'urines considérées comme non infectées (antibiogramme non réalisé), et qui auraient donc dues être rendues stériles si les conditions d'aseptie avaient été maîtrisées.

c-Maîtrise des conditions de transport :

* Dans le Guide du préleveur, il est précisé : « Transport rapide au laboratoire inférieur à 30 minutes à température ambiante, sinon, conservation tolérée de quelques heures au réfrigérateur »

Les urines sont transportées à T° ambiante. Il n'y a pas de suivi des T° de transport au sein de la clinique, car les délais d'acheminement sont très courts, grâce aux infirmières dédiées au laboratoire.

* Pour les ECBU des patients externes : les urines sont majoritairement émises au laboratoire, il n'y a donc pas de transport. Rarement, quand les urines sont émises à domicile, l'heure d'émission est précisée dans le dossier. Si les conditions de recueil n'ont pas été respectées, ou si les délais de transport sont dépassés, une non-conformité est enregistrée sur le dossier. Si cela est possible (traitement antibiotique non commencé), il est demandé au patient de recommencer le recueil sur place, dans les bonnes conditions.

* Pour les patients du CRF : la durée et la T° de transport sont suivies grâce à des sondes (Data Logger) : Procédures PMAT METRO V2 (Métrologie) ET PMAT LOGGER V1 (Procédure d'utilisation des Data Logger). Des fiches de non-conformité sont rédigées si la T° est dépassée, avec avis du biologiste sur l'impact de la non-conformité, et mention de la non-conformité sur le compte rendu

* Pour les ECBU des urgences : l'heure de la prescription est connue, mais il peut y avoir un décalage par rapport à l'heure d'émission. Une fois l'urine émise, le laboratoire est prévenu : le délai de transport est alors très court (Procédure « Gestion des urgences »)

d- Maîtrise des délais

Les données permettant le calcul des délais ont été compilées par la secrétaire Sonia Gosselin. Pour chaque ECBU, le délai a été mesuré entre l'heure d'enregistrement du dossier et la saisie des résultats dans le SIL.

Il existe un problème propre au CRF : les délais sont parfois très longs entre l'émission de l'urine et la prise en charge par le transporteur (urines de la veille au soir réfrigérées par exemple.) De plus, l'heure inscrite sur le bon est peu fiable: s'agit-il de l'heure de rédaction du bon, ou de la réelle heure de l'émission de l'urine ? Les délais sont donc mal maîtrisés pour ce prescripteur.

Les milieux sontensemencés en même temps que le dépôt de l'urine sur la cellule de lecture. Le délai d'ensemencement est donc équivalent au délai de lecture de l'examen direct. Lors de la réalisation de l'examen direct, les résultats sont cochés sur une feuille de

paillasse, puis scannés dans un appareil de lecture (ScanBac) qui transmet les résultats au SIL. C'est cette heure de transmission, tracée dans le SIL, qui est utilisée. Pour le service des urgences et les services de la clinique, les résultats sont aussitôt visibles sur un serveur de résultat. Pour les ED urgents, la procédure « Gestion des urgences » annonce un délai de 1h. Les recommandations du Rémic⁽⁶⁾ indiquent que sur flacon stérile, les urines ne doivent pas être conservées plus de 2h à température ambiante avant la mise en culture pour éviter la multiplication bactérienne. A défaut les urines peuvent être conservées à +4°C pour une durée maximale de 24h. Cependant, au-delà de 12h à +4°C, les leucocytes peuvent s'altérer et se grouper en amas, ce qui peut fausser les résultats. De plus, la réfrigération des urines peut provoquer une cristallisation secondaire in vitro, sans signification clinique mais pouvant gêner la lecture ⁽⁷⁾. Le délai idéal, retenu pour les ED non urgents, est donc de 2h.

2- Maîtrise du Matériel :

L'examen cytologique urinaire en méthode manuelle nécessite assez peu d'équipements : un microscope, un Poste de Sécurité Microbiologique nécessaire aux ensemencements, ainsi que l'équipement informatique. La maîtrise du matériel va donc concerner l'entretien et la vérification du Poste de Sécurité Microbiologique, l'entretien et la vérification du microscope à contraste de phase, ainsi que la vérification de l'équipement informatique et de l'intégrité de la transmission des données au SIL.

3- Maîtrise du Milieu : Aspect métrologique

La maîtrise du milieu passe principalement par la maîtrise métrologique des locaux et des équipements : T° de la pièce, T° de l'enceinte réfrigérée dans laquelle sont stockés les milieux d'ensemencement, T° de l'étuve dans laquelle sont incubés les milieux ensemencés. Ces aspects ont été étudiés avec Nathalie Hardouin, technicienne référente en Métrologie.

4- Maîtrise de la Méthode :

a-Mise en place d'un CIQ

La première étape dans la maîtrise de la méthode est la mise en place d'un contrôle interne de qualité.

Dans le Guide technique d'accréditation concernant les contrôles de qualité ⁽⁸⁾, il est indiqué: « Dans le cas où le laboratoire n'utilise qu'une technique manuelle, il pourra être procédé à une confrontation entre opérateurs (double lecture). » De plus, ce guide mentionne que les moyens de maîtrise de la cytologie urinaire manuelle sont : « la formation et l'habilitation du personnel (+++), et une corrélation inter techniciens semestrielle ou annuelle ».

Le contrôle interne a été mis en place au laboratoire sur des échantillons d'urines de patients : la technicienne au poste d'ensemencement l'après-midi lit, en aveugle, la dernière urine lue par la technicienne en poste le matin. Les résultats sont compilés dans un tableau (Annexe 2), en bas duquel figurent les critères de conformité :

* pour l'évaluation quantitative des leucocytes et des hématies : le contrôle est conforme s'il n'y a pas de modification par rapport au seuil décisionnel (< 10 000/ml ou > 100 000/ml)

* pour l'évaluation qualitative des cellules, cristaux, cylindres et bactéries : le contrôle est conforme s'il n'y a pas de discordance entre « Présence » et « Absence »

Si une discordance est observée, la technicienne prévient le biologiste, qui déclenche une non-conformité si nécessaire.

Si le CIQ est conforme en permanence, la fréquence de la double-lecture pourra être espacée, compte-tenu de ce qui est précisé dans le SH GTA 06.

b-Vérification de méthode

L'examen cytologique urinaire comporte 2 types d'évaluations : l'évaluation quantitative des leucocytes et des hématies, et l'évaluation qualitative (semi-quantitative) des cellules, cylindres, cristaux, germes et parasites. La portée d'accréditation concernée, décrite dans le SH INF 50 ⁽⁹⁾, est présentée ci-dessous :

Nature de l'échantillon biologique	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres critiques, ...)
Tout échantillon biologique d'origine humaine (*) Échantillon(s) biologique(s) d'origine humaine : urine , génital (vaginal, sperme, ...)	Recherche, identification et numération d'éléments cellulaires, germes bactériens et autres éléments	Méthode manuelle de type qualitatif et quantitatif Examen direct microscopique, avec ou sans préparation	Méthodes reconnues (A) Méthodes reconnues, adaptées ou développées (B)	Ex. Cytologie urinaire

SH INF 50 – rév. 00 – Mai 2011 Sous-domaine : Microbiologie – Famille : Bactériologie (BACTH)

Cette distinction entre méthodes manuelles quantitative et qualitative va impliquer de remplir 2 formulaires : un formulaire SH FORM 43 pour l'évaluation quantitative des leucocytes et des hématies, et un formulaire SH FORM 44 pour l'évaluation qualitative des autres éléments. Concernant l'accréditation des paramètres quantitatifs, la maîtrise de la méthode passera par une évaluation de la répétabilité, de la reproductibilité, et une approche de la justesse. L'étude de la contamination n'est pas applicable dans le cadre d'une technique

manuelle, alors qu'elle le serait dans le cadre d'une technique automatisée (cytologie urinaire par un cytomètre)

Afin d'effectuer la vérification de méthode, le laboratoire s'est procuré un Contrôle Interne de Qualité externalisé, adapté au comptage manuel des liquides biologiques, avec une comparaison mensuelle à un groupe de pairs : Cell-Chex®, Eurobio. Celui-ci comporte 3 niveaux de contrôle : 2 niveaux comportant des niveaux bas de leucocytes et d'hématies (l'un avec des cristaux d'urate monosodique, l'autre avec des cristaux de pyrophosphate de calcium) et un niveau comportant des niveaux hauts de leucocytes et d'hématies.

L'étude de la répétabilité sera effectuée par 10 lectures successives d'un même échantillon (les 3 niveaux de contrôle Cell-Chex®), par le même opérateur, au même moment.

L'étude de la reproductibilité sera effectuée par 10 lectures des 3 niveaux de contrôle Cell-Chex®, par des opérateurs différents, à des moments différents. La stabilité des contrôles Cell-Chex® une fois ouverts est de 30 jours.

L'évaluation de la justesse sera effectuée par comparaison des valeurs obtenues lors de la lecture des 3 niveaux de contrôle Cell-Chex® aux valeurs de notre groupe de pairs.

5- Maîtrise de la Main d'œuvre :

a-Formation

A l'occasion de la mise en place d'un microscope à contraste de phase, la procédure analytique de l'ECBU a été modifiée, afin d'être en conformité avec les recommandations du Rémic 2010 et à la nomenclature de Biologie Médicale. Ce travail de rédaction de la nouvelle procédure PAQ-504 V8 « ECBU » a été effectué en collaboration avec la technicienne référente en Bactériologie, Cloé Lesellier. Avant la mise en application de cette nouvelle procédure, une formation sera délivrée à l'ensemble du personnel technique, sous la forme d'un diaporama Power Point. Cette formation sera également l'occasion d'aborder la notion de « portée d'accréditation », et de présenter la mise en place d'un contrôle interne de qualité de cytologie des urines.

b-Habilitation

L'habilitation du personnel technique à rendre des ED au microscope à contraste de phase portera sur 4 items :

* la présence à la formation concernant la nouvelle procédure ECBU et le contraste de phase

* la lecture en double de 5 échantillons d'urines, avec le biologiste référent en microbiologie

* la lecture des 3 niveaux du contrôle de qualité Cell-Chex®, avec comparaison des valeurs obtenues à celles attendues

* la participation à un quizz sur le site d'Urologie « UroSurf » de l'Université de Médecine de Berne, qui consiste en un programme interactif d'apprentissage du diagnostic urinaire ⁽¹⁰⁾.

A l'issue de ces différentes étapes, le technicien sera habilité, ou non, par le biologiste à rendre des ED urinaires.

c-Evaluation et Maintien des compétences

Au cours de l'évaluation annuelle de fin d'année, un questionnaire d'autoévaluation en bactériologie est rempli par chaque technicienne, puis discuté en entretien avec le biologiste référent. L'intégration de questions concernant l'examen cytologique urinaire dans ce questionnaire permettra de faire le point avec chacune, et d'évaluer ainsi leurs compétences.

Leur participation au programme du contrôle interne externalisé, ainsi que la mise à disposition du Site Urosurf sur le PC de bactériologie (banque d'images consultable en permanence, quizz) permettront le maintien de leurs compétences.

De plus, un tableau de suivi des non-conformités en bactériologie sera mis en place parallèlement à cette étude. Ce tableau comporte notamment le suivi des ED discordants par rapport à la culture bactérienne : par exemple, l'absence de bactéries à l'ED et la présence de 10^6 cfu/ml Entérobactérie après culture sont des résultats discordants, car la limite de détection d'une bactériurie à l'ED est estimée à 10^4 cfu/ml ⁽⁶⁾. Ceci permettra de reprendre ci-besoin ces dossiers avec la technicienne concernée.

IV- Résultats

1- **Maîtrise de la Matière : Aspect pré analytique**

a-Maîtrise des conditions de recueil

La maîtrise des conditions de recueil est évaluée par le nombre de flores polymorphes rapporté au nombre d'urines considérées comme non infectées (flores polymorphes + urines stériles).

L'étude a été effectuée pour 4 types de prescripteurs : les urgences, les services cliniques, le CRF et les patients externes. Pour chaque type de prescripteurs, 100 ECBU ont été étudiés, et distingués entre : les ECBU stériles, les ECBU pour lesquels il a été réalisé un antibiogramme (évoquant une infection urinaire), et les ECBU pour lesquels il a été rendu une flore polymorphe (évoquant une contamination lors du recueil). Les résultats obtenus figurent dans le tableau ci-dessous :

	Stérile (%)	Flore polymorphe (%)	Infection (ATB fait) (%)
Urgences	54	22	24
% des urines non infectées	71	29	
Clinique	63	13	24
% des urines non infectieuses	83	17	
Au labo	42	26	32
% des urines non infectées	62	38	
CRF	35	26	39
% des urines non infectées	57	43	

Analyse des conditions de recueil : % des flores polymorphes rapporté à l'ensemble des urines non infectées

On observe que le pourcentage d'urines contaminées au moment du recueil est, par ordre croissant, de : 17% dans les services de la clinique, 29% au service des urgences, 38% au laboratoire et 43% au CRF.

b- Maîtrise des délais

Les délais entre la saisie du dossier dans le SIL et la transmission des résultats à partir du Scanbac sont présentés ci-dessous. Le délai moyen, ainsi que les délais minimum et maximum observés, sont indiqués. En comparant les délais obtenus avec ceux annoncés, le pourcentage d'ED rendus dans les délais a pu être calculé.

Services	n	Délai mini	Délai maxi	Délai moyen	Délai annoncé	Nombres d'ED rendus dans les délais	% d'ED rendus dans les délais
Urgences	16	7 min (!)	1h29	42 min	60 min	12	75%
CRF	11	17 min	7h18 (!)	2h58	120 min	6	54%
Autres	23	10 min	4h06	1h49	120 min	14	60%

Analyse des délais de rendu des résultats de l'ED en fonction des différents prescripteurs

Cette étude met plusieurs points en évidence :

* le laboratoire est capable de rendre des examens directs extrêmement rapidement : 7 minutes minimum entre la saisie du dossier et la saisie du résultat !

* les délais sont largement dépassés en ce qui concerne le CRF, avec un délai moyen de presque 3h, et seulement 54% des ED rendus dans le délai idéal de 2h. Le délai maximum observé est de plus de 7h. Cependant, les urines étant réfrigérées si elles ne sont pasensemencées rapidement, cela a peu d'impact sur la culture bactérienne, mais peut en avoir sur les leucocytes et les cristaux observés à l'ED.

* les délais sont globalement respectés au sein de la clinique : le délai moyen pour les urgences est inférieur à celui annoncé, et il est un peu supérieur pour les autres services. Cependant, le pourcentage d'ED urgents rendus dans les délais (75%) pourrait être amélioré.

2- Maîtrise du Matériel

Le matériel principal à maîtriser pour l'examen direct urinaire est bien entendu le microscope. Le fonctionnement et l'entretien du microscope à contraste de phase sont détaillés dans la procédure matérielle correspondante. Une visite de contrôle et un nettoyage sont effectués une fois par an par le fournisseur. Les rapports d'intervention sont archivés dans le logiciel Qualité du laboratoire.

De même, l'entretien du Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) est réalisé par le fournisseur, qui le vérifie une fois par an. Le rapport d'intervention est archivé dans le logiciel Qualité du laboratoire. L'utilisation et l'entretien du PSM au quotidien sont détaillés dans la procédure matérielle correspondante.

Au niveau informatique, le point important à maîtriser est l'intégrité des données transmises du ScanBac au SIL, et du SIL aux services. Pour cela, des vérifications régulières sont faites, sur quelques dossiers, en vérifiant l'intégrité des données entre :

- * le ScanBac
- * le SIL
- * le compte-rendu édité au laboratoire
- * les données transmises au serveur de résultat intranet (services des urgences et de la clinique)
- * les données transmises par liaison HPRIM (format apicrypt et PDF) aux prescripteurs concernés

Une sauvegarde des données du SIL a lieu toutes les nuits, selon la procédure « Gestion du système informatique ».

3- Maîtrise du Milieu : aspect métrologique

a-Température de la pièce

La pièce dans laquelle sont réalisés l'ED et l'ensemencement des échantillons est une pièce climatisée à $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Cette température est surveillée grâce au logiciel de surveillance Vigisurv. Un relevé des températures est effectué toutes les 15 minutes, grâce à une sonde d'ambiance, qui est elle-même vérifiée tous les ans avec une sonde étalon raccordée Cofrac. Le tracé est vérifié systématiquement 3 fois par jour. Si la température se trouve en dehors des normes définies, une alarme s'affiche sur le logiciel.

b-Température des enceintes thermiques

La surveillance de la température des enceintes thermiques est effectuée de la même manière, par l'intermédiaire de sondes de température reliées au logiciel Vigisurv :

- * les milieux d'ensemencement sont stockés dans un réfrigérateur dont la température est de $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$
- * une fois ensemencés, les milieux sont incubés dans une étuve dont la température est de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

c-Conditions de stockage des milieux d'ensemencement

Les recommandations fournies par le fournisseur dans les fiches techniques précisent que :

- * les géloses chromogéniques de type CPS se conservent à l'abri de la lumière, et se conservent entre 2 et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption. Elles peuvent être conservées 4 semaines à $15-25^{\circ}\text{C}$ dans leurs coffrets, et la durée de conservation des boîtes hors du coffret, en sachet cellophane, est de 2 semaines à $2-8^{\circ}\text{C}$. De plus, le test de robustesse montre que les milieux CPS conservent leurs propriétés après 4 semaines

passées à 15-25°C, et 2 jours à 35-39°C. Sachant que les coffrets non ouverts de géloses CPS sont conservés au réfrigérateur, que les coffrets ouverts sont conservés à T° ambiante à l'abri de la lumière, et qu'un coffret est utilisé en 1 à 2 jours, on voit que les paramètres de conservation de ces milieux d'ensemencement sont maîtrisés.

* les géloses Trypticase-Soja additionnées de 5% de sang se conservent entre 2 et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption, et peuvent être conservées hors du coffret, en sachet cellophane, 2 semaines à 2-8°C. Le test de robustesse montre que les milieux TSH conservent leurs propriétés après 136h passées à 18-25°C, et 8h à 35-39°C. Sachant que les coffrets non ouverts de géloses TSH sont conservés au réfrigérateur, et qu'un coffret de gélose TSH est utilisé en 1 jour en moyenne, on voit que les paramètres de conservation de ces milieux sont maîtrisés.

De plus, les certificats de qualité des lots de géloses utilisés sont disponibles sur le site de BioMérieux, et sont archivés au laboratoire.

d-Gestion des dates de péremption

La gestion des dates de péremption des différents milieux est maîtrisée grâce au logiciel de stock, GesStock, dont le fonctionnement est détaillé dans la procédure matérielle correspondante. Lors du déstockage d'un produit, le logiciel met un message d'alerte s'il existe un produit plus ancien en stock. En cas de dépassement de la date de péremption d'un produit, le logiciel met également un message d'alerte.

4- Maîtrise de la Méthode

a-Mise en place d'un CIQ

Le tableau de suivi du CIQ a été mis en place, et n'a pas montré pour l'instant de discordances majeures entre les lectures du matin et de l'après-midi. Les valeurs obtenues peuvent varier, du fait de la nature même de l'échantillon humain, mais sans entraîner de changements de catégorisation par rapport aux seuils cliniques. La seule différence observée sur certains échantillons est l'apparition dans l'échantillon d'urine lu l'après-midi de cristaux qui étaient absents dans l'échantillon lu le matin. Ceci s'explique par le stockage des urines au frigo après lecture, ce qui peut provoquer une cristallisation secondaire, in vitro, dénuée de signification clinique ⁽⁷⁾. Ces différences ne sont donc pas considérées comme des non-conformités, et mettent l'accent sur la nécessité d'analyser rapidement les urines après émission, sans réfrigération préalable.

b-Evaluation de la répétabilité

L'évaluation de la répétabilité a tout d'abord été effectuée sur les échantillons de contrôle Cell-Chex® : chacun des niveaux a été lu 10 fois de suite par le même opérateur au même moment (dépôt de l'échantillon dans les 10 puits d'une même lame KOVA Slide®, HYCOR).

Le CV limite acceptable a été défini grâce à une étude de Benoit Chevalier ⁽¹¹⁾ : $\pm 20\%$ pour les valeurs $< 10/\mu\text{l}$, et pour les valeurs comprises entre 10 et $100/\mu\text{l}$, et $\pm 30\%$ pour les valeurs supérieures à $100/\mu\text{l}$.

Les résultats sont présentés ci-dessous :

Leucocytes

Contrôle	Nombre	Moyenne ($/\mu\text{l}$)	Ecart-type	CV (%)	CV limite (%)	Conclusion
L1-UC	10	8	1,4	17,9	20	conforme
L1-CC	10	12	2,0	16,7	20	conforme
L2	10	82	10,7	13,0	20	conforme

Hématies

Contrôle	Nombre	Moyenne ($/\mu\text{l}$)	Ecart-type	CV (%)	CV limite (%)	Conclusion
L1-UC	10	12	2,3	18,4	20	conforme
L1-CC	10	13	3,0	23,5	20	non conforme
L2	10	112	6,2	5,5	30	conforme

Etude de la répétabilité des leucocytes et hématies sur les contrôles Cell-Chex®

Les CV obtenus sont conformes à l'objectif fixé, à l'exception de celui obtenu pour le comptage des hématies du niveau L1-CC : 23,5%, ce qui reste acceptable compte- tenu du CV limite qui est de 20%. De plus, le CV est conforme pour le niveau L1-UC, qui présente un taux similaire d'hématies.

Cependant, il est apparu au cours de cette étude que les éléments contenus dans les contrôles Cell-Chex®, en particulier les leucocytes, présentaient une morphologie particulière, peu semblable à celle des éléments observés dans les échantillons humains. Cette observation a posé un réel problème pour la suite de l'étude, car ils ne pouvaient dès lors plus servir pour l'habilitation des techniciennes. Ils ne pouvaient plus non plus servir à l'étude de la reproductibilité qui nécessitait de faire lire ces échantillons par 10 techniciennes différentes.

Une étude de la répétabilité a alors été effectuée sur 2 échantillons de patients, avec des niveaux de leucocytes et d'hématies différents : un niveau bas, inférieur au seuil de décision clinique de $10/\mu\text{l}$ et un niveau haut, supérieur au seuil de $100/\mu\text{l}$. Les résultats sont présentés ci-dessous :

Leucocytes

Echantillon	Nombre	Moyenne (/μl)	Ecart-type	CV (%)	CV limite (%)	Conclusion
Niveau bas	10	8	1,4	17,1	20	conforme
Niveau haut	10	112	25,5	22,8	30	conforme

Hématies

Echantillon	Nombre	Moyenne (/μl)	Ecart-type	CV (%)	CV limite (%)	Conclusion
Niveau bas	10	5	1,1	20,0	20	conforme
Niveau haut	10	218	38,7	17,7	30	conforme

Etude de la répétabilité des leucocytes et hématies sur les échantillons de patients

Les CV obtenus sur des urines de patients sont conformes aux données retrouvées dans la littérature. On note que ces CV sont assez importants : ceci est lié à la matrice même de l'échantillon humain, et met en évidence l'importance d'une bonne homogénéisation de l'échantillon avant lecture. De plus, le nombre de cellules comptées en technique manuelle est plus faible qu'en cytométrie, ce qui représente un inconvénient reconnu par rapport aux techniques automatisées^(6,12,13) : les CV acceptables sont d 10 % pour la leucocyturie et l'hématurie par cytométrie en flux avec un automate Sysmex UF50®⁽¹³⁾.

c-Evaluation de la reproductibilité

Compte tenu du problème posé par l'aspect morphologique des éléments du contrôle de qualité Cell-Chex®, l'étude de la reproductibilité a été réalisée sur des échantillons de patients : 2 urines, avec 2 niveaux de leucocytes et d'hématies, ont été lues par 9 personnes différentes.

Les résultats sont présentés ci-dessous :

Leucocytes

Echantillon	Nombre	Moyenne (/μl)	Ecart-type	CV (%)
Niveau bas	9	7	1,8	26,4
Niveau haut	9	44	9,2	20,9

Hématies

Echantillon	Nombre	Moyenne (/μl)	Ecart-type	CV (%)
Niveau bas	9	6	2,1	34,2
Niveau haut	9	244	41,5	17,0

Etude de la reproductibilité des leucocytes et hématies sur les échantillons de patients

Les CV obtenus pour la reproductibilité sur des urines de patients semblent acceptables, considérant les CV limites indiqués pour la répétabilité. Le CV obtenu pour le niveau bas

des hématies est assez haut, mais toutes les valeurs obtenues pour cet échantillon étaient comprises entre 4 et 9, soit inférieures au seuil décisionnel de 10/ μ l.

A titre indicatif, les CV obtenus par les participants au programme Cell-Chex® étaient de l'ordre de 23 à 28% pour les taux bas de leucocytes et d'hématies (moyenne = 9/ μ l pour chacun des paramètres), et de 10% pour le taux haut de leucocytes et d'hématies (moyenne = 95/ μ l pour chacun des paramètres). Cependant, l'analyse des résultats de ce programme montre que les éléments ont été dénombrés en cytométrie, alors qu'il est commercialisé comme : « l'unique contrôle de qualité pour le comptage manuel sur liquides biologiques »...En réalité, c'est seulement la formule des leucocytes qui est réalisée en technique manuelle, après étalement en cytopspin et coloration au MGG. Ceci rend impossible la comparaison de nos données à celles du groupe de pairs.

d- Evaluation de la justesse

La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue lors de l'étude de la reproductibilité, établie sur des échantillons de contrôle, à la valeur cible attendue, assimilée à la valeur vraie de l'échantillon testé ⁽¹⁴⁾. Cette valeur cible correspond à la moyenne des résultats obtenus avec la même méthode (groupe de pairs).

Compte tenu de l'impossibilité d'évaluer la reproductibilité, du fait de la morphologie atypique des éléments, et de l'absence d'un réel groupe de pairs, puisque les valeurs de leucocytes et d'hématies des participants ont été obtenues par cytométrie, l'approche de la justesse n'a pas pu être réalisée.

5- Maîtrise de la Main d'œuvre

a-Formation

La formation « ECBU et contraste de phase » a été délivrée entre le 21/02/13 et le 07/05/13, en quatre sessions, sous la forme d'un power-point d'une trentaine de minutes. Elle reprenait :

- * le fonctionnement et l'entretien du microscope à contraste de phase
- * les recommandations du Rémic concernant l'ECBU
- * les modifications apportées dans la nouvelle version de la procédure « ECBU »
- * une sensibilisation à la norme NF EN ISO 15189, avec la description rapide des portées d'accréditation en bactériologie et des formulaires SH FORM

* la mise en place du CIQ et du CIQ externalisé.

* un diaporama d'éléments à savoir reconnaître en contraste de phase.

Une évaluation de cette formation a été réalisée, et a montré que l'ensemble du personnel l'a trouvée « intéressante » à « très intéressante ».

b-Habilitation

Les habilitations du personnel ont été effectuées. Les différents points nécessaires à leur habilitation ont été regroupés dans une grille (Annexe 3). Les lectures en double de 5 urines ont été assez faciles à réaliser, et les résultats n'ont pas montré de discordances majeures entre les résultats obtenus par les techniciennes et par le biologiste référent.

La lecture des 3 niveaux de contrôle Cell-Chex® n'a pas pu servir à l'habilitation des techniciennes, au vu de la morphologie atypique des éléments.

Le quizz du site Urosurf était très complet, mais durait longtemps (environ 1h pour le faire en entier), ce qui a rendu sa réalisation compliquée. Il est en effet difficile pour les techniciens en poste de se libérer 1h, et pour le biologiste de se libérer 16 fois 1h. Seulement 8 des 16 techniciennes ont donc fait le quizz dans le cadre de leur habilitation. Cependant, cette réalisation conjointe était vraiment enrichissante, et a permis de nombreux échanges.

c-Evaluation et maintien des compétences

Le site Urosurf a été installé dans la rubrique « Favoris » du poste de bactériologie, pour qu'elles puissent s'y référer au besoin, la banque d'images étant très complète et de bonne qualité. Cette action rentre dans le cadre du maintien des compétences, en tant que programme de e-learning.

De plus, si des discordances sont observées lors de la lecture du CIQ, ou si des ED sont discordants par rapport au résultat de la culture bactérienne, le site Urosurf peut être un bon outil pour évaluer les compétences de la technicienne et la reformer si nécessaire.

L'évaluation du maintien des compétences va se faire grâce à l'entretien annuel de fin d'année, qui comporte un entretien spécifique pour la bactériologie. Le microscope à contraste de phase, la nouvelle procédure, la mise en place du CIQ, le suivi des délais des ED urgents, feront partie des nouveautés discutées cette année. Le suivi des ED discordants et la participation à un programme de CIQ externalisé participeront également au suivi du maintien des compétences.

V- Analyse et interprétation

Avant cette étude, nous avions un *a priori* sur les urines recueillies aux urgences et dans les services de la clinique, pour lesquelles nous pensions qu'elles étaient fréquemment contaminées. Nous avons donc envisagé de mettre en place une action de sensibilisation dans la clinique sur les conditions de recueil, en leur proposant une plaquette informative. Cette étude a montré qu'au contraire, c'est dans les services que le taux de contamination est le plus bas. Par contre, les urines du CRF ont le plus fort taux de contamination. Une action de sensibilisation, et des plaquettes informatives, vont leur être proposées.

Cependant, l'étude sur les délais montre que les délais pré analytiques sont mal maîtrisés en ce qui concerne les ECBU du CRF. Ce non-respect des recommandations est probablement en lien avec le taux important de flores polymorphes après culture. Au vu de ces 2 paramètres, nous avons proposé au CRF de recueillir les urines sur des flacons additionnés d'acide borique, qui est un inhibiteur de la croissance bactérienne. L'ED sur flacon boraté peut être réalisé dans les 48h suivant le recueil, avec conservation des urines à T° ambiante ⁽⁶⁾, ce qui évite le problème de la multiplication bactérienne et de la cristallisation secondaire. Ce changement de milieu est l'occasion de re-sensibiliser l'équipe médicale du CRF aux bonnes pratiques de recueil. Un bilan dans 6 mois sera intéressant, afin de comparer les résultats obtenus.

Un indicateur qualité va également être mis en place pour surveiller les délais de rendu des résultats de l'ED pour les ECBU urgents (Annexe 4). L'objectif est d'obtenir plus de 90% des ED urgents rendus dans un délai de 1h, annoncé dans la procédure « Gestion des Urgences ». Le calcul de cet indicateur qualité portera sur 30 ECBU urgents par trimestre. Pour les examens non urgents, il pourrait être intéressant de surveiller les délais pendant quelques mois supplémentaires, pour voir si un recueil sur flacon boraté ne se justifierait pas pour les ECBU de la clinique.

Le Milieu et le Matériel semblent bien maîtrisés. Cela s'explique notamment par les moyens mis en place au laboratoire concernant la métrologie : un prestataire externe a pris en charge toute la mise en place, l'installation du matériel, les cartographies, le logiciel de surveillance. De plus, une technicienne du laboratoire a bénéficié d'une formation sur plusieurs jours, elle est maintenant référente en métrologie, et est accompagnée dans ses tâches par le prestataire externe.

Concernant la Main d'œuvre, on voit que la formation et l'habilitation du personnel sont des paramètres primordiaux, notamment pour cet examen basé sur l'observation microscopique. Ce type d'examen nécessite en effet des connaissances, mais également de l'expérience.

Pour cela, le site Urosurf est très utile. Le quizz était trop long pour être effectué avec chacune des 16 techniciennes dans une courte période. Mais au coup par coup, soit en cas de nouveau personnel, soit en cas de réhabilitation après une absence prolongée, il peut vraiment s'intégrer dans la démarche d'habilitation.

Enfin, la vérification de méthode a permis de montrer que la quantification des leucocytes et des hématies était répétable. Mais le point véritablement intéressant aurait été de savoir si elle était reproductible, c'est-à-dire indépendante de l'opérateur. Le CIQ externalisé devait à la fois servir à l'habilitation des techniciennes, à l'évaluation de la reproductibilité et à l'approche de la justesse. Rien de cela n'a été possible, du fait de la mauvaise qualité des éléments. C'est en réalité un contrôle adapté à une quantification automatisée des leucocytes et des hématies, mais pas à une quantification manuelle. Le choix d'un autre CIQ externalisé, et/ou l'abonnement à un programme d'EEQ adapté vont être nécessaires pour terminer la vérification de la méthode.

La comparaison de méthode repose sur des données bibliographiques, elle n'a pas été vérifiée sur site. La vérification des méthodes automatisées nécessite leur comparaison à la méthode manuelle, qui reste la technique de référence ⁽¹²⁾. Il existe une bonne concordance entre ces méthodes autour de la valeur seuil de 10 GB/ μ l. Pour des valeurs supérieures à 100 GB/ μ l, les différences augmentent, mais sans entraîner de modifications d'interprétation, le seuil pathologique étant fixé à 10 GB/ μ l ⁽¹²⁾. La méthode automatisée présente des CV de répétabilité et de reproductibilité plus faibles que la méthode manuelle (d 10%) ⁽¹³⁾. Par exemple, l'étude de G. Dewulf et al. présente un CV de reproductibilité de 5,57% sur un analyseur Iris IQ®200 ⁽¹⁵⁾. Il est intéressant de noter que le groupe de pairs utilisant les contrôles Cell-Chex® sur cet analyseur obtient des CV allant de 11% (niveau haut) à 14% (niveau bas) pour les leucocytes, et de 18% (niveau haut) à 26% (niveau bas) pour les hématies (données fournies par EURO BIO). Ces données ne sont pas si différentes des nôtres, sachant que notre étude de reproductibilité a été effectuée sur des échantillons humains, qui sont moins homogènes que des échantillons de contrôles. Enfin, quand un laboratoire utilise une méthode automatisée, il faut préciser que des contrôles microscopiques s'imposent pour certains échantillons positifs, ou en cas d'alarme. Cela représente, en fonction des critères choisis, 6 à 35% des échantillons ⁽⁶⁾. Il est donc nécessaire pour ces laboratoires de maîtriser également la méthode manuelle.

Concernant l'appréciation qualitative des cristaux, cylindres, cellules et bactéries, le dossier de vérification de méthode repose essentiellement sur l'analyse de risques réalisée dans cette étude.

VI- Conclusion

Cette étude a permis de réaliser l'analyse de risques nécessaire au dossier d'accréditation de l'examen cytologique urinaire selon la norme NF EN ISO 15189. Elle a été effectuée selon la méthode des 5M : risques liés à la Matière, au Matériel, au Milieu, à la Méthode et à la Main d'œuvre.

Concernant la Matière, l'étude des risques portait sur les conditions de recueil des urines, et sur les délais d'ensemencement, qui sont les points critiques de la phase pré analytique. Cette étude a mis en évidence des délais pré analytiques trop longs associés à des moins bonnes conditions de recueil pour un centre qui se trouve délocalisé par rapport au LBM. Le recueil sur flacon boraté et la re-sensibilisation du personnel devraient permettre d'améliorer la phase pré analytique. De plus, un indicateur qualité a été instauré, afin de suivre le rendu des examens cytologiques urgents.

Le Milieu et le Matériel sont des domaines bien maîtrisés, grâce aux outils métrologiques mis en place au laboratoire.

Concernant la Main d'œuvre, la formation et l'habilitation du personnel ont été une part importante de ce travail, car ce sont des éléments primordiaux dans la maîtrise de la qualité des résultats rendus pour cet examen microscopique.

Enfin, la Méthode a été évaluée par une analyse de la répétabilité du comptage manuel des leucocytes et des hématies, qui s'est avérée satisfaisante. Par contre, le choix du contrôle de qualité interne externalisé n'ayant pas répondu à nos attentes, l'étude de la reproductibilité et l'approche de la justesse n'ont pas pu être réalisées.

Pour conclure, cette étude nous a effectivement permis de réaliser l'analyse de risques nécessaire à la constitution des formulaires SH FORM 43, pour l'analyse quantitative des leucocytes et hématies, et SH FORM 44 pour l'analyse qualitative des cellules, cristaux, cylindres et bactéries. La participation à un autre programme de contrôle de qualité sera nécessaire pour compléter la vérification de méthode. L'amélioration des conditions de recueil, le suivi des délais, et le suivi du maintien des compétences du personnel devraient nous permettre de maîtriser et d'améliorer en continu la qualité des résultats rendus pour l'examen cytologique urinaire.

VII- **Bibliographie**

- (1) LOI n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale
- (2) Ordonnance no 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale, et article L6221-1 du Code de la Santé Publique
- (3) Arrêté du 17 octobre 2012 définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation
- (4) SH FORM 43 FICHE TYPE QUANTITATIF - Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale, Révision : #00 - 04/2011 | Date de publication : 23/03/2011
- (5) SH FORM 44 FICHE TYPE QUALITATIF - Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale, Révision : #00 - 04/2011 | Date de publication : 23/03/2011
- (6) REMIC, Référentiel en Microbiologie Médicale, Société Française de Microbiologie, 2010
- (7) M. DAUBON, Caractéristiques biologiques et signification clinique de la cristallurie, 2005
http://www.afabs.ch/bibliotheque/poly_cristaux_daudon/
- (8) SH GTA 06 Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en biologie médicale, Révision : #00 - 06/2012 | Date de publication : 05/06/2012
- (9) SH INF 50 Portées-types d'accréditation, Révision : #00 - 05/2011 | Date de publication : 09/06/2011
- (10) Faculté de Médecine de l'Université de Berne, site UroSurf, 2008 :
<http://e-learning.studmed.unibe.ch/UroSurf>
- (11) Gestion des contrôles de qualité en bactériologie, Benoît Chevalier, Biomnis
- (12) QUAMIC, Comité Qualité de la Société Française de Microbiologie, 2013
- (13) L'accréditation en bactériologie, JP Klein, RFL n° 436, novembre 2011, p39-50
- (14) SH GTA 04 Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes de biologie médicale, Révision : #00 - 04/2011 | Date de publication : 23/03/2011
- (15) Evaluation des performances de l'automate de cytologie urinaire Iris IQ 200 ELITE et comparaison avec la méthode manuelle microscopique, G. Dewulf et al., Path. Biol., oct 2011, vol. 59, p 264-268

VIII- Annexes

Annexe 1 : Fiche de recueil des renseignements cliniques concernant les ECBU des patients externes

Annexe 2 : Tableau de traçabilité du contrôle interne de qualité

Annexe 3 : Grille d'habilitation Examen cytologique urinaire

Annexe 4 : Mise en place d'un Indicateur Qualité

Annexe 5 : SH FORM 43 Leucocytes et Hématies

RECUEIL D'URINES POUR UN ECBU
(Examen Cytobactériologique des Urines)
RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Remplir cette fiche et la rapporter au laboratoire avec le prélèvement

NOM : Prénom :

Le recueil a-t-il été effectué au laboratoire Oui Non

Si non

Les urines ont-elles été mises au réfrigérateur ?
Si oui combien de temps ?.....

Avez-vous de la fièvre ?

Avez-vous une sensation de brûlure en urinant ?

Avez-vous des douleurs dans le bas du dos ?

Portez-vous une sonde urinaire?

Avez-vous eu une hospitalisation récente

Pour les femmes : Etes-vous enceinte

Le médecin vous a-t-il prescrit un antibiotique pour
votre problème urinaire ?

Si oui, quel est le nom de cet antibiotique ?
.....

S'agit-il d'un examen de contrôle après un
traitement antibiotique ?

Si oui, quel est le nom de cet antibiotique ?
.....

Indiquez la date de fin de traitement :.....

Merci de noter si vous présentez un terrain particulier (diabète,..)
.....

Si vous avez répondu « non » à toutes les questions, merci de préciser le motif de
l'examen :.....

N° dossier	GB	GR	Cellules	Cylindres	Cristaux	Germes
Tech.						
Biol.						
Tech.						
Biol.						
Tech.						
Biol.						
Tech.						
Biol.						
Tech.						
Biol.						
Remarques :						
Quiz Site Urosurf						
Date :						
Remarques :						

Personnel Habilité pour la lecture des Examens Cytologiques urinaires :

OUI

NON

Date et Signature :

Technicien

Biologiste

Annexe 4 : Mise en place d'un Indicateur Qualité

Champ de mesure	Délai de rendu des résultats des examens cytologiques urinaires urgents
Norme	PAQ 06H : « Procédure de gestion des urgences »
Objectif	Améliorer la prise en charge du patient Etre conforme au délai annoncé dans la procédure
Critère	e 90% des ED rendus en moins d'1h pour les ECBU urgents
Paramètres	Sélectionner 10 ECBU par mois prescrits par le service des urgences
Périodicité de la mesure	Trimestrielle
Méthode de calcul	Le délai est mesuré entre le moment où le prélèvement est pris en charge par le laboratoire (heure de saisie du dossier, tracée dans le SIL) et le moment où les résultats de l'examen cytologique sont saisis à partir du Scanbac (heure de saisie des résultats, tracée dans le SIL). $\% \text{ ED urgents rendus dans les délais annoncés} = (\text{nombre d'ED rendus en moins de 60 minutes}) * 100 / (\text{nombre total des ECBU étudiés} : 30)$
Modalités de recueil	Tableau spécifique dans la procédure PAQ 03B « Maîtrise des indicateurs qualité »

Annexe 5 : SH FORM 43 Leucocytes et Hématies

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :

Cytologie urinaire Leucocytes et Hématies

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte/Mesurande :	Leucocytes Hématies
Principe de la Mesure :	Observation microscopique
Méthode de mesure :	Quantification en cellule de numération avec grille à usage unique
Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...) :	urine
Type de récipient, Additifs (tubes, ...) :	Flacon stérile sans additif - Tube boraté
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :	Homogénéisation
Unités :	Nombre d'éléments / ml
Intervalles de référence ¹ :	< 10 000/ml
Marquage CE (Oui/Non) :	oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	-
Instrument (analyseur automatique, etc.) :	Microscope à contraste de phase Leica
Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :	KOVA® Glasstic® Slide 10, HYCOR Référence produit 87144F
Matériau d'étalonnage (références)/ Raccordement métrologique :	-
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	-

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :	SA
Procédure de validation :	PAQ 3F V1 « Validation de méthode »
Procédure de gestion de la portée flexible :	PAQ 3FB V1 « Gestion de la portée d'accréditation »
Période d'évaluation :	Janvier – octobre 2013
Date de mise en service :	PAQ 504 V8 ECBU Date d'application 21/05/2013
Autorisation de mise en service par :	Valideur : SA Approbateur : XG

¹ Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :	<p style="text-align: center;">Urines</p> <ul style="list-style-type: none"> - Recueillies dans des Flacons stériles sans additifs, ou dans des Flacons boratés <p style="text-align: center;"><u>Conditions pré analytiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Renseignements cliniques - Conditions de recueil - Délai d'acheminement 	<ul style="list-style-type: none"> - Gestion des stocks et des dates de péremption : PAQ 03HA « Gestion des stock et des commandes » PMAT GesStock « Procédure d'utilisation du logiciel GesStock » - PAQ 06C « Procédure de réalisation des prélèvements » : Questionnaire pour l'obtention de renseignements cliniques - Guide du Préleveur - PAQ 06D « Procédure de réalisation de prélèvement d'urine sur sonde avec site de prélèvement » - Doc Délais « Délais minimum et Organisation du laboratoire » PAQ 06H « Procédure de gestion des urgences » PAQ 03I « Maîtrise du produit non conforme »
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...):	Homogénéisation	PAQ 504 ECBU
Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	Habilitation du personnel	<p>Formation « ECBU et contraste de phase » du 21/02/13 au 07/05/13</p> <p>PAQ 2F « Information et formation du personnel » Critères d'habilitation : - participation à la formation - lecture de 5 urines en double avec le référent - Site UroSurf Berne : programme interactif d'apprentissage</p> <p>Evaluation et Maintien des compétences : - Formulaire d'autoévaluation annuel - Participation au programme d'EEQ - Site UroSurf mis à disposition au poste de bactériologie</p>
Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage,...) :	T° de la pièce	<p>L'analyse est réalisée dans une pièce climatisée.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Contrat préventif de vérification de la climatisation FORCLIM 1 fois/an - Maîtrise de la température ambiante (20±5°C)

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
	<p>Entretien et vérification du Poste de Sécurité Microbiologique (PSM)</p>	<p>Prestation par un prestataire accrédité COFRAC : sonde IN01E8 vérifiée tous les ans avec sonde étalon raccordée COFRAC, logiciel VIGISURV (relevé des T° toutes les 15 min, alarme si hors norme, vérification systématique du tracé 3 fois par jour)</p> <p>Procédure PMAT INT METRO « <i>Métrologie</i> » : L'entretien du poste PSM est réalisé par le fournisseur, et une vérification est effectuée une fois par an selon la norme EN12469 :2000</p>
<p>Référence du réactif (référence fournisseur, version) :</p>	<p>KOVA® Glasstic®Slide10, HYCOR Référence produit 87144F</p> <p>* Risque d'erreur d'identification lors du dépôt dans la cellule</p> <p>* Volume déposé dans la cellule</p> <p>Géloses CPS (référence 43541 BioMérieux)</p> <p>Fiche technique « Package Insert - 12050 - F - 43541 - 43549.pdf »</p> <p>Test de Robustesse « Statement - NA - 2009-05 - 43541 - Thermal Shock Validation.pdf »</p> <p>Gélose Trypticase-Soja + 5% de sang(référence 43001 BioMérieux)</p> <p>Fiche technique « Package Insert - 11611 - B - 43001 - 43009.pdf »</p> <p>Test de robustesse « Statement - NA - 2007-03 - 43001 - Thermal Shock Validation.pdf »</p>	<p>* Système de numérotation des urines, permettant d'écrire le numéro au-dessus de la cellule Une fois utilisées, les cellules sont barrées.</p> <p>* Par capillarité, 6,6 µl de l'échantillon remplissent la cellule. Le volume d'échantillon en excès remplit la chambre d'extension qui entoure la cellule (échantillon toujours en excès car 10 µl sont déposés par cellule)</p> <p>Maîtrise de la T° de l'enceinte réfrigérée « Frigo B-réfri4 » à 5± 3°C : Prestation par un prestataire accrédité COFRAC : sonde IN01D6 vérifiée tous les ans avec sonde étalon raccordée COFRAC, logiciel VIGISURV (relevé des T° toutes les 15 min, alarme si hors norme, vérification systématique du tracé 3 fois par jour)</p> <p>- Maîtrise de la température ambiante (20±5°C) Prestation par un prestataire accrédité COFRAC : sonde IN01E8 vérifiée tous les ans avec sonde étalon raccordée COFRAC, logiciel VIGISURV (relevé des T° toutes les 15 min, alarme si hors norme,</p>

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
		<p>vérification systématique du tracé 3 fois par jour)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Conservation des coffrets non ouverts au réfrigérateur - Conservation des coffrets ouverts de géloses CPS à T° ambiante à l'abri de la lumière - Certificats de qualité des lots de géloses utilisés disponibles sur le site de BioMérieux, et archivés au laboratoire
Matériau de référence :	-	-
Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques	Entretien et vérification des microscopes	<p>Procédure PMAT INT METRO Métrologie : L'entretien des microscopes est réalisé par le fournisseur. Une visite de contrôle et un nettoyage sont effectués une fois par an</p>
	Gestion des dates de péremption	<ul style="list-style-type: none"> - PMAT GesStock : Procédure d'utilisation du logiciel Gesstock Messages d'alerte en cas de lots plus anciens et en cas de lots périmés - PAQ 03HA : Gestion des stocks et des commandes - Maîtrise de la température de l'étuve (35±2°C)
	Incubation des milieux de culture après ensemencements : T° de l'étuve	<p>Prestation par un prestataire accrédité COFRAC : sonde IN01EA vérifiée tous les ans avec sonde étalon raccordée COFRAC, logiciel VIGISURV (relevé des T° toutes les 15 min, alarme si hors norme, vérification systématique du tracé 3 fois par jour)</p>
	Transmission des données	<p>Vérification régulière de l'intégrité des données informatiques transmises entre le protocole ScanBac, le SIL et le compte-rendu : ENR « Vérification transmission des données informatiques »</p> <p>Procédure PAQ 03A : Procédure de gestion du système informatique</p>

* item à renseigner si nécessaire

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) :

Répétabilité:

LEUCOCYTES

Sur échantillons de contrôle Cell-Chex®, EUROBIO

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne ² (10*3/ml)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs ³)	Conclusion ⁴
Contrôle L1-UC	10	8	1,4	17,9	-	20	Conforme
Contrôle L1-CC	10	12	2,0	16,7	-	20	Conforme
Contrôle L2	10	82	10,7	13,0	-	20	Conforme

Sur échantillons d'urines de patients

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne ⁵ (10*3/ml)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs ⁶)	Conclusion ⁷
Echantillon patient niveau bas	10	8	1,4	17,1	-	20	Conforme
Echantillon patient niveau haut	10	112	25,5	22,8	-	30	Conforme

HEMATIES

Sur échantillons de contrôle Cell-Chex®, EUROBIO

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne ⁸ (10*3/ml)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs ⁹)	Conclusion ¹⁰
Contrôle L1-UC	10	12	2,3	18,4	-	20	Conforme
Contrôle L1-CC	10	13	3,0	23,5	-	20	Non conforme
Contrôle L2	10	112	6,2	5,5	-	20	Conforme

² Nombre de chiffres significatifs

³ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

⁴ Conforme/non conforme

⁵ Nombre de chiffres significatifs

⁶ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

⁷ Conforme/non conforme

⁸ Nombre de chiffres significatifs

⁹ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

¹⁰ Conforme/non conforme

Sur échantillons d'urines de patients

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne ¹¹ (10*3/ml)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs ¹²)	Conclusion ¹³
Echantillon patient niveau bas	10	5	1,1	20,0	-	20	Conforme
Echantillon patient niveau haut	10	218	38,7	17,7	-	30	Conforme

Conclusions :

Les contrôles de qualité ne présentant pas la même nature de matrice que les échantillons de patients (moins de problèmes liés à l'homogénéisation), il nous a semblé préférable d'évaluer la répétabilité sur les 2 types d'échantillons.

Les CV obtenus sont conformes à ceux retrouvés dans la littérature ($\pm 20\%$ pour les valeurs $< 10/\mu\text{l}$, et pour les valeurs comprises entre 10 et $100/\mu\text{l}$, et $\pm 30\%$ pour les valeurs supérieures à $100/\mu\text{l}$). « Gestion des contrôles de qualité en bactériologie », Benoît Chevalier, Biomnis, « L'accréditation en bactériologie », RFL n° 436, nov 2011)

Le seul paramètre pour lequel le CV est non conforme est le taux d'hématies du contrôle L1-CC, avec un CV de 23,5%, ce qui est acceptable compte-tenu du CV limite qui est de 20%. De plus, le CV est conforme pour le niveau L1-UC, qui présente un taux similaire d'hématies.

Enfin, la répétabilité des leucocytes et des hématies est conforme pour les 2 niveaux testés ($<$ au seuil de $10/\mu\text{l}$ et $>$ au seuil de $100/\mu\text{l}$) sur des échantillons de patients.

Fidélité intermédiaire :

LEUCOCYTES

Sur échantillons d'urines de patients

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne ²	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs ³)	Conclusion ⁴
Echantillon patient Niveau bas	9	7	1,8	26,4			
Echantillon patient Niveau haut	9	44	9,2	20,9			

Conclusions :

L'analyse de la fidélité intermédiaire des leucocytes a été réalisée sur des urines de patient : le même échantillon a été analysé par 9 opérateurs différents. En effet, la morphologie atypique des éléments contenus dans les échantillons du CIQ externalisé n'a pas permis de faire lire les 3 niveaux de contrôle par les techniciennes du laboratoire.

Cependant, les CV obtenus par analyse de la fidélité intermédiaire sur des urines de patients semblent acceptables, compte-tenu des CV limites donnés pour la répétabilité.

Il semble nécessaire de trouver un autre fournisseur de CIQ externalisé ou d'EEQ pour améliorer l'évaluation de notre méthode.

¹¹ Nombre de chiffres significatifs

¹² Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

¹³ Conforme/non conforme

HEMATIES

Sur échantillons d'urines de patients

Echantillons	Nombre (N)	Moyenne ²	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) limite (hors fournisseurs ³)	Conclusion ⁴
Echantillon patient Niveau bas	9	6	2,1	34,2			
Echantillon patient Niveau haut	9	244	41,5	17,0			

Conclusions :

L'analyse de la fidélité intermédiaire des hématies a été réalisée sur des urines de patient : le même échantillon a été analysé par 9 opérateurs différents. En effet, la morphologie atypique des éléments contenus dans les échantillons du CIQ externalisé n'a pas permis de faire lire les 3 niveaux de contrôle par les techniciennes du laboratoire.

Le CV obtenu pour le niveau haut semble acceptable, mais celui obtenu pour le niveau bas semble trop haut. Il faut noter cependant qu'aucune des valeurs ne dépassait le seuil décisionnel de 10/ μ l, elles étaient toutes comprises entre 4 et 9.

Il semble nécessaire de trouver un autre fournisseur de CIQ externalisé ou d'EEQ pour améliorer l'évaluation de notre méthode.

Justesse (approche de la) :

Cas des contrôles internes externalisés

Echantillons	Nombre (N)	Valeurs Labo ²	Cible (groupe de pairs)	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) /groupe de pairs	Biais (%) /moyenne générale	Biais (%) limite ³	Conclusion ⁴

Conclusions :

L'étude de la fidélité intermédiaire n'ayant pas pu être réalisée du fait de la morphologie atypique des éléments dans le contrôle Cell-Chex®, EURO BIO, l'approche de la justesse n'a pas pu être réalisée.

Il semble nécessaire de trouver un autre fournisseur de CIQ externalisé ou d'EEQ pour améliorer l'évaluation de notre méthode.

Exactitude :

Cas des contrôles externes ponctuels

Echantillons	Nombre (N)	Valeur Labo ¹⁴	Cible (groupe de pairs)	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) /groupe de pairs	Biais (%) /moyenne générale	Biais (%) limite ¹⁵	Conclusion
Echantillon CQN								
Echantillon ponct xy								
Echantillon ponct zy								

Conclusions :

¹⁴ Nombre de chiffres significatifs

¹⁵ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

INCERTITUDES (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :	
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	N/A
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	N/A
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	N/A
Interprétation :	N/A

Conclusions :

COMPARAISON DE METHODES :	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	<p>* Quamic, recommandations 2013</p> <p>* Evaluation des performances de l'automate de cytologie urinaire Iris IQ 200 ELITE et comparaison avec la méthode manuelle microscopique, G. Dewulf et al., Path. Biol., oct 2011, vol. 59, p 264-268</p> <p>* L'accréditation en Bactériologie, JP Klein, RFL, nov 2011, n° 436, p 39-50</p> <p>La validation des méthodes automatisées évalue la concordance entre la méthode automatisée par cytomètre et la méthode manuelle de comptage microscopique, considérée comme la technique de référence. Il existe une bonne concordance entre ces méthodes, la méthode automatisée présentant des CV de répétabilité et de reproductibilité plus faibles que la méthode manuelle (10%). Il existe une bonne concordance autour de la valeur seuil de 10 GB/μl. Pour des valeurs supérieures à 100 GB/μl, les différences augmentent, mais sans entraîner de modifications d'interprétation, le seuil pathologique étant fixé à 10 GB/μl.</p>
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou EBMD :	-
Nombre de mesures :	-
Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire :	-
Méthode d'exploitation des résultats :	-
Equation de la droite de régression :	-
Diagramme des différences et/ou des rapports :	-
Conclusions et dispositions ¹⁶ :	-

¹⁶ Le laboratoire précise les dispositions mises en œuvre (par exemple : utilisation **transitoire et documentée** d'un facteur de correction).

INTERVALLE DE MESURE (indispensable en portée B) (si possible et pertinent, ex : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH) :	
Mode de détermination :	Observation microscopique
Limite inférieure de linéarité (de quantification)/ Profil de fidélité :	En dessous du seuil clinique de < 10 000 /ml, les leucocytes ne sont pas quantifiés (< 10 leucocytes sur l'ensemble de la cellule)
Limite supérieure de linéarité :	Au-dessus du seuil pathologique de > 1 000 000 /ml, les leucocytes ne sont plus quantifiés (> 10 leucocytes /micro carrés)

INTERFERENCES (ex : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) :	
Vérification bibliographique :	N/A
Vérification :	N/A

CONTAMINATION (indispensable en portée B et pour les paramètres sensibles en portée A)	
Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, β HCG) :	N/A
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides) :	N/A
Vérification bibliographique :	
Vérification :	

Commentaires éventuels :

L'analyse des risques montre que les différents risques sont bien maîtrisés.

La répétabilité de la méthode est conforme aux valeurs attendues pour la technique manuelle, concernant les leucocytes et les hématies.

Cependant, la mauvaise qualité du contrôle interne externalisé n'a pas permis d'évaluer la fidélité intermédiaire de la méthode, ni d'en évaluer la justesse.

Le choix d'un autre programme de CIQ externalisé ou d'EEQ est nécessaire pour compléter le dossier de vérification de méthode.

RESUME

L'objectif de cette étude a été de réaliser l'analyse de risques et la vérification de méthode de l'examen cytologique urinaire en technique manuelle, nécessaires à l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189. Cet examen constitue la première étape de l'accréditation de l'examen cytobactériologique urinaire (ECBU) dans son ensemble.

Cette étude a été effectuée selon la méthode des 5M, qui prend en compte les risques associés à la Matière, au Matériel, au Milieu, à la Méthode et à la Main d'œuvre. Concernant la Matière, les conditions de recueil et les délais pré analytiques ont été étudiés. La maîtrise du Matériel et du Milieu a été vérifiée grâce aux outils métrologiques disponibles au laboratoire. La formation et l'habilitation du personnel ont été effectuées, et les moyens nécessaires au suivi du maintien des compétences ont été mis en place. L'étude de la répétabilité a été réalisée pour l'analyse quantitative des leucocytes et des hématies, et les performances obtenues sont conformes aux données de la littérature pour la technique manuelle. Pour l'étude de la reproductibilité et de la justesse, la participation à un programme de contrôle interne externalisé de meilleure qualité sera nécessaire. Les formulaires SH FORM ont été en partie remplis grâce à cette étude, un formulaire SH FORM 43 pour l'analyse quantitative des leucocytes et des hématies, et un formulaire SH FORM 44 pour l'analyse qualitative des cellules, cristaux, cylindres et bactéries. Grâce à cette étude et aux différentes actions mises en place, la qualité des résultats rendus pour l'examen cytologique urinaire devrait être maîtrisée.