

Université Pierre et Marie Curie –
Sorbonne Universités

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

MISE EN PLACE D'UNE PROCEDURE TECHNIQUE
DE GESTION DES SEQUENCEURS ABI PRISM 3730
DU CENTRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE ET CHROMOSOMIQUE
DES HOPITAUX UNIVERSITAIRES PITIE SALPETRIERE - CHARLES FOIX.

LEITE Patricia
2013-2014

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.

Patricia LEITE

Ingénieur en Biologie Médicale

Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique

Pôle de Biologie Médicale et Pathologie

Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière – Charles Foix

Assistance Publique – Hôpitaux de Paris

REMERCIEMENTS

Je remercie le Pr Autran et Mme Degoud de m'avoir permis de suivre le diplôme universitaire « Assurance Qualité au Laboratoire de Biologie Médicale ».

Je tiens aussi à remercier le Dr Vaubourdolle et le Dr Pernet de m'avoir accueilli dans ce DU, ainsi que l'ensemble des intervenants pour leurs enseignements.

Je remercie tous mes collègues du Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique pour leur aide et en particulier tous les membres de la sous cellule « Pièces communes et Automates » qui ont activement participé à la réalisation de ce mémoire.

Un merci tout particulier aux Dr Fressart, Dr Cazeneuve et M Szpytma, référents qualité du centre, pour leurs précieux conseils et la relecture de ce travail.

SOMMAIRE

GLOSSAIRE	6
INTRODUCTION	7
1 ENVIRONNEMENT	7
1.1 Les Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière – Charles Foix	7
1.2 Le Pôle 6 – Biologie Médicale et Pathologie et Démarche Qualité	7
1.3 Le Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique	8
2 CONTEXTE DU PROJET	9
2.1 Demande d’extension d’accréditation	9
2.2 Les étapes du séquençage Sanger	10
2.3 La documentation de référence	11
3 OBJECTIFS DU PROJET	11
3.1 Mise en place d’une procédure technique Gestion des Séquenceurs 3730	11
3.2 Paramétrage du logiciel KaliLab	12
3.3 Amélioration de la gestion documentaire	12
REALISATION ET RESULTATS	13
1 PLAN	13
1.1 Etat des lieux	13
1.2 Diagramme d'Ishikawa	13
1.3 Proposition d’amélioration et planning	16
2 DO	17
2.1 Création d’une procédure technique	17
2.1.1 L’Utilisation	17
2.1.2 Les maintenances	20
2.1.3 La vérification périodique des performances	20
2.1.4 Procédure en cas de panne	22
2.1.5 Logigramme d’une analyse et documents associés	22
2.2 Paramétrage du Logiciel KaliLab	23
2.3 Suivi des températures des équipements critiques	26
2.4 Suivi des actions	27
3 CHECK	28
3.1 Mise en place d’indicateurs de suivi	28
3.2 Mise en place d’indicateurs permanents	29
4 ACT	29
PERSPECTIVES ET CONCLUSIONS	30
BIBLIOGRAPHIE	31
TABLE DES ANNEXES	32

GLOSSAIRE

AGEPS : Agence Générale des Équipements et Produits de Santé

AP-HP : Assistance Publique – Hôpitaux de Paris

BMP : Biologie Médicale et Pathologie

CE : marquage CE matérialise la conformité d'un produit aux exigences européennes incombant au fabricant du produit.

CGMC : Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique

DRH : Direction des Ressources Humaines

DU : Diplôme Universitaire

GH : Groupe Hospitalier

IVD : dispositif médical de Diagnostic In Vitro

MO : Mode Opérateur

PDCA : « *Plan-Do-Check-Act* » est une démarche cyclique d'amélioration qui consiste, à la fin de chaque cycle, à remettre en question toutes les actions précédemment menées afin de les améliorer.

PMT : Plateau Médico-Technique

PR : Procédure

PSL : Pitié Salpêtrière

PT : Procédure Technique

QQOQCP : « Quoi, Qui, Où, Quand, Comment, Pourquoi » est un aide-mémoire servant à définir le problème dans son ensemble à partir de ces 6 questions.

SAV : Service Après-Vente

UF : Unité fonctionnelle

INTRODUCTION

1 ENVIRONNEMENT

1.1 Les Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière – Charles Foix

Les Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix sont nés en janvier 2011 du regroupement de l'hôpital universitaire gériatrique Charles Foix et du groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière. Ce groupe hospitalier (GH), ainsi créé, est un établissement public de santé qui fait partie de l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP). Il réunit un grand nombre de disciplines médicales, réparties dans plus de 70 services regroupés en 11 pôles d'activité :

- ✓ Pôle 1 – Chirurgie, Néphrologie, Urologie, Gynécologie, Maxillo-faciale et Stomatologie, Odontologie
- ✓ Pôle 2 – Pneumologie, Réanimation, Anesthésie, Gériatrie, Urgences, Explorations Fonctionnelles Respiratoires, Sommeil
- ✓ Pôle 3 – Maladies du Système Nerveux
- ✓ Pôle 4 – Chirurgie Neurosensorielle
- ✓ Pôle 5 – Cœur – Métabolisme
- ✓ Pôle 6 – Biologie Médicale et Pathologie
- ✓ Pôle 7 – Immunité – Infection – Inflammation
- ✓ Pôle 8 – Imagerie
- ✓ Pôle 9 – Santé Publique, Évaluation et Produits de Santé
- ✓ Pôle 10 – Oncologie, Radiothérapie, Soins Palliatifs, Hématologie, Hémio Biothérapie
- ✓ Pôle 11 – Pôle Gériatrique Paris-Val de Marne

1.2 Le Pôle 6 – Biologie Médicale et Pathologie et Démarche Qualité

Le pôle de Biologie Médicale et Pathologie (BMP) est dirigé par le Pr Brigitte Autran. Depuis le 01 Juillet 2011, le pôle de Biologie Médicale et Pathologie regroupe : les 2 services de Biochimie (Biochimie Métabolique et Biochimie Endocrinienne et Oncologique), le Département de Génétique et Cytogénétique, le service d'Hématologie Biologique, celui d'Anatomie et Cytologie Pathologique, les laboratoires de Virologie, de Bactériologie et de Parasitologie, le Département d'Immunologie, les Biothérapies, la Coprologie Fonctionnelle et enfin le Centre de Tri.

Le pôle BMP dispose d'une cellule management de la qualité dirigée par 1 responsable qualité et 1 responsable qualité adjoint, habilités par le chef de pôle. Ils sont chargés en lien avec la direction du pôle de définir, déployer et coordonner la démarche qualité au sein du pôle. Aidé en cela par la cellule qualité, constituée des deux responsables qualité pôle et de deux référents qualités de chaque service (1 médical et 1 non médical). Cette seconde cellule a pour objectif d'approuver les documents qualité transversaux et assurer leur diffusion au sein des différents services du pôle (cf Annexe I Organisation qualité pôle).

Le Pôle BMP a reçu son accréditation initiale selon la norme NF EN ISO 15189 en juin 2014 pour 4 examens dans les familles Biochimie et Hémostase. Des extensions d'accréditation ont été demandées pour 2015 pour les examens des familles suivantes : Biochimie générale et spécialisée, Hématocytologie, Hémostase, Auto-immunité, Immunologie cellulaire spécialisée et histocompatibilité, Bactériologie, Parasitologie-mycologie et Sérologie infectieuse.

1.3 Le Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique

Le Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique (CGMC) est né, dans un premier temps, de la volonté de regrouper les activités de génétique moléculaire et de cytogénétique afin d'acquérir des équipements lourds dans un effort de mutualisation. Dans un second temps, le CGMC est devenu le centre de génétique de l'adulte et d'oncogénétique de l'Est parisien à la suite de la restructuration de l'AP-HP en groupes hospitaliers universitaires. Le CGMC regroupe aujourd'hui un total de 10 unités fonctionnelles (8 de génétique moléculaire et 2 de cytogénétique), issues de 4 services différents du pôle Biologie Médicale et Pathologie du GH (Cf. Figure 1).

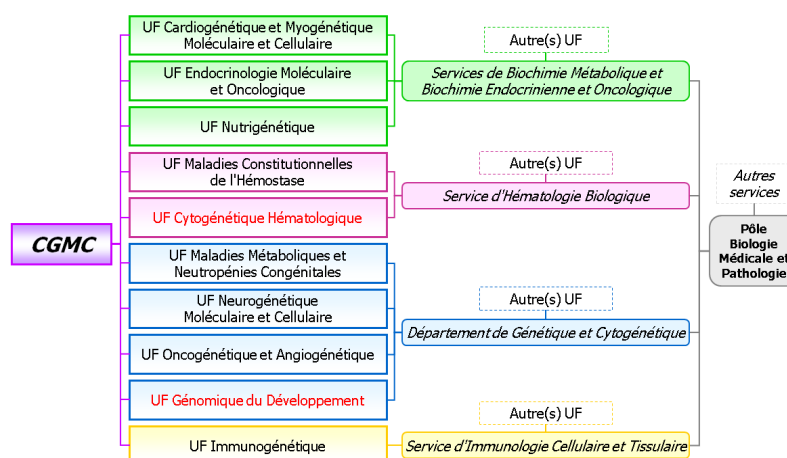


Figure 1 : Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique : les 10 UF constituant et leur service d'origine

Le regroupement des UF de génétique moléculaire et génétique chromosomique en CGMC a permis, outre la création d'un plateau médico-technique commun, une mutualisation des moyens en personnel pour les activités transversales du CGMC comprenant : du personnel de réception, du personnel encadrant, un ingénieur en biologie et un technicien affectés au plateau médico-technique, ainsi qu'un ingénieur en bio-informatique.

Depuis 2004, le CGMC est doté d'une cellule qualité (Cf. Annexe II Organigramme qualité du CGMC) dirigée par 4 Référents Assurance Qualité (2 personnels médicaux et 2 non médicaux) et organisée en différentes sous-cellules : Personnel, Métrologie, Pré-analytique, Analytique, Post-analytique, Pièces communes et automates, Pièces UF, Audit et Gestion des non conformités (hors réception), SGL / Suivi informatique, Diffusion de l'information. La totalité du personnel a été conviée à participer à ces groupes de travail. Chaque sous-cellule est composée de 6 à 12 personnes et a des objectifs à atteindre dans l'année qui suivent un plan d'action qualité décliné à partir du plan d'action qualité pôle. Je participe et j'anime la sous-cellule « Pièces communes et automates » qui a pour objectif 2014 de paramétrer les équipements et les maintenances sur KaliLab (nouveau logiciel de gestion de la qualité), d'y mettre à disposition les documents techniques transversaux et d'organiser les formations sur les différents équipements. Ce groupe de travail se compose de 12 personnes : 2 biologistes, 8 techniciens, 1 cadre et de moi-même.

2 CONTEXTE DU PROJET

2.1 Demande d'extension d'accréditation

Le pôle BMP déposera une demande d'extension d'accréditation en juin 2015. Le CGMC a pour objectif de présenter à l'accréditation deux méthodes (portée B) : la Recherche de mutation par Séquençage Sanger et le Caryotype Conventionnel.

Deux groupes de travail ont été créés pour constituer les dossiers de validation de ces méthodes. J'ai été sollicitée par le groupe travaillant sur le dossier « Recherche de mutation par Séquençage Sanger » en tant que responsable du plateau médico-technique. Les biologistes de ce groupe ont décidé après analyse de risque de qualifier comme critiques¹ deux matériels analytiques (hors matériel froid et pipettes) :

- ✓ les séquenceurs – fournisseur Life Technologies, modèle ABI PRISM 3730 DNA Analyser (désignés dans la suite du document par Séquenceurs 3730).
- ✓ les thermocycleurs – 3 fournisseurs différents, 5 modèles.

¹ Critique : ayant une incidence significative sur l'exactitude et la fiabilité des résultats (SH REF 02 – Rév 04).

Ces deux types d'appareils n'ont pas le marquage CE et ne sont pas des dispositifs médicaux pour le diagnostic in vitro (IVD). Il a été demandé au groupe de travail du CGMC « Pièces communes et automates » de travailler sur la mise en place de procédures techniques (PT) de gestion des équipements, intervenant dans la technique de séquençage Sanger, et d'organiser les documents s'y rattachant.

2.2 Les étapes du séquençage Sanger

Le séquençage Sanger est une technique complexe nécessitant plusieurs étapes successives que l'on veut résumer sous la forme d'un plan expérimental (Cf. Figure 2). Chaque étape de l'analyse a été annotée en précisant la technique ou l'outil utilisé. Ont été mis en bleu les automates utilisés. Cette représentation nous permet de délimiter le périmètre d'étude et de visualiser l'ensemble du travail à réaliser.

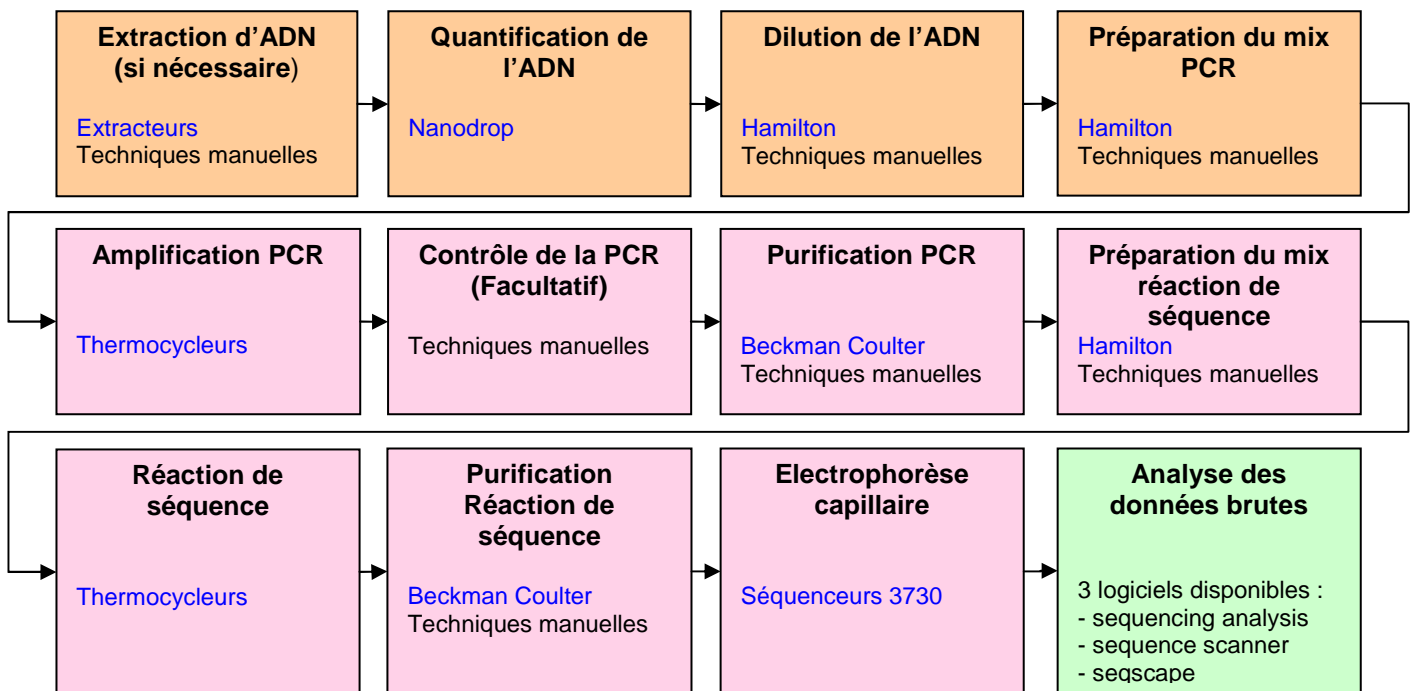


Figure 2 : Plan expérimental d'une analyse de séquençage par la méthode de Sanger

Zone pré-amplification
 Zone post-amplification
 Zone bureautique
 En bleu : les automates intervenant dans l'étape

2.3 La documentation de référence

La sous-cellule « Pièces communes et automates » devra s'appuyer sur les textes applicables (réglementaires ou internes) listés ci-dessous, faisant référence au matériel ou à son utilisation :

- ✓ Textes réglementaires et normatifs :
 - Norme NF EN ISO 15189 + SH REF 02 : Chapitre 4.13 Maîtrise des enregistrements, Chapitre 5.1 Personnel (paragraphe 5.1.5), Chapitre 5.3 Matériel de laboratoire, réactifs et consommables (paragraphe 5.3.1, 5.3.4 et 5.3.5).
 - GBEA : Paragraphe B. - Cas particulier des examens utilisant les techniques de biologie moléculaire
- ✓ Documentations transversales (biomédicale + pôle) :
 - Cycle de vie d'un analyseur : « De l'achat à la réforme d'un équipement GH »
 - Gestion des maintenances correctives : « Intervention curative PSL »
 - Gestion des maintenances préventives : « Intervention préventive et contrôle réglementaire GH »
 - Procédure de gestion de la documentation qualité du pôle BMP

3 OBJECTIFS DU PROJET

3.1 Mise en place d'une procédure technique Gestion des Séquenceurs 3730

Le groupe de travail « Pièces communes et automates », en accord avec la cellule qualité du CGMC, ont décidé de commencer par la mise en place d'une PT Gestion des séquenceurs 3730, en procédant selon la démarche suivante :

- ✓ Lister les exigences de la norme de manière à établir un état des lieux exhaustif de l'existant.
- ✓ Dégager de cet état des lieux les axes d'amélioration à apporter.
- ✓ Clarifier les organisations autour du matériel commun sous forme d'une PT.
- ✓ Mettre en application la procédure.
- ✓ Contrôler l'application de cette nouvelle organisation.
- ✓ Mesurer les améliorations et les évaluer.
- ✓ Ajuster la PT si nécessaire.

Ces différentes étapes suivent la méthode de gestion de la qualité dite PDCA (Plan-Do-Check-Act) aussi appelée roue de Deming. Nous pouvons donc schématiser ces étapes sous forme d'un cercle vertueux (Cf. Figure 3). A partir de cette roue, nous avons établi un planning prévisionnel de réalisation qui est présenté en annexe III.

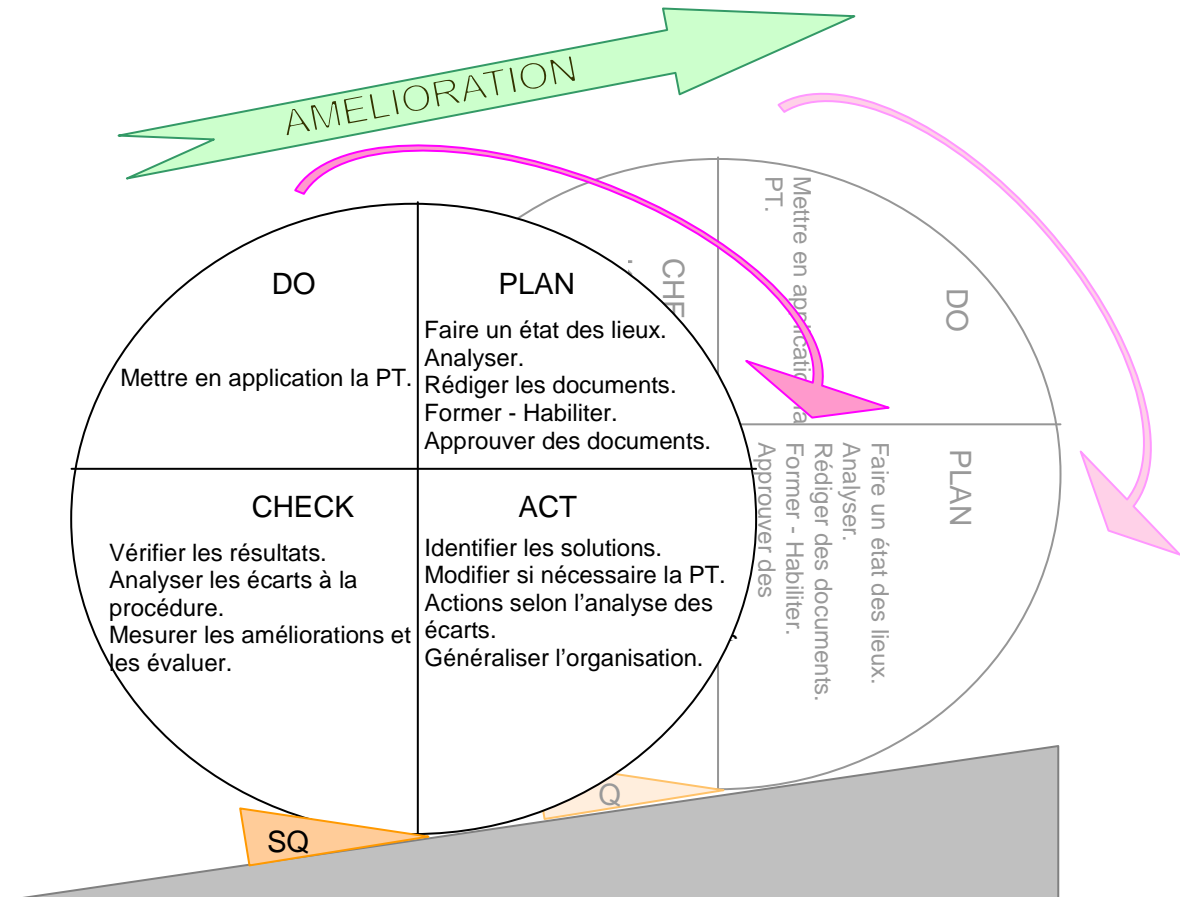


Figure 3 : Plan d'action sous forme de roue de Deming

3.2 Paramétrage du logiciel KaliLab

En parallèle, le groupe de travail du CGMC « Pièces communes et automates » doit paramétrer les équipements (maintenances y compris) sur le logiciel KaliLab (date de mise en service prévue le 01 septembre 2014).

3.3 Amélioration de la gestion documentaire

Et en dernier lieu, le groupe de travail du CGMC « Pièces communes et automates » doit réorganiser les documents liés aux équipements : sont-ils utilisés ? Sont-ils liés à une procédure ?...

REALISATION ET RESULTATS

1 PLAN

La première étape, *Plan* (en français « planifier »), consiste à préparer et planifier ce que l'on va réaliser. Elle se déroulera en trois phases : 1- Identification des améliorations à apporter à l'aide d'un état des lieux ; 2- Recherche des causes d'un dysfonctionnement (qui sera réalisée à l'aide d'un diagramme d'Ishikawa) ; 3- Recherche de solutions avec rédaction des documents nécessaires et établissement d'un planning des actions.

1.1 Etat des lieux

L'état des lieux sur la gestion des séquenceurs 3730 a été réalisé à l'aide d'un audit. La grille d'audit est très largement inspirée du SH FORM 03 (COFRAC) où n'ont été conservés que les items en lien avec les équipements (conformément à la documentation de référence citée ci-dessus). Cette grille remplie est en annexe IV. En rouge, figurent les écarts à la norme et, en vert, les points satisfaisants. L'état des lieux dressé est résumé dans le tableau ci-dessous :

Points forts	Points faibles
Nombreux modes opératoires (MO) rédigés. Maintenances réalisées selon les exigences du fournisseur et tracées. Interventions du fournisseur tracées. Contrat de maintenance reconduit tous les ans. Suivi des dysfonctionnements (classeur de vie tenu à jour).	Pas d'organisation dans les documents (trop de MO, pas de PT). Pas d'organisation des formations et pas de traçabilité. Pas de vérification de l'état du séquenceur. Pas de qualification après maintenance. Conditions environnementales non suivies.

Tableau 1 : Résumé de l'état des lieux initial sur la gestion des séquenceurs 3730

1.2 Diagramme d'Ishikawa

Nous avons utilisé le diagramme d'Ishikawa pour identifier les causes pouvant aboutir à un résultat erroné ou à une absence de résultats sur les séquenceurs 3730. Cet outil permet aux membres du groupe d'avoir une vision partagée et structurée de toutes les causes qui conduisent à cette situation. Il permet de répertorier les causes possibles et de fournir des éléments pour l'étude de solutions. Ainsi, pour chaque cause identifiée, nous avons décrit les éléments permettant de la maîtriser.

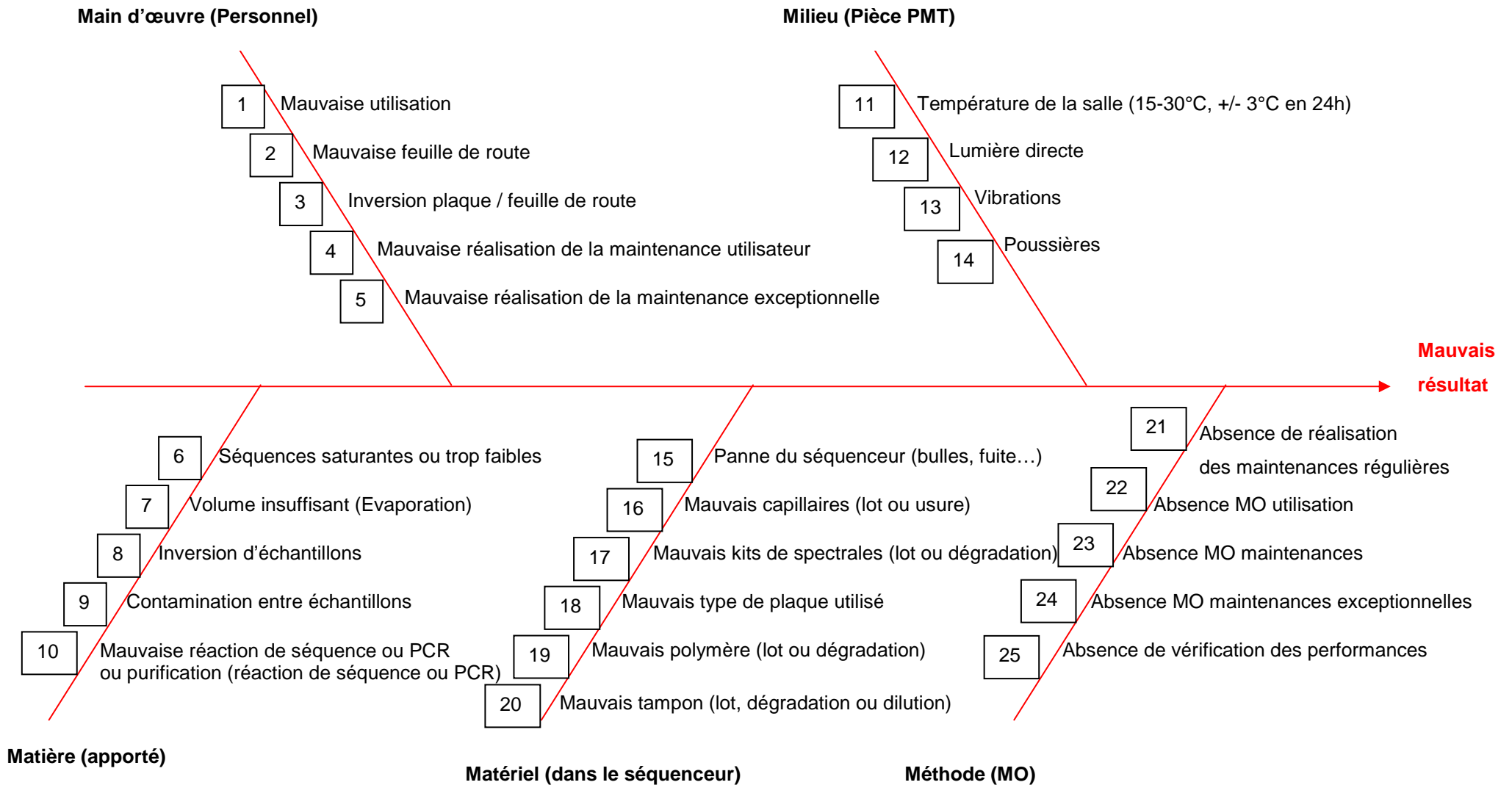


Figure 4 : Diagramme d'Ishikawa : causes possibles d'un résultat erroné ou d'une absence de résultats sur les séquenceurs 3730

N°	Causes	Éléments de maîtrises	Documents de référence
1	Mauvaise utilisation	Formation et habilitation du personnel.	MO Lancement d'un run. EN Formation utilisateur
2	Mauvaise feuille de route	Formation et habilitation du personnel.	MO Création feuille de route. EN Formation utilisateur
3	Inversion plaque / feuille de route	Formation et habilitation du personnel.	MO Lancement d'un run. EN Formation utilisateur
4	Mauvaise réalisation de la maintenance utilisateur	Formation et habilitation du personnel.	MO Maintenances. EN Formation utilisateur
5	Mauvaise réalisation de la maintenance exceptionnelle	Formation et habilitation du personnel. Passage d'un contrôle après maintenance.	MO Maintenances exceptionnelles. EN Formation personnes ressources
6	Séquences saturantes ou trop faibles	Critères d'acceptation dans le dossier de validation de méthode.	Dossier de validation de méthode
7	Volume insuffisant (Evaporation)	Volume minimum 10µL. Utilisation obligatoire de septas.	MO Lancement d'un run
8	Inversion d'échantillons	Formation et habilitation du personnel. Séquençage des blancs à une position connue. Utilisation des robots pipeteurs (Hamilton + Beckman). Inversion impossible par le séquenceur (fonctionne en plaque).	MO sur les Hamilton et Beckman
9	Contamination entre échantillons	Validation de méthode prouvant que le 3730 ne contamine pas. Séquençage des blancs à chaque manip. Nettoyage des septas selon les recommandations.	MO nettoyage septa Dossiers de validation de méthode
10	Mauvaise réaction de séquence ou PCR ou purification	Validation de méthode : test de la robustesse. Contrôle des réactifs à réception.	Dossiers de validation de méthode. Contrôle des réactifs à réception = document à créer.
11	Température de la salle (15-30°C, +/- 3°C en 24h)	Installation de sonde de température (définir les tolérances et PR en cas d'alerte).	SIRIUS
12	Lumière directe	Stores	Présence de stores
13	Vibrations	Pas de centrifugeuse sur la même paillasse. Paillasse stable.	
14	Poussières	Maintenance préventive avec nettoyage du système 1 fois / an.	Rapport d'intervention.
15	Panne du séquenceur (bulles, fuite...)	PR en cas de panne. Gestion des Fiches Qualité sur KaliLab. Validation du séquenceur après panne majeure.	MO Que faire en cas de dysfonctionnement. PT Gestion des 3730
16	Mauvais capillaires (lot ou usure)	Traçabilité des lots de capillaires. Validation du séquenceur après changement. Contrôle du 3730 1 x / mois pour déterminer la longueur de lecture et vérifier la ligne de base.	PT Gestion des 3730
17	Mauvais kits de spectrales	Traçabilité des lots de réactifs. Validation du séquenceur après changement.	PT Gestion des 3730. MO réalisation spectrales.
18	Mauvais type de plaque utilisé	Formation et habilitation du personnel.	MO Lancement d'un run EN Formation utilisateur
19	Mauvais polymère (lot ou dégradation)	Tracabilité des lots de pop. PR d'alerte des utilisateurs. Validation séquenceur pour confirmer.	PT Gestion des 3730
20	Mauvais tampon (lot ou dégradation)	Traçabilité des lots de tampon. PR d'alerte des utilisateurs. Validation séquenceur pour confirmer.	PT Gestion des 3730
21	Absence de réalisation des maintenances régulières	Formation et habilitation du personnel. Planning de maintenance géré sur KaliLab.	MO Maintenances
22	Absence MO utilisation	MO créé	MO Lancement d'un run
23	Absence MO maintenances	MO créés	MO Maintenances
24	Absence MO maintenances exceptionnelles	MO créés	MO maintenances exceptionnelles
25	Absence de vérification performances	PR de passage du contrôle.	PT Gestion des 3730

Tableau 2 : Éléments de maîtrise des causes identifiées dans le diagramme d'Ishikawa (vert : réalisé – rouge : à réaliser)

1.3 Proposition d'amélioration et planning

En compilant l'état des lieux et le diagramme d'Ishikawa, nous arrivons à l'établissement du plan d'action décrit dans le tableau ci-dessous.

	Ecart	Actions envisagées	Objectifs	Délai
Gestion documentaires	Documents non référencés	Sont-ils utilisés ? Si oui, les référencer.	Supprimer les documents non référencés.	Juin 2014
	Nombreux MO	Revoir les MO. Diminuer leur nombre. Les télécharger dans KaliLab.	Pas plus de 15 MO pour le séquenceur.	Juin 2014
	MO imprimés non à jour.	Doivent-ils être imprimés ? Si oui, mettre à jour.	100% des documents imprimés à jour.	Sept 2014
	Annotations manuscrites sauvages	Interdire les annotations manuscrites (annotations sur KaliLab). Diffusion de la nouvelle PR Gestion Documentaire.	0% d'annotation manuscrite 98% d'attestions de lecture	Déc 2014
Formation habitation	Formation des utilisateurs non réalisée	Définir l'organisation et les responsabilités.	Créer une check-list des points à voir. Définir les modalités dans la PT.	Juillet 2014
	Formation des personnes ressources non réalisée	Définir l'organisation et les responsabilités.	Former les deux personnes ressources existantes.	Sept 2014
	Habilitation du personnel transversal	Définir l'organisation et les responsabilités.	Création des grilles d'habilitations.	Oct 2014
Locaux	Surveillance de la température ambiante non réalisée	Achat d'une sonde de température à relier à Sirius ² . Définir la PR de gestion.	Sonde reliée. PR écrite.	Déc 2014
Matériel	Vérification des performances non programmée	Définir le QQQCP ? Validation du contrôle utilisé.	Trouver un contrôle. Définir les modalités dans la PT.	Juillet 2014
	Inventaire obsolète	Mettre à jour l'ensemble de l'inventaire. Paramétrer les équipements sur KaliLab	Inventaire Excel à jour. 80% du matériel sur KaliLab.	Sept 2014
	Pas de procédure technique regroupant les MO	Créer une procédure technique sur la gestion des 3730.	PT diffusée.	Sept 2014
	Pas de procédure matériaux défectueux	Définir l'organisation et les responsabilités.	Rédaction d'un MO que faire en cas de dysfonctionnement. Définir les modalités dans la PT.	Sept 2014
	Pas de définition des responsabilités pour les maintenances	Définir l'organisation et les responsabilités.	Paramétrage des maintenances sur KaliLab. Définir les modalités dans la PT.	Sept 2014
Réactifs	Kits de spectrale non tracés	Modifier le MO Spectrale en incluant un enregistrement du lot et une vérification des performances après spectrale.	MO spectrale diffusée. Paramétrage sur KaliLab des spectrales comme une maintenance.	Sept 2014

Tableau 3 : Plan d'action pour la mise en conformité des 3730

² Sirius : logiciel de traçabilité dédié à la surveillance des températures.

2 DO

L'étape *Do* (en français « faire ») est l'étape de la construction, le développement, la réalisation de l'œuvre. Dans notre projet, elle aboutit à la mise en place de la procédure technique « Gestion des séquenceurs 3730 » et des outils associés pour son suivi.

2.1 *Création d'une procédure technique*

D'après la procédure de gestion de la documentation qualité du pôle BMP, une procédure technique est ainsi définie : « PT : Procédure technique : Description de la méthodologie, de la manière dont le travail doit être réalisé en utilisant certains principes, certaines étapes et certains outils, matériels ou instruments ».

La PT Gestion des séquenceurs 3730 définira : leur utilisation, leurs personnes ressources, leurs maintenances, le suivi de leurs performances, la gestion de leurs pannes, les étapes d'une analyse sous forme de logigramme et les documents associés à cette PT.

2.1.1 L'Utilisation

La PT définit que les utilisateurs des séquenceurs 3730 doivent être « autorisés » à cela. Les personnels utilisateurs des séquenceurs 3730, à la date d'application du document, sont autorisés de fait. Pour les nouveaux utilisateurs, cette autorisation est délivrée après formation.

✓ Les Formations Utilisateurs

La PT des séquenceurs 3730 organise les formations des utilisateurs et les rend obligatoire, pour l'obtention de l'habilitation à une activité de séquençage Sanger (uniquement pour les nouveaux arrivants). Cette habilitation est définie dans une procédure transversale pôle et est faite par un biologiste de l'UF avec lequel le technicien travaille.

Pour définir l'organisation des formations (3730 mais également des autres équipements), j'ai créé et diffusé un rapide questionnaire aux derniers arrivants (à partir de 2012) mentionnant (questionnaire complet en annexe V) :

- Qui vous a formé sur l'utilisation des automates ?
- Cette formation initiale vous a-t-elle semblée suffisante ?
- Selon vous, qui devrait réaliser les formations (tuteur, personnel transversal, référent équipement (ancienne appellation pour personnes ressources, autres membres...) ?

En parallèle, j'ai créé un deuxième questionnaire destiné aux tuteurs de ces derniers arrivants :

- Avez-vous fait appel à l'ingénieur/technicienne du Plateau Médico-Technique pour les formations sur les équipements en commun ?
- Avez-vous eu des difficultés à former la personne sur l'utilisation et la maintenance des équipements ? Vous manquait-il des connaissances ?
- Selon vous qui devrait réaliser les formations sur l'utilisation des équipements ?

Les réponses aux deux questionnaires sont différentes selon l'unité fonctionnelle interrogée.

J'ai pu interroger :

- UF 1 = 3 derniers arrivants et 2 tuteurs
- UF 2 = 2 derniers arrivants et 2 tuteurs

Pour l'UF 1 : les formations des automates, 3730, robots pipeteurs et extracteurs, ont été réalisées par le personnel transversal. Pour les petits équipements, thermocycleurs et nanodrop, les formations ont été faites par le tuteur. Pour l'UF 2, les formations ont été toutes réalisées par le tuteur.

Le tableau 4 résume les réponses obtenues à la question « Qui devrait réaliser les formations ? ».

La réponse L'interrogé	Type d'équipement	Tuteur	PMT	Personnes ressources	Autres
Nouvel arrivant (/5)	Automates	1/5	4/5	0/5	0/5
	Petits équipements	5/5	0/5	0/5	0/5
Tuteur (/4)	Automates	0/4	4/4	0/5	0/5
	Petits équipements	3/4	1/4	0/5	0/5

Tableau 4 : Résultats à la question « Qui devrait réaliser les formations ? » : nombre de réponses / nombre total de réponses

Leurs arguments cités en faveur du personnel transversal sont :

- Homogénéité des formations
- Permet de ne rien oublier
- Meilleure connaissance du principe de fonctionnement
- Plus de disponibilité
- Meilleure connaissance des maintenances à réaliser
- Expérience des erreurs courantes

Le groupe de travail a donc décidé de statuer sur cette organisation :

- **En cas d'installation d'un nouvel automate** : une personne par unité fonctionnelle sera formée directement par le fournisseur et sera alors la référente dans son unité. Elle sera habilitée à former son équipe.
- **S'il s'agit d'un ancien automate** : les formations des nouveaux arrivants seront réalisées par le personnel transversal et/ou le technicien « personne ressource » de l'automate en question.
- **Pour les petits équipements** (déjà installés ou futurs) : les formations seront sous la responsabilité du tuteur.

En respectant cette nouvelle organisation, les formations séquenceur 3730 pour les nouveaux arrivants seront faites par le personnel transversal (technicien ou ingénieur) ou bien par les personnes ressources (deux techniciens). Une check-list (Cf. annexe VI) des points à aborder dans cette formation a été établie pour assurer une homogénéité entre les formateurs. Cette liste a été créée sous la forme d'un enregistrement qui, une fois la formation réalisée, sera signée des deux acteurs (formateur/formé) puis scannée et conservée dans KaliLab.

✓ Les Formations Personnes Ressources

Au même titre que les techniciens utilisateurs, l'habilitation des techniciens « Personne Ressource » sera sous la responsabilité du biologiste de son unité fonctionnelle. Une ligne « Personne ressource » sera ajoutée aux grilles d'habilitation des techniciens. Les formations seront, quant à elles, assurées par le personnel transversal qui possède l'expertise et l'expérience des maintenances (à préciser dans leur habilitation). Une fiche de formation des personnes ressources indiquant les points de formation (Cf. annexe VII) a été créée et sera conservée pour traçabilité dans KaliLab.

L'habilitation du personnel transversal (Ingénieur et Technicien) ?

Jusqu'à présent, le personnel transversal n'est pas habilité. Il a été décidé que ce personnel sera habilité par un biologiste, lui aussi transversal. Il s'agira du coordinateur du CGMC. Les grilles d'habilitation sont en cours d'élaboration.

2.1.2 Les maintenances

✓ Les maintenances par le laboratoire

Les MO des maintenances existaient tous. Dans la PT, nous définissons qui en a la responsabilité et leur périodicité selon les préconisations du fournisseur. Dans l'idée de diminuer le nombre de MO et pour une meilleure gestion, nous regroupons l'ensemble des maintenances faites par l'utilisateur dans un même MO et l'ensemble des maintenances à réaliser par les référents/personnel technique dans un deuxième MO (6 MO regroupés en 2 MO). Les maintenances sont programmées sur KaliLab qui sera notre outil de traçabilité.

✓ Les maintenances par le fournisseur

Les maintenances préventives seront gérées dans KaliLab. Les rapports de qualification fournis seront stockés ensemble dans un onglet du classeur de l'équipement avec en première page un tableau récapitulatif des dates de maintenances. Les rapports d'intervention du Service Après Vente (SAV) seront également conservés dans ce classeur. La PT définit les actions à réaliser après chaque type d'intervention SAV. L'équipement ne sera remis en service qu'une fois ces actions validées.

2.1.3 La vérification périodique des performances

Jusqu'à présent, les séquenceurs n'étaient pas vérifiés périodiquement. Les utilisateurs alertaient le personnel transversal d'un potentiel problème détecté directement à partir d'un constat d'anomalie de la qualité des séquences des patients. Les séquenceurs 3730 ne sont pas certifiés CE-IVD. Aucune recommandation n'est émise par le fournisseur concernant une vérification périodique des performances. La société assure uniquement une qualification de l'appareil sur demande. Cette qualification consiste à séquencer une solution commerciale (Sequencing Standard BD V3.1) puis à traiter les données par un logiciel spécifique. Il s'avère que cette solution commerciale est au marché AGEPS (Agence Générale des Équipements et Produits de Santé) et que le logiciel est installé par défaut sur les ordinateurs pilotant les 3730. Nous avons décidé d'utiliser cette procédure afin de vérifier périodiquement les performances de nos séquenceurs. La société Life Technologie nous a alors formé à l'utilisation du logiciel AutoScore.

Le Sequencing Standard BD V3.1 reflète-t-il l'état du séquenceur ?

Restait à savoir si cette solution était suffisamment discriminante pour détecter un problème de séquenceur et surtout un vieillissement des capillaires.

Une étude a été entreprise consistant à séquencer en préventif 1 fois par mois cette solution (lors de la maintenance mensuelle) et à attendre une alerte utilisateur sur l'état des capillaires. L'objectif est de s'assurer que :

- quand le séquenceur fonctionne correctement, le score fourni par le logiciel est dans la fourchette des spécificités du fournisseur.
- qu'en cas de défaillance du séquenceur, le score n'atteint pas les spécificités du fournisseur.
- qu'en cas de vieillissement des capillaires, le score n'atteint pas les spécificités du fournisseur.

Pour notre modèle de séquenceur, la société Life Technologies recommande un score supérieur à 90 % pour valider le séquenceur. Pour le modèle 3500 certifié CE-IVD, la société a fixé ce seuil à 98,5 %.

Après 3 mois d'essais, nous avons pu dresser un premier bilan. En préventif, le score atteint est toujours supérieur à 99,9 %. En cas de défaillance du système (casse d'un capillaire), le score a chuté à 93 %. En cas de perte de résolution due à un vieillissement du capillaire, le score obtenu avant changement de capillaires est de 95 %.

En conclusion, le score de 90 % n'est pas discriminant. Nous le fixons donc à 98,5 % et continuons l'étude en séquençant en préventif 1 fois par mois la solution Sequencing Standard BD V3.1. En cas d'alerte utilisateur sur l'état des capillaires, nous séquencerons cette solution avant et après changement de capillaires.

A quel rythme vérifier les performances des 3730 ?

Pour définir le rythme de vérification, nous nous sommes calqués sur le rythme préconisé pour la surveillance du séquenceur 3500 CE-IVD de la même société. D'après le manuel utilisateur du séquenceur 3500, la vérification des performances du séquenceur est à réaliser 1 fois par mois. Nous fixons donc le même délai. La vérification des performances est programmée en même temps que la maintenance mensuelle (délai de tolérance 5 jours). Nous programmons cette vérification périodique des performances sur le logiciel KaliLab. Les données brutes de cette vérification seront conservées sur l'ordinateur de chaque séquenceur à un emplacement défini dans le MO.

Conditions d'utilisation du Sequencing Standard BD V3.1 ?

Lors de la précédente étude, nous avons évalué le nombre possible de réutilisation de cette solution. Cette séquence est reçue lyophilisée puis est resuspendue lors de première utilisation. Par expérience, nous savons que les produits d'une réaction de séquence peuvent être congelés sans altération pendant 6 mois et que généralement les kits marqués supportent 3 cycles de congélation/décongélation. Nous avons ainsi montré qu'une solution de Sequencing Standard BD V3.1 pouvait être congelée et décongelée 3 fois sans aucune altération de sa séquence. Ce nombre a été ajouté au MO et les résultats des tests conservés sur l'ordinateur du 3730 n°1.

2.1.4 Procédure en cas de panne

La PT contient un paragraphe définissant l'organisation en cas de dysfonctionnement des appareils. Nous distinguons 4 cas :

- Dysfonctionnement détecté sur la qualité des données brutes.
- Dysfonctionnement en cours d'analyse.
- Dysfonctionnement d'un des deux 3730.
- Dysfonctionnement avec indisponibilité des deux 3730.

Pour chaque cas, la démarche à suivre est précisée. Un MO nommé « Que faire en cas de dysfonctionnement des 3730 » a été créé. Il se présente sous forme d'un arbre décisionnel permettant à l'utilisateur de procéder aux interventions de base (Cf. annexe VIII).

2.1.5 Logigramme d'une analyse et documents associés

Nous avons rédigé le logigramme d'une analyse en indiquant pour chaque étape, les responsabilités et les MO auxquels se référer. Ce logigramme nous a permis de revoir l'organisation des MO. Nous avons regroupé certains MO et sommes parvenus à réduire le nombre de MO de 23 à 10. L'ensemble des documents qualité liés aux séquenceurs 3730 sont listés en fin de PT, ce qui facilitera le téléchargement des documents dans KaliLab.

2.2 Paramétrage du Logiciel KaliLab

Le logiciel KaliLab va nous permettre de centraliser tous les renseignements concernant le parc d'équipements y compris pour nos séquenceurs 3730 (fiche signalétique, données fournisseurs, données d'achat, responsables, contacts SAV, contrat, etc...), mais il permet aussi de paramétrer et tracer les maintenances quotidiennes réalisées dessus, ainsi que les pannes et anomalies. Le logiciel KaliLab est, depuis septembre 2014, notre outil de gestion du système documentaire qualité. Il permet de suivre et maîtriser le cycle de vie d'un document (rédaction, vérification, approbation, diffusion, modification, archivage, revue et révision ...). KaliLab favorise également la consultation en ligne des documents et évite ainsi au maximum les documents « papier » dans le laboratoire. Il permet en outre un suivi des attestations de lecture de document.

✓ L'identification du matériel

Avant l'installation de KaliLab, les équipements du CGMC (hors pipettes et hors froid) étaient référencés dans un fichier Excel tenu à jour par le personnel transversal. Progressivement, ce fichier va disparaître, les matériels étant enregistrés dans le logiciel KaliLab.

Nous avons ainsi créés deux fiches d'identification, une par appareil, pour les séquenceurs 3730 en remplissant au maximum les données disponibles au laboratoire. Chaque fiche est constituée de 3 onglets (cf Figure 5) :

- Onglet « Fiche signalétique » : précisant la désignation, le numéro inventaire, le type d'appareil, le numéro de série, la référence, la marque, les dates de réception et de mise en service, l'état à la réception, la notion de criticité, le service affecté, la localisation.
- Onglet « Données techniques » : présentant les caractéristiques techniques.
- Onglet « Contact » : figurant les coordonnées du SAV, de la hotline et du commercial.

The screenshot displays the KaliLab software interface for equipment identification. It features three main tabs: 'Fiche signalétique', 'Données techniques', and 'Contacts'. The 'Fiche signalétique' tab is currently active, showing a form with the following fields: Désignation (3730 n°1 - 2008275), Numéro d'inventaire (IPKH-AUT-0005), Type (Automate (AUT)), Numéro de série (18122-009), Référence (ABI IPSEM 3730 - 48 capillar), Marque (Life Technologies), Date de réception (calendar icon), Etat à la réception (neuf, occasion, prêt...), Date de mise en service (24-04-2008), Nombre de réactifs (calendar icon), Matériel critique (Yes/No/RF/Out), and Hygiène et Sécurité (Yes/No/RF/Out). Below these are 'Localisations' with fields for Service affecté (Muhrenhaus (M)), Localisation(s) (Apothèque localisation), Site(s) utilisat(eur(s)) (IPKH), and PSL-GENETIQUE (IPKH/NEUROGENETIQUE). The 'Données techniques' tab shows 'Fournisseur' (Automate (AUT)), 'Prix (€ HT)' (€ 35101,5338), 'Référence de la commande', 'Numéro de contrat de maintenance', 'Nature de l'assurance', 'Date de début de la garantie' (calendar icon), 'Date de fin de la garantie' (calendar icon), 'Fichiers joints' (Ajouter des fichiers joints), and 'Caractéristiques techniques' (Température de la salle: 15 à 20°C, +/- 3°C en 24h; Pas de jussec, direct). The 'Contacts' tab lists 'Contacts' (Numero de téléphone SAV: 01 69 59 85 34 - Hotline SAV; Interlocuteur SAV: Stéphane GERLOT; Numero de téléphone hotline: 01 69 59 85 18 - Support Appl; Numero de téléphone du commercial: 06 23 71 31 62; Interlocuteur commercial: Soraya MEZAB) and 'Contacts matériel' (Create new contact). At the bottom, it shows 'Validé par: LEITE PATRICIA / 30.05.2014' and a 'Modifié' button.

Figure 5 : Fiche signalétique du séquenceur 3730 n°1 extraite de KaliLab

L'inventaire matériel a été mise à jour en juillet 2014 et comprend :

- 289 matériels en Biologie moléculaire
- 83 matériels en Cytogénétique

Aujourd'hui, nous avons pu programmer 130 matériels en Biologie moléculaire et 24 pour la cytogénétique dans KaliLab, ce qui représente respectivement 45 % et 29 % de l'ensemble du matériel. Nous nous fixons un objectif de 80 % des équipements paramétrés sur KaliLab pour décembre 2014.

✓ Gestion et traçabilité des maintenances des séquenceurs 3730

Le logiciel KaliLab permet de programmer des maintenances périodiques. Nous utilisons cette fonctionnalité pour que le personnel (comme défini dans la PT) soit informé en temps réel dans son tableau de bord de l'état des maintenances programmées sur les séquenceurs (à faire dans le délai de tolérance défini, en retard, en retard « hors délai »). Une fois l'opération de maintenance réalisée, la prochaine se reprogramme automatiquement, et l'alerte disparaît des tableaux de bords des personnels concernés. En plus de tracer la réalisation des maintenances, nous demandons à l'utilisateur de noter les lots de réactifs utilisés.

Nous avons ainsi paramétré 4 maintenances dites « planifiées » c'est-à-dire celles qui ont une fréquence de réalisation prédéterminée :

- Maintenance tous les 2 jours : changement de tampons.
- Maintenance tous les lundis : nettoyage de la seringue.
- Maintenance tous les premiers lundis du mois : réalisation du *water wash*.
- Maintenance tous les 11 mois : maintenance préventive annuelle à programmer.

En plus des maintenances périodiques, nous avons créé 4 modèles pour les maintenances occasionnelles, qui n'ont pas de fréquence de réalisation :

- Le changement de capillaires à réaliser qu'en cas de diminution des performances
- La réalisation des spectrales à réaliser qu'en cas de diminution des performances
- La vérification des performances occasionnelle à réaliser qu'en cas de diminution des performances
- Le changement de polymère : à réaliser lors de l'épuisement du réactif ou en cas de diminution des performances.

The screenshot shows a web browser window with the URL 'https://kaliLab.p01.labs.aphe.fr/~/Material=19475 - Maintenance Gestion'. The page title is 'Maintenance Gestion'. There are three buttons at the top: 'Ajouter une maintenance', 'Accès aux fiches de maintenances effectuées', and 'Accès aux maintenances arrêtées'. A search bar contains the text '[PXHD-AUT-0005] 3730 n°1 - 2006275' and an 'Afficher' button. Below the search bar are two tables.

Maintenances Planifiées						
N° de Fiche	Désignation	Numéro d'inventaire	Fréquence	Description	Délai de Tolérance	Date Prévue
05-14-37802	3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005	2 jour(s)		0.5 jour(s)	22.09.2014
02-14-20849	3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005	Tous les Lun		1 jour(s)	22.09.2014
02-14-20851	3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005	Premier Lun		5 jour(s)	22.09.2014
07-14-49279	3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005	11 mois		120 jour(s)	22.09.2014

Maintenances occasionnelles modèles			
Désignation	Numéro d'inventaire	Description	Délai de Tolérance
3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005		0 jour(s)
3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005		0 jour(s)
3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005		0 jour(s)
3730 n°1 - 2006275	PXHD-AUT-0005		0 jour(s)

Figure 6 : Maintenances du séquenceur 3730 n°1 programmées sur KaliLab.

✓ L'historique des anomalies

Avant l'obtention de KaliLab, l'historique des anomalies sur les séquenceurs 3730 était géré manuellement à l'aide de fiches nommées « Incidents » et conservées dans le classeur de l'équipement. Afin d'éliminer la gestion « papier » de ces fiches, nous avons choisi d'utiliser le logiciel KaliLab comme déclaration des anomalies et pannes du matériel. La procédure générale sur les non-conformités (hors réception) est en cours d'élaboration par la cellule qualité pôle.

✓ Gestion des formations et habilitations

KaliLab a une fonctionnalité permettant de créer et planifier les formations et d'y rattacher les formations prévues pour le personnel. Elle traite aussi bien des formations, externes ou internes, ainsi que des évaluations de formation et les évaluations des acquis. La cellule pôle n'a pas encore statué sur l'utilisation de cette fonctionnalité en lieu et place du passeport formation disponible à la direction des ressources humaines (DRH). En attendant, notre enregistrement « Formation à l'utilisation des 3730 » après émargement des deux parties formateur-formé, deviendra un enregistrement de preuve qui sera conservé dans KaliLab après avoir été scannée (le fichier informatique portera le nom du technicien formé). Il pourra aussi, le cas échéant, être transmis à la DRH pour compléter le passeport formation du technicien.

KaliLab peut aussi assurer la mise en place des qualifications du personnel, et leur habilitation suite à évaluation des compétences. Cette fonction n'est pas encore mise en service et ne sera donc pas utilisée pour le moment. A terme, elle nous permettra de trouver le personnel qualifié sur un automate à partir de la fiche matériel de ce dernier ou de la formation rattachée.

✓ Gestion documentaire

La PT Gestion des séquenceurs 3730 et les documents associés seront, une fois validés, téléchargés dans KaliLab. Ces documents en ligne seront liés les uns aux autres :

- Les automates séquenceurs 3730 et les documents qualité.
- La pièce d'utilisation et les documents qualité.
- Les unités concernées par l'utilisation et les documents qualité.
- Le processus qualité et les documents qualité.
- La phase de réalisation de l'analyse (phase analytique) et les documents qualité.

Après discussion, nous avons décidé d'imprimer un exemplaire de chaque document qui sera conservé dans un classeur à proximité du point d'utilisation. L'impression des exemplaires « papier » sera suivie dans KaliLab. Les annotations manuscrites ont été interdites dans la nouvelle procédure de gestion documentaire émanant du pôle. Le personnel a la possibilité d'ajouter et de faire suivre des commentaires sur la page de gestion des documents pour formuler des demandes de modification ou pour indiquer des modifications dans l'attente de mise à jour du document. Cette dernière utilisation sera préférée en vue de conserver une trace dans l'historique du document.

2.3 Suivi des températures des équipements critiques

Le logiciel Sirius est un logiciel de traçabilité dédié à la surveillance des températures. Aujourd'hui, il permet de surveiller l'ensemble des enceintes thermostatées (chaudes ou froides) du pôle de Biologie Médicale et Pathologie. Le groupe de travail a fait une demande d'achat d'une sonde de température pour surveiller la pièce où ont été installés nos deux séquenceurs 3730. Cette sonde sera reliée au logiciel Sirius. A ce jour, la sonde n'est toujours pas installée. La pertinence de l'achat d'une telle sonde est à réexaminer. Deux raisons ont poussé le service à s'interroger :

- 1- La température de la pièce n'est pas réglable. La pièce est équipée d'un refroidisseur qui se régule en fonction de la température extérieure. Que faire en cas d'alerte de la sonde ? Comment ajuster la température ? Quelle sera l'action entreprise ?
- 2- Comment s'assurer que la température de la pièce ne varie pas de plus ou moins 3°C en 24h ? Comment définir les 24h ?

2.4 Suivi des actions

	Ecart	Actions envisagées	Objectifs	Délai	Suivi (au 01/09/2014)
Gestion documentaires	Documents non référencés	Sont-ils utilisés ? Si oui, les référencer.	Supprimer les documents non référencés.	Juin 2014	Documents supprimés.
	Nombreux MO	Revoir les MO. Diminuer leur nombre. Les insérer dans KaliLab.	Pas plus de 15 MO pour le séquenceur.	Juin 2014	MO rédigés. En cours de validation par la cellule qualité.
	MO imprimés pas à jour.	Doivent-ils être imprimés ? Mettre à jour.	100% des documents imprimés à jour.	Sept 2014	
	Annotations manuscrites sauvages	Interdire les annotations manuscrites (annotations sur KaliLab). Diffusion de la nouvelle PR Gestion Documentaire.	0% d'annotation. 98% d'attestations de lecture	Déc 2014	
Formation habitation	Pas de formation utilisateurs	Définir l'organisation et les responsabilités.	Créer une check-list des points à voir. Définir les modalités dans la PT.	Juillet 2014	Fait. PT 3730 en cours de validation par la cellule qualité
	Formation des référents non réalisée	Définir l'organisation et les responsabilités.	Former les deux référents existants.	Sept 2014	1 ^{er} référent : 0% 2 ^{ème} référent : 75%
	Habilitation du personnel transversal	Définir l'organisation et les responsabilités.	Création des grilles d'habilitations.	Oct 2014	Grille de l'ingénieur rédigée.
Locaux	Surveillance de la température ambiante non réalisée	Achat d'une sonde de température à relier à Sirius. Définir la PR de gestion.	Sonde reliée.	Déc 2014	En cours de réflexion
Matériel	Vérification des performances non programmée	Définir le QQQCP ? Validation du contrôle utilisé.	Trouver un contrôle. Définir les modalités dans la PT.	Juillet 2014	Fait. PT 3730 en cours de validation par la cellule qualité.
	Inventaire obsolète	Mettre à jour l'ensemble de l'inventaire. Paramétrer les équipements sur KaliLab	Inventaire Excel à jour. 80% du matériel dans KaliLab.	Sept 2014	41 % du matériel sur KaliLab.
	Pas de procédure technique regroupant les MO	Créer une procédure technique sur la gestion des 3730.	PT diffusée.	Sept 2014	PT 3730 en cours de validation par la cellule qualité.
	Pas de procédure matériaux défectueux	Définir l'organisation et les responsabilités.	Rédaction d'un MO que faire en cas de dysfonctionnement. Définir les modalités dans la PT.	Sept 2014	Fait. PT 3730 en cours de validation par la cellule qualité.
	Pas de définition des responsabilités pour les maintenances	Définir l'organisation et les responsabilités.	Paramétrage des maintenances sur KaliLab. Définir les modalités dans la PT.	Sept 2014	Fait PT 3730 en cours de validation par la cellule qualité.
Réactifs	Kits de spectrale non tracés	Modifier le MO Spectrale en incluant un enregistrement du lot et une vérification des performances après spectrale.	MO spectrale diffusée. Paramétrage sur KaliLab des spectrales comme une maintenance.	Sept 2014	Fait

3 CHECK

La troisième étape de la roue de Deming est l'étape Check (en français « vérifier »). Elle consiste à contrôler l'aptitude de la solution, qui a été mise en place, à résoudre le problème ou à améliorer le processus. Dans le cadre de ce mémoire, l'état d'avancement du projet ne permet pas d'appliquer cette étape. Elle débutera à la date d'application de la procédure technique « Gestion des séquenceurs 3730 ». Néanmoins, nous pensons mettre en place des outils de suivi afin de permettre la réalisation de cette étape.

3.1 Mise en place d'indicateurs de suivi

	Objectif	N°	Indicateur	Cible	Périodicité	Résultat de départ (au 01/09/2014)
Formation	Assurer la formation des nouveaux utilisateurs	1	Taux de nouveau personnel formé	100%	Bimensuelle (pendant 1 an)	0 nouvel arrivé
	Assurer la formation des référents	2	Taux de référents formés	100%	Mensuelle (jusqu'à cible)	1er référent : 0% 2 ^{ème} référent : 75%
	Assurer l'habilitation du personnel transversal	3	Taux de personnel transversal habilité	100%	Mensuelle (jusqu'à cible)	0%
Doc	Assurer la gestion documentaire des séquenceurs 3730	4	Taux de documents insérés dans kaliLab	100%	Mensuelle (jusqu'à cible)	0 %
Locaux	Assurer les bonnes conditions environnementales d'utilisation des séquenceurs	5	Nombre mensuel d'alertes de la sonde	< 12	Semestriel (pendant 1 an)	Sonde non disponible
Matériel	Assurer la bonne utilisation des séquenceurs	6	Taux d'attestation de lecture de la PT	98%	Mensuelle (jusqu'à cible)	0%
	Assurer l'inventaire du matériel	7	Taux de matériel paramétré sur KaliLab	80%	Semestriel (jusqu'à cible)	41%
	Assurer la bonne exécution des maintenances	8	Taux de maintenances faites hors délai	5%	Mensuelle (pendant 1 an)	Non suivi. Attendre l'exploitation sur kaliLab.
	Assurer la fiabilité des résultats. Gérer la vétusté du matériel	9	Nombre de pannes bloquantes par équipement	0	Annuelle (permanent)	En 2013 3730 n°1 = 2 3730 n°2 = 1
		10	Nombre de jours d'immobilisation (moy et max) / panne sur les 2 séquenceurs	< 4 jours	Annuelle (permanent)	En 2013 Moy = 2.4 jours Max = 4 jours
11	Nombre de fiches qualité (ne nécessitant pas de SAV) par équipement	< 4	Annuelle (permanent)	En 2013 3730 n°1 = 2 3730 n°2 = 2		

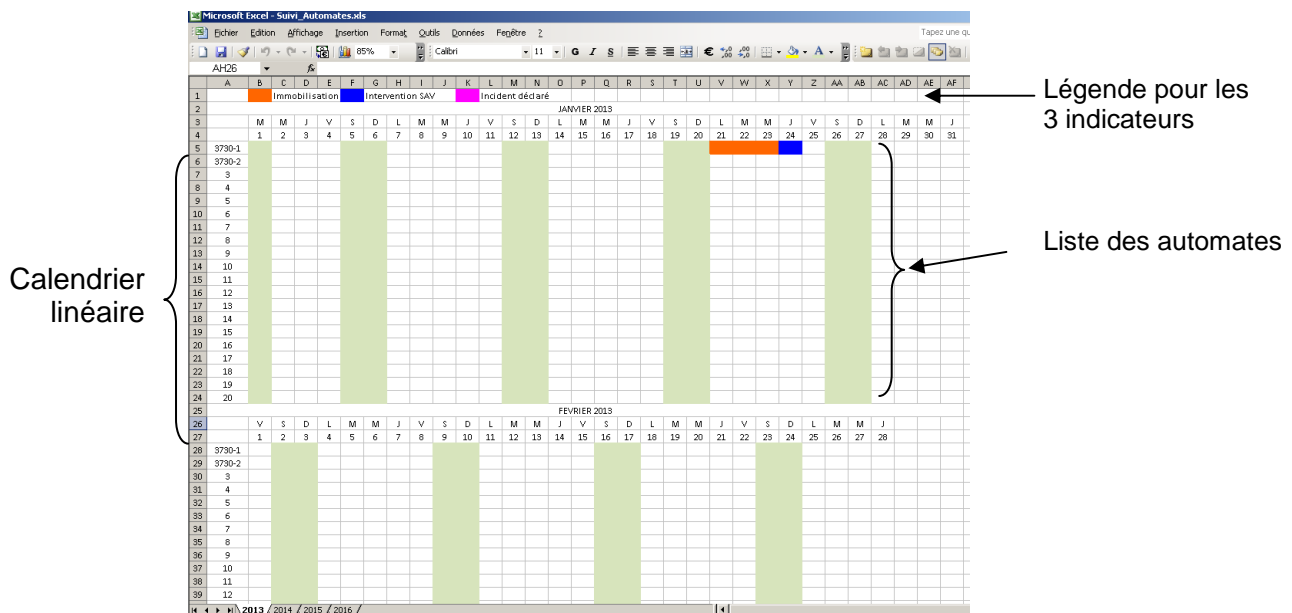
L'ensemble des indicateurs vont être suivis pendant 1 an. Les indicateurs n°2, 3, 4, 6 et 7 (sous fond bleu) seront suivis jusqu'à atteindre leur cible. Les indicateurs n°1, 9, 10 et 11 (sous fond rose) deviendront des indicateurs permanents de bon fonctionnement.

3.2 Mise en place d'indicateurs permanents

Nous décidons de fixer 4 indicateurs permanents qui seront, à terme, également applicables aux autres automates du CGMC :

- ✓ Taux de nouveau personnel formé
- ✓ Nombre de pannes bloquantes par équipement
- ✓ Nombre de jours d'immobilisation (moyenne et maximum) par panne et par équipement (ou modèle)
- ✓ Nombre de fiches qualité (ne nécessitant pas de SAV) par équipement

L'indicateur du taux de personnel formé sera suivi directement dans KaliLab. Pour extraire plus facilement les autres indicateurs, nous créons un fichier Excel nommé pour le moment « Suivi_Automates ». Il se présente sous la forme d'un calendrier linéaire où seront notés les 3 événements avec un code couleur différent.



4 ACT

L'étape Act (en français « agir ») consiste à agir et surtout à réagir, c'est-à-dire corriger et améliorer la solution mise en place, voire à standardiser cette solution. En fonction des indicateurs de suivi relevés en phase Check, la PT « Gestion des 3730 » sera ajustée. L'idée ensuite est de généraliser la méthode utilisée pour les séquenceurs aux autres automates.

PERSPECTIVES ET CONCLUSIONS

Perspectives

La réalisation de ce mémoire n'est pas une fin en soi. Le groupe de travail « Pièces communes et automates » aura pour objectif en septembre 2014 de finaliser la démarche PDCA entreprise en suivant le planning établi. Cette démarche sera ensuite déployée sur les autres automates afin de créer les quatre autres procédures techniques telles que définies dans le plan qualité du CGMC. Les points faibles au CGMC résident dans la diffusion de l'information et le respect des dispositions. La cause la plus probable est liée au grand nombre d'acteurs : 57 techniciens, 28 biologistes, 2 ingénieurs, 3 cadres et 5 secrétaires. La diffusion de l'information a été grandement facilitée par l'arrivée de KaliLab et l'obligation d'attester la lecture des documents qualité. Cela engage d'autant plus le personnel. Le respect des dispositions passera également par la validation des PT par l'ensemble des biologistes. Il faudra donc rester attentifs et mettre en place un programme d'audit régulier pour vérifier l'application des PT.

L'autre perspective sera d'exploiter au maximum les fonctionnalités de KaliLab pour faciliter la gestion qualité au quotidien sans rien oublier (exemple : évaluation et qualification du personnel, évaluation des formations...).

Conclusions

Le travail réalisé pour ce mémoire et les enseignements suivis lors de cette formation m'ont donné les outils et les bases pour définir des organisations à suivre lors de l'élaboration d'un quelconque processus. J'ai ainsi réussi à guider les réflexions de la sous-cellule qualité « Pièce communes et automates » d'une façon plus cohérente et construite en appliquant les outils qualité appropriés. Pour mener à bien ce projet, la sous cellule qualité a utilisé plusieurs outils qualité dont la roue de Deming et le diagramme d'Ishikawa. Cela lui a permis d'identifier les points à traiter et de définir un calendrier prévisionnel afin d'élaborer une procédure technique de gestion des séquenceurs 3730 et les documents associés. L'écriture de ces documents et la mise en place de nouvelles organisations ont été un véritable travail de groupe. Ce travail enrichissant a permis, à l'ensemble des participants, de prendre conscience de la nécessité d'une démarche qualité structurée.

BIBLIOGRAPHIE

Norme EN ISO 15186/2012-12, Laboratoires de biologie médicale Exigences concernant la qualité et la compétence, www.cofrac.fr.

Document de référence SH REF 02, Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de Biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189:2012, Révision : #04 - 10/2013, Date de publication : 11/10/2013, www.cofrac.fr.

Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, NOR: MESP9923609A, Version consolidée au 05 mai 2002, <http://www.legifrance.gouv.fr>.

SH FORM 03, Questionnaire d'auto-évaluation - Préparation de l'évaluation sur site selon la norme NF EN ISO 15189 : 2012, Révision : #02 - 01/2014, Date de publication : 27/01/2014, www.cofrac.fr.

Ann Biol Clin 2010 ; 68 (Hors série n°1) : 193-202 - Qualité et accréditation en biologie médicale – Maintenance des analyseurs et documentation associée.

Documentation technique, Applied 3730 system_Maintenance and Troubleshooting Guide, PN_4359473, Rev C, Life Technologies.

Documentation technique, USER GUIDE Applied Biosystems® 3730/3730xl DNA Analyzer, Life Technologies.

Documentation technique, Applied Biosystems 3730/3730xl DNA Analyser Installation Guide, Life Technologies.

Documentation KaliLab, www.netika.net/kalilab.

TABLE DES ANNEXES

Annexe I : Organisation de la qualité du sein du pôle Biologie Médicale et Pathologie.....	33
Annexe II : Organisation de la qualité au sein du Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique.....	34
Annexe III : Planning prévisionnel du projet.....	35
Annexe IV : Audit de gestion des équipements du CGMC.....	36
Annexe V : Questionnaires « Formation »	39
Annexe VI : Formation Utilisateur 3730	41
Annexe VII : Formation Personnes Ressources 3730	42
Annexe VIII : Que faire en cas de panne sur un séquenceur 3730 ?	43
Annexe IX : PT Gestion des séquenceurs 3730	44

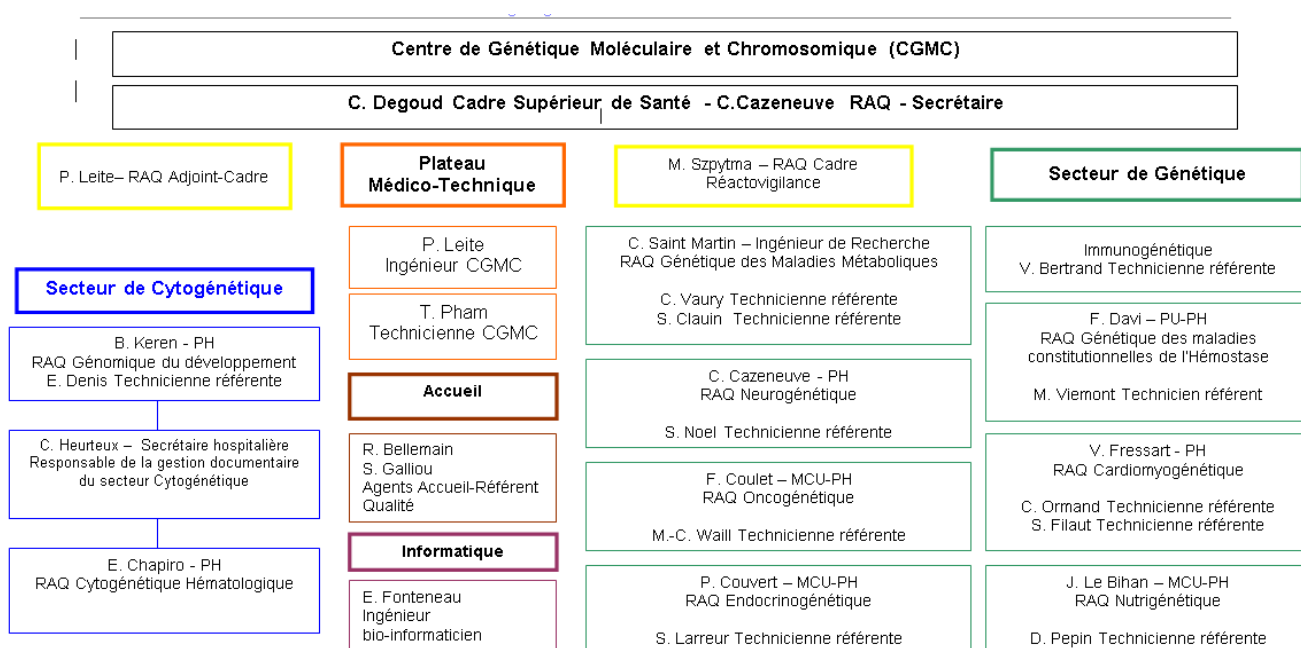
Annexe I :

Organisation de la qualité du sein du pôle Biologie Médicale et Pathologie

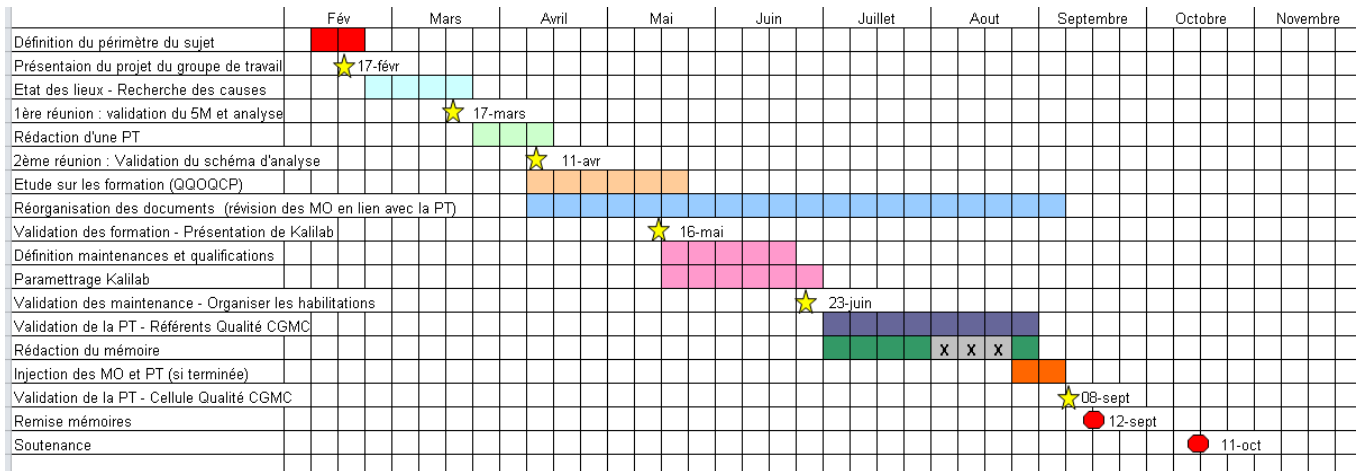


Annexe II :

Organisation de la qualité au sein du Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique



Annexe III : Planning prévisionnel du projet



Annexe IV : Audit de gestion des équipements du CGMC

Équipement audité : Séquenceurs 3730 (n°1 et n°2)
Effectué par : Groupe de travail « Pièce commune et automates »
Date : 16 Mai 2014

Questions	Oui	Non	N/A	Réponses (mettre les écarts en rouge)
4.3. Maîtrise des documents (pour la documentation spécifique aux séquenceurs)				
Les documents liés au 3730 sont-ils accessibles, conservés et/ou modifiés dans des systèmes informatiques ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MO révisés sur Labinfo (serveur accessible). Certains documents affichés sur les appareils ne sont pas référencés.
Si oui, existe-t-il une/des procédure(s) assurant ce type de gestion ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Documents suivent la procédure de Gestion documentaires (en cours de modification).
Les documents en vigueur sont-ils accessibles et disponibles sur leurs lieux d'utilisation ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		Documents imprimés et mis dans un classeur à proximité du poste de travail. Documents imprimés ne sont pas à jour.
Les modifications manuscrites des documents sont-elles autorisées ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		Oui dans la procédure en vigueur (en cours de modification). Des modifications sont apportées : par qui ? ont-elles été transmises ?
Le laboratoire possède-t-il une liste des documents avec l'état de leur diffusion ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		Liste à jour.
5. Exigences techniques				
5.1. Personnel				
Référent et personnel PMT : Des fiches de fonction explicitant les responsabilités, autorités et tâches existent-elles ?	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Taches et responsabilités des référents / personnel PMT non définies donc pas dans les fiches de fonction.
Le laboratoire procède-t-il à l'habilitation de son personnel à effectuer certains types de tâches particulières (réalisation de séquence, fonctionnement d'équipements spécifiques...) ?	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		Habilitation des utilisateurs faite dans certaines équipes. Pas d'habilitation des référents / personnel PMT.
Si oui, le laboratoire a-t-il défini des critères d'habilitation pour chacune de ces tâches spécifiques ?	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pas de gestion des formations : pas de définition du qui ? quand ? comment ? quelque soit le niveau (utilisateurs/référents). Pas de tracabilité.

- Le maintien des qualifications et/ou la compétence du personnel autorisé/habilité est-il assuré et démontré ? **Pas de maintien des compétences.**
- Des dispositions relatives à la « requalification » du personnel, après une longue absence par exemple, ont-elles été définies ? **Procédure générale existante mais pas appliquée pour les 3730.**

5.2. Locaux et conditions environnementales

- Les conditions ambiantes de réalisation des analyses sont-elles identifiées, surveillées, contrôlées et enregistrées ? **Recommandations Fournisseur : 15-30°C, +/- 3°C en 24h. Pas de surveillance.**
- Si oui, comment ?
.....
- Des dispositions particulières ont-elles été prises concernant les zones voisines où se déroulent des activités incompatibles, ou pour protéger des locaux susceptibles d'affecter la qualité des examens (zones contrôlées) ? **Zones pré-post PCR avec PR écrite et affichages portes.**

5.3. Matériel de laboratoire, réactifs et consommables

- Le laboratoire a-t-il démontré que l'équipement est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications se rapportant aux examens (validation/vérification des équipements) ? **Dossier de validation de méthode. Pas de contrôle périodique.**
- Le laboratoire a-t-il identifié les équipements "critiques", c'est-à-dire qui influent sur la qualité/fiabilité et l'exactitude du résultat de mesure, intervenant dans les examens ? **Dossier de validation de méthode : 2 appareils critiques.**
- Existe-t-il des procédures de vérification ? **Pas de métrologie possible sur cet appareil. Compensé par une maintenance préventive annuelle. Pas de vérification interne.**
- Un programme documenté de maintenance des instruments et des systèmes analytiques a-t-il été élaboré et mis en œuvre ? **Pas de PT. Mais mise en place des maintenances recommandés avec MO, périodicité, responsabilité et ENR existants et suivis.**
- Les matériels sont-ils identifiés ? **Pour 3730 OK. Inventaire à mettre à jour pour l'ensemble des équipements.**
- Des enregistrements concernant les matériels et des instructions concernant leur gestion, leur utilisation et leur maintenance sont-ils établis ? **Beaucoup de MO. Pas de PT. Enregistrements maintenances et utilisation ok.**

Existe-t-il des instructions concernant la gestion des matériels défectueux ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Existe des MO Demande sur optim ³ + affichage appareil défectueux. Pas de PT définissant les responsabilités.
Le laboratoire dispose-t-il de procédure(s) de paramétrage de ses matériels ?	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pas de procédure existante. MO réalisation calibration spectrale et spatiale excitants. Réalisés après maintenance préventive. Pas de programme périodique.
Des enregistrements concernant les réactifs et consommables et des instructions concernant leur gestion, leur acceptation et leur utilisation sont-ils établis ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Le dossier de validation vient de donner des critères acceptables d'une séquence. Traçabilité des réactifs en amont ainsi que ceux installés dans le séquenceur sont tracés. Réactifs pour calibration ne sont ni tracés ni géré (nombre de décongélation, acceptabilité)
Existe-t-il des instructions concernant la gestion des évènements indésirables liés aux matériels, réactifs et consommables, dont le signalement aux autorités compétentes le cas échéant ?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Fiches incidents et cas échéant fiche de non- conformité.

Légende :

En rouge : Ecart à la norme ou au référentiel

En vert : Points satisfaisants

³ Logiciel OPTIM : Logiciel de traçabilité du service biomédical.

Annexe V :
Questionnaires « Formation »

Questionnaire – Dernier arrivé	
Nom Prénom : UF : Date d'arrivée au Centre :	
Lors de votre arrivée, vous a-t-on remis la procédure d'accueil des nouveaux personnels du Centre ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Vous a-t-on remis un planning de formation ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Qui vous a formé sur l'utilisation des automates (Tuteur ou l'ingénieur/technicienne du Plateau Médico-Technique ou autre à préciser) ? - sur 3730 - sur Extragene ou QIASymphony - sur Hamilton - sur Beckman - sur thermocycleurs : 9700 / 2700/ Icyclor / C1000 / Primus 96 - sur qPCR : 7900 / 7000 / LC480 - sur GS Junior - sur Miseq	Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Autre :...
Cette formation initiale vous a-t-elle semblée suffisante ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
SI NON : Pourquoi (préciser l'équipement) ?	
Selon vous qui devrait réaliser les formations sur l'utilisation des équipements ? - sur 3730 - sur Extragene ou QIASymphony - sur Hamilton - sur Beckman - sur 9700 / 2700/ Icyclor / C1000 / Primus 96 - sur 7900 / 7000 / LC480 - sur GS Junior - sur Miseq	Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :...

Questionnaire – Tuteur

Questionnaire – Tuteur	
Nom Prénom : UF : Personnes formées et date du tutorat :	
Avez-vous à disposition un planning de formation à fournir au nouvel arrivant ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Avez-vous fait appel à l'ingénieur/technicienne du Plateau Médico-Technique pour les formations sur les équipements en commun ? SI OUI , pour quels équipements et/ou domaine ? SI NON , pourquoi ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Selon vous qui devrait réaliser les formations sur l'utilisation des équipements (PMT = l'ingénieur/technicienne du Plateau Médico-Technique ? - sur 3730 - sur Extragene ou QIASymphony - sur Hamilton - sur Beckman - sur 9700 / 2700/ Icyclor / C1000 / Primus 96 - sur 7900 / 7000 / LC480 - sur GS Junior - sur Miseq	Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :... Tuteur <input type="checkbox"/> PMT <input type="checkbox"/> Référent <input type="checkbox"/> Autre :...
Avez-vous eu des difficultés à former la personne sur l'utilisation et la maintenance des équipements ? Vous manquait-il des connaissances ? SI OUI , pour quels équipements et/ou domaine ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Conservez-vous une trace de ces formations ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Pensez-vous qu'un support, exemple une check-list des thèmes à abordés lors des formations, vous serait utile lors des formations ?	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Avez-vous d'autres remarques et/ou suggestions ?	

Annexe VI : Formation Utilisateur 3730

Formation à l'utilisation du 3730

Objectif : Savoir utiliser les 3730 Savoir réaliser les maintenances courantes Avoir des connaissances sur le fonctionnement du 3730 Acquérir les compétences pour réaliser une analyse de fragments ou de séquençage par Sanger.	Durée approximative : 3 heures
	Pré-requis : Connaître le principe d'une PCR et d'une réaction de séquence

NOM du Formateur :

NOM + APH de la personne formée :

Date de la formation :

<i>Programme de formation</i>	<i>Documents associés</i>	<i>Cocher si vu</i>
Présentation du 3730	PT Gestion des séquenceurs 3730	
Principe de fonctionnement		
Feuille de route		
Création d'une feuille de route Transfert sur le NAS	MO Faire une feuille de route pour le séquenceur 3730 + EN Liste des instrument protocoles et analysis protocoles disponibles sur les 3730	
Lancement d'un run		
Alhmage / Eteindre le 3730	MO Eteindre et rallumer le séquenceur 3730	
Maintenance tampon + eau (2jours)	MO Maintenances du séquenceur 3730	
Positionnement des plaques Chargement de la plaque	MO Lancer un run sur le séquenceur 3730	
Importation de la feuille de route (NAS)		
Liaison plaque - feuille de route		
Démarrage du run		
Visualisation du run en cours		
Inscription sur le planning informatique		
En fin de run		
Utilisation de Sequencing Analysis	MO Visualisation et impression des séquences par le logiciel sequencing analysis sur le séquenceur 3730	
Récupération des données (3730NAS)	MO Récupération – Réextraction - Archivage de run sur séquenceur 3730	
Ré-extraire les données		
Archivage des données		
Maintenances		
Maintenance hebdomadaire	MO Maintenances du séquenceur 3730	
Changement de polymère	MO Changer le polymère et Eliminer les bulles du séquenceur 3730	
Parces / Dysfonctionnement		
Que faire en cas de dysfonctionnement	MO Que faire en cas de dysfonctionnement des 3730 EN Affichage pour Appareil en parce	

Visa pour l'utilisation du 3730 avec création d'un Result Group au nom du formé :

Formateur :	Formé :
-------------	---------

Annexe VII : Formation Personnes Ressources 3730

Formation des Personnes Ressources 3730

<p>Objectif : Savoir réaliser la maintenance mensuelle Savoir faire une vérification des performances Savoir réaliser une spectrale Savoir réaliser le changement de capillaires</p>	<p>Pré-requis : Connaître le principe du 3730, son utilisation, la maintenance destinée aux utilisateurs du 3730.</p>
---	--

NOM du (des) Formateur(s) :

NOM + APH de la personne formée :

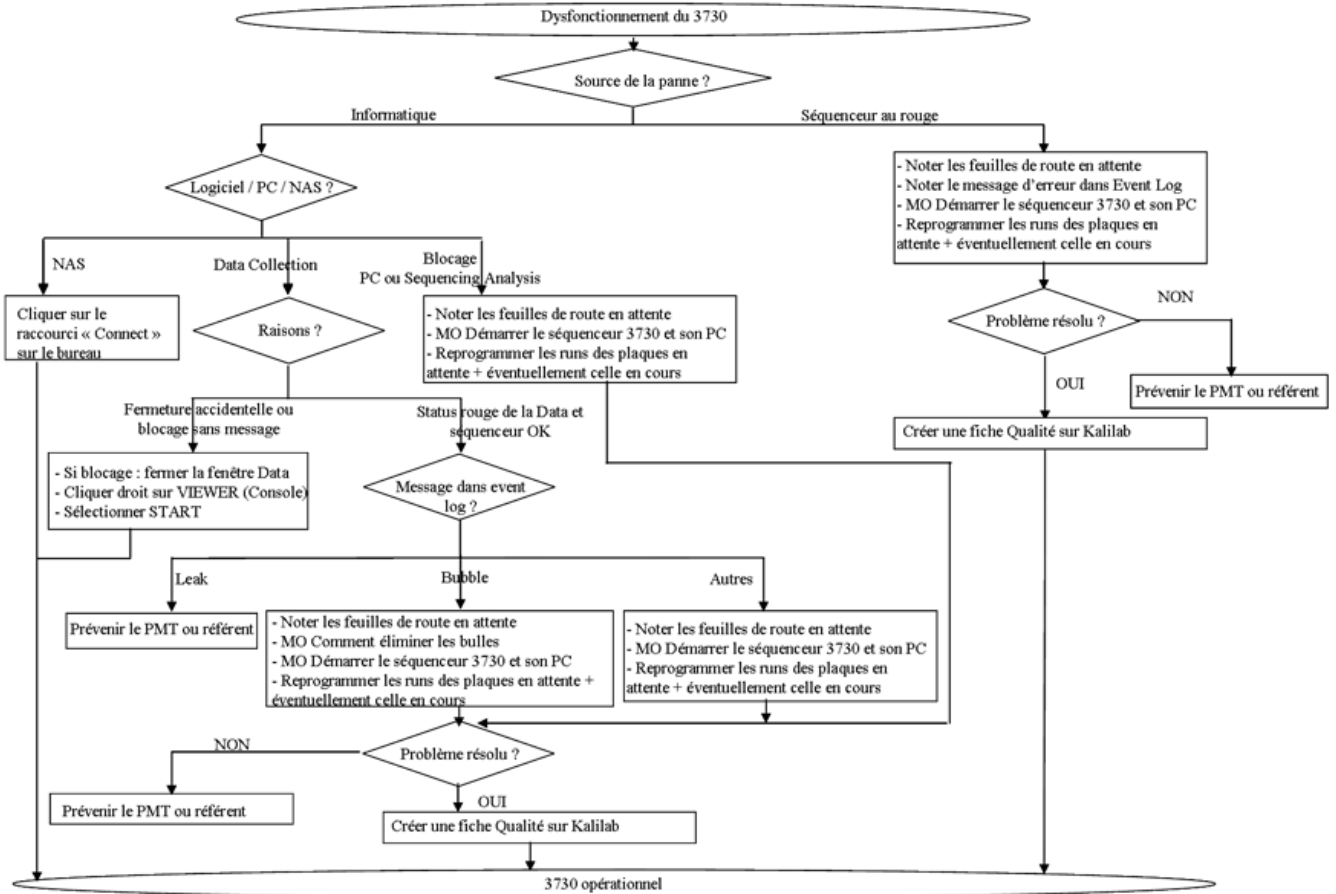
Programme de formation	Documents associés	Date	Initiales
Gestion des organisations et responsabilités	PT Gestion des séquenceurs 3730		
Maintenance mensuelle			
Quand			
Redémarrage du séquenceur + PC	MO Eteindre et rallumer le 3730 MO Maintenance pour les référents du 3730 KaliLab		
Lavage du piston			
Élimination de feuilles de route			
Réalisation de la spatiale			
Activation de la spectrale « HDR »			
Acquittement sur KaliLab + Archivage			
Vérifications des performances de la machine			
Quand			
Préparation de la plaque de séquence standard BDV3.1	MO Maintenance pour les du 3730 MO Vérifications des performances des séquenceurs 3730 KaliLab		
Faire importer la feuille de route			
Lancement du run			
Lancement du logiciel AutoScore			
Critères de validation			
Archivage des données			
Acquittement sur KaliLab			
Réalisation des spectrales			
Quand			
Préparation des plaques de spectrales	MO-Maintenance pour les référents du 3730 KaliLab		
Préparation des feuilles de route			
Interprétation des résultats des spectrales			
Acquittement sur KaliLab + Archivage			
Changement de capillaire			
Quelques précautions avant changement	MO-Maintenance pour les référents du 3730 KaliLab		
Remplacement des capillaires			
Réalisation de la spatiale			
L'activation de la spectrale « HDR »			
Archivage des données			
Acquittement sur KaliLab			
SAV			
Présentation du classeur équipement	Classeur 3730		
Contact SAV			
Procédure après intervention SAV		PT Gestion des séquenceurs 3730	

Une fois l'ensemble des modules suivis, Date :

Formateur :	Formé :
-------------	---------

Annexe VIII :

Que faire en cas de panne sur un séquenceur 3730 ?



Annexe IX :

PT Gestion des séquenceurs ABI PRISM 3730

PSL-GENETIQUE Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix	Gestion des séquenceurs ABI PRISM 3730	Ref : PXH-PT-005 Version : 01 Applicable le : 09-09-2014 
--	---	---

1 Objet

Cette procédure a pour objet de décrire l'organisation générale autour des séquenceurs ABI PRISM 3730.

2 Domaine D'application

Cette procédure concerne les techniciens utilisateurs du CGMC ou les utilisateurs autorisés.

3 Abréviations

CGMC : Centre de génétique moléculaire et chromosomique

PMT : Plateau médio technique

MO : mode opératoire

PR : procédure

EN : enregistrement

DPN : Diagnostic pré-natal

4 Définition des responsabilités

4.1 Utilisation

Les séquenceurs 3730 sont en libre accès, aux horaires d'ouverture du CGMC, aux personnes possédant une autorisation. Pour les nouveaux utilisateurs, cette autorisation est délivrée après formation. Les personnels utilisateurs des 3730, à la date d'application de ce document, sont autorisés de fait.

Qui réalise les formations	Le personnel transversal ou les techniciens ressources 3730
Qui est formé	Le nouvel utilisateur
Quoi	Formation à l'utilisation en routine du 3730- En utilisant la documentation associée.
Où	Formation interne – Au CGMC
Quand	A la demande du tuteur et/ou du formé
Comment	Selon le formulaire Formation à l'utilisation du 3730
Pourquoi	Délivrance de l'autorisation d'utiliser le 3730
Archivage	Sur kalilab

A l'issue de la formation, un Result Group et un dossier personnel sont créés sur les PC des 3730 destinés à la collecte des données brutes (cf. MO Paramétrage de la data base du 3730).

Le personnel transversal coordonne et supervise le bon fonctionnement des 3730 en collaboration avec les techniciens.

PSL-GENETIQUE	Gestion des séquenceurs ABI PRISM 3730	Ref : PXH-PT-005 Version : 01 Applicable le : 09-09-2014
Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix		

4.2 Personnes ressources

Les personnes ressources viennent en soutien aux utilisateurs et sont habilitées à réaliser les maintenances citées dans ce document. Les personnes ressources reçoivent une formation complémentaire :

Qui réalise cette formation	Le personnel transversal
Quoi	Formation niveau expert : réalisation des maintenances exceptionnelles et au fonctionnement poussé du 3730 - En utilisant la documentation associée.
Où	Formation interne – Au CGMC
Comment	Selon le formulaire Formation Personnes ressources 3730
Pourquoi	Habilitation à la réalisation des maintenances exceptionnelles
Archivage	Sur kalilab

4.3 Maintenances par le laboratoire

	Documents associés	Responsabilités	Tracabilité
Maintenance tous les 2 jours	MO Maintenances du séquenceur 3730	Utilisateur	Kalilab
Maintenance hebdomadaire	MO Maintenances du séquenceur 3730	Utilisateur	Kalilab
Maintenance Mensuelle	MO Maintenances du séquenceur 3730	Personnel transversal / Personne ressource	Kalilab
Changement de polymère	MO Changer le polymère et Eliminer les bulles du séquenceur 3730	Utilisateur	Kalilab
Changement de capillaires	MO Maintenance exceptionnelle du séquenceur 3730	Personnel transversal / Personne ressource	Kalilab – PC 3730
Réalisation d'une spectrale	MO Maintenance exceptionnelle du séquenceur 3730	Personnel transversal / Personne ressource	Kalilab – PC 3730

4.4 Maintenances fournisseur

Conformément aux préconisations du fournisseur, 1 visite de maintenance préventive est réalisée 1 fois par an (délai tolérance +/- 3 mois) par le SAV du fournisseur. Le personnel transversal et les personnes ressources tiennent à jour le planning des maintenances (Kalilab), assurent la traçabilité des maintenances en conservant les rapports d'intervention dans le classeur du matériel et réalisent les interventions post-maintenance (selon le tableau ci-dessous) :

Que faire après ?	Réalisation spatiale : MO Maintenance exceptionnelle	Réalisation spectrale : MO Maintenance exceptionnelle	Vérification des performances : MO Vérification des performances des séquenceurs 3730
Maintenance préventive	OUI	OUI	OUI
Maintenance curative avec intervention sur l'optique	OUI	OUI	OUI
Autres maintenance curatives	NON	NON	OUI

4.5 Vérification des performances

Qui	Personnel transversal / Personne ressource
Quoi	Séquençage d'un run (48 puits) de SEQUENCING STD V3.1
Où	Sur l'un et/ou les 2 séquenceurs 3730
Quand	1 fois / mois en préventif En cas d'alertes sur la qualité des séquences par les utilisateurs Après changement de capillaires Après nouvelles spectrales Après intervention du SAV
Comment	MO Vérification des performances des séquenceurs 3730
Pourquoi	Vérification de l'appareil
Archivage	Kalilab + PC 3730

5 Méthodologie

5.1 Analyses réalisées

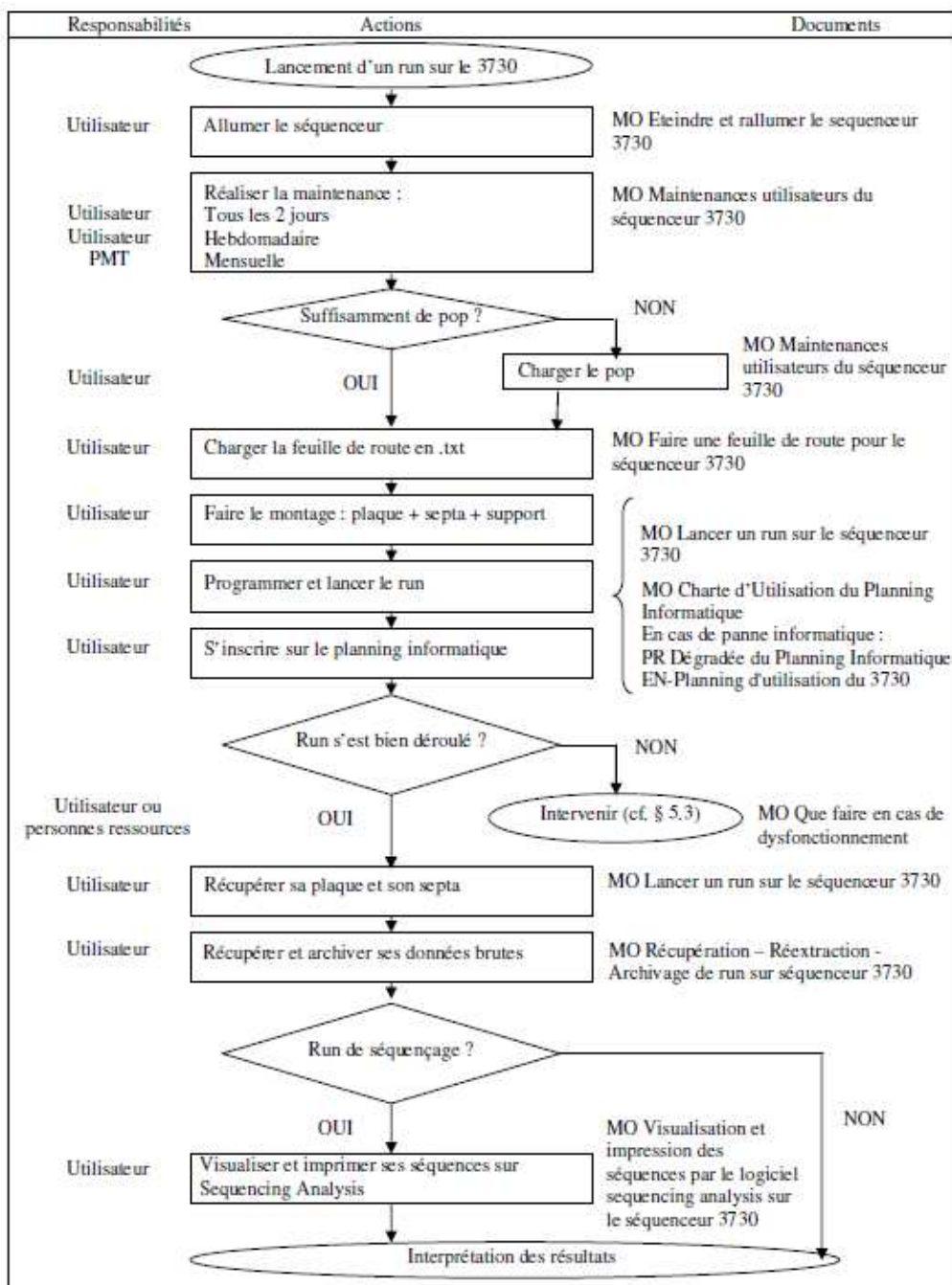
Deux types d'analyses sont fréquemment réalisés sur les automates 3730 :

- L'analyse de taille de fragments (MLPA, QMPSF, analyse des microsatellites, profil génétique...)
- L'analyse par séquençage (méthode Sanger)

Les deux types d'analyse utilisent le même processus sur le séquenceur à l'exception de la dernière étape « Visualiser et imprimer ses séquences sur Sequencing Analysis », absente pour un run de taille de fragments.



5.2 Etapes successives de l'analyse



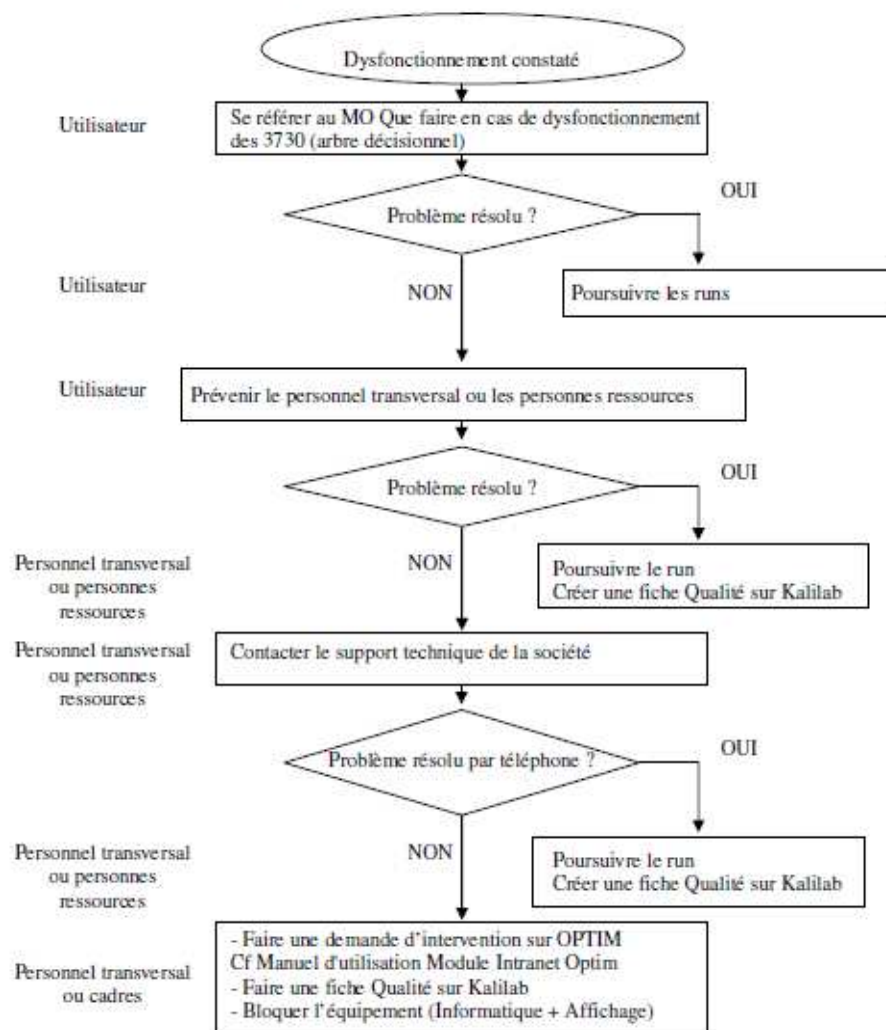



5.3 En cas de dysfonctionnement

- Sur la qualité des données brutes

Si la qualité des résultats ne respecte pas les critères fixés dans les dossiers de validation de méthode correspondants et que l'instrument est potentiellement en cause, les utilisateurs doivent prévenir le personnel transversal pour contrôler le séquenceur. Si le passage du contrôle révèle effectivement un dysfonctionnement de l'instrument, le personnel transversal crée une Fiche Qualité sur Kalilab et, le cas échéant, font une demande d'intervention sur OPTIM (Cf Manuel d'utilisation Module Intranet Optim - Accès via Safran).

- Sur le déroulement de l'analyse



PSL-GENETIQUE Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix	Gestion des séquenceurs ABI PRISM 3730	Ref : PXH-PT-005 Version : 01 Applicable le : 09-09-2014
		

- En cas d'indisponibilité d'un des deux 3730 :

Les utilisateurs peuvent utiliser l'autre 3730 en adaptant si nécessaire leur instrument protocole (cf Liste EN Instrument Analysis Protocole disponible sur les équipements)

Pendant cette période, si possible, les utilisateurs ne doivent pas lancer plus de 2 plaques en même temps par personne.

Les utilisateurs ont l'autorisation de passer en priorité leurs plaques devant celles des autres et ce uniquement en cas d'**urgences** telles que définies par les biologistes (type DPN, pré-symptomatiques, adaptation thérapeutique..).

- En cas d'indisponibilité des deux 3730 :

Si l'analyse n'est pas urgente, l'analyse est mise en attente.

En cas d'urgence réelle (défini par le biologiste), l'analyse pourra être réalisée dans un autre service du pôle possédant un 3730 si l'indisponibilité de nos deux 3730 excède 48h ouvrés.

6 Liste des documents associés

MO Faire une feuille de route pour le séquenceur 3730

EN Formation à l'utilisation du 3730

MO Visualisation et impression des séquences par le logiciel sequencing analysis sur le séquenceur 3730

MO Maintenance référents du séquenceur 3730

MO Lancer un run sur le séquenceur 3730

MO Récupération – Réextraction - Archivage de run sur séquenceur 3730

MO Paramétrage de la data base du 3730 : result group, run module

MO Eteindre et rallumer le séquenceur 3730

MO Maintenances utilisateurs du séquenceur 3730

MO Que faire en cas de dysfonctionnement des 3730 (arbre décisionnel)

EN Liste des instrument protocoles et analysis protocoles disponibles sur les 3730

EN Planning d'utilisation du 3730

MO Vérification des performances des séquenceurs 3730

MO Charte d'Utilisation du Planning Informatique

PR Dégradée du Planning Informatique

Manuel d'utilisation Module Intranet Optim - Accès via Safran > Les Directions > Equipements >

Base documentaire

EN Affichage pour Appareil en panne

RESUME

Le Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique (CGMC) déposera, en juin 2015, une demande d'extension d'accréditation concernant une méthode d'analyse par Séquençage Sanger dans le sous-domaine Génétique. Lors de la constitution du dossier de validation de méthode et selon le SH REF 02, le laboratoire a identifié les séquenceurs ABI PRISM 3730 comme critiques dans cette méthode. Cet équipement n'ayant pas de marquage CE-IVD, le laboratoire doit mettre en place des méthodes et des procédures analytiques évaluées et validées. Le CGMC a décidé la création d'une procédure technique décrivant l'organisation mise en place autour de ces séquenceurs. Ce travail a été confié à la sous-cellule qualité « Pièce communes et automates ». Pour mener à bien ce projet, cette sous cellule a utilisé plusieurs outils qualité dont la roue de Deming et le diagramme d'Ishikawa. Cela lui a permis d'identifier les points à traiter et de définir un calendrier prévisionnel afin d'élaborer une procédure technique de gestion des séquenceurs 3730 et les documents, modes opératoires et instructions de travail, associés. Cette procédure décrit la gestion des séquenceurs : le suivi du planning des maintenances réalisées par le fournisseur et les techniciens, la validation des actions menées pour l'autorisation de remise en service, la gestion des rapports d'interventions et des pannes. Elle définit également l'organisation des formations, des utilisateurs et des personnes ressources, en s'appuyant sur une liste d'items définis. Un travail d'harmonisation et de maîtrise des documents a permis de limiter le nombre des documents rattachés à la procédure. Et pour finir, elle définit un fonctionnement en mode dégradé. La procédure technique « Gestion des séquenceurs 3730 » sera disponible dans le logiciel de gestion de la qualité KaliLab qui est en cours de déploiement dans le laboratoire. Le prochain objectif sera de généraliser la méthode utilisée pour les séquenceurs aux autres automates.