

Vérification d'une méthode qualitative et habilitation du personnel pour le diagnostic du paludisme



SIBY-DIAKITE Dieyenaba
Technicienne de laboratoire
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
Hôpital Saint-Louis
13/10/2014

Groupe Hospitalier Saint-Louis, Lariboisière, Fernand Widal

- 1 groupe hospitalier avec 10 pôles d'activité
- 1 LBM sur 2 sites (Saint Louis et Lariboisière)

Accréditation obtenue pour 2 analyses (biochimie et hémostase) en 2014

Objectif : 50% de l'activité en 2016

Secteur Parasitologie et Mycologie

Quatre analyses à accréditer en première intention :

- Ag galactomannane (famille sérologie infectieuse)
- Examen direct en mycologie (famille parasitologie/mycologie)
- PCR toxoplasmose (famille parasitologie/mycologie)
- **Diagnostic direct du Paludisme** (famille parasitologie/mycologie)

Organisation du secteur Parasitologie/Mycologie

Composition de l'équipe: 1 chef de service, 1 cadre, 1 secrétaire, 5 biologistes, 10 techniciens, 2 agents d'accueil, 2/3 poste de d'interne

Référents qualité : 1 biologiste et 1 technicien

Activité de jour (8h à 18h) : parasitologie directe, mycologie, immunologie, biologie moléculaire

Activité de nuit (18h à 8h) : diagnostic du paludisme et recherche par examen direct du cryptococcoque

Le diagnostic du paludisme

Le paludisme est transmis par un moustique : l'anophèle

Espèce potentiellement **mortelle** : *P. falciparum*

Diagnostic en urgence avec un résultat rendu dans les **2 heures**

Conférence de consensus : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* : recommandations pour la pratique clinique. 2007

Trois techniques différentes :

- frottis sanguin
- goutte épaisse (GE)
- test de diagnostic rapide (TDR)

Mettre en conformité le processus analytique concernant le diagnostic du paludisme :

- Mise a jour de la documentation
- Validation/vérification des méthodes
- Habilitation du personnel (interne)

Paramétrage de KALILAB en cours et utilisable en janvier 2015

Les documents déjà rédigés, vérifiés et validés :

Manuel d'assurance qualité, catalogue des analyses, manuel de prélèvement, procédures transversales, organigramme fonctionnel...

Documents relatifs au diagnostic du paludisme :

Une procédure interne

Trois modes opératoires :

- frottis sanguins + coloration
- goutte épaisse + coloration
- test de diagnostic rapide

Vérification de la méthode du diagnostique du paludisme (1/3)

Portée d'accréditation : SH INF 50

Code	Nature de l'échantillon biologique	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres critiques, ...)
PM7	Échantillons biologiques d'origine humaine Dispositifs implantables Culture parasitaire	Recherche et identification de parasites	Méthode de type qualitatif ou quantitatif Examen morphologique direct macro- et microscopique à l'état frais et/ou après préparation (concentration (centrifugation), fixation, coloration, culture, marquage, ...) Détermination phénotypique par caractérisation immuno-enzymatique (ELISA et dérivés...) et/ou microscopie d'immunofluorescence par marquage immunocytochimique (IF) avec ou sans préparation (concentration (centrifugation), fixation, coloration, culture, marquage, ...)	Méthodes reconnues (A) Méthodes reconnues, adaptées ou développées (B) (**)	

Vérification de la méthode du diagnostique du paludisme (2/3)

Ligne de portée d'accréditation :

- Domaine : Biologie médical
- Sous domaine : Microbiologie
- Famille : Parasitologie Mycologie (PARASITOMYCO)

Méthode manuelle reconnue → vérification en Portée A

Etude bibliographique : spécificite, sensibilité, stabilité des réactifs,
Comparaison des méthodes de références

Vérification sur site : contamination entre échantillons, comparaison des méthodes utilisées au laboratoire

Vérification de la méthode du diagnostique du paludisme (3/3)

Formulaire SH FORM 44 → Maitrise des risques 5M

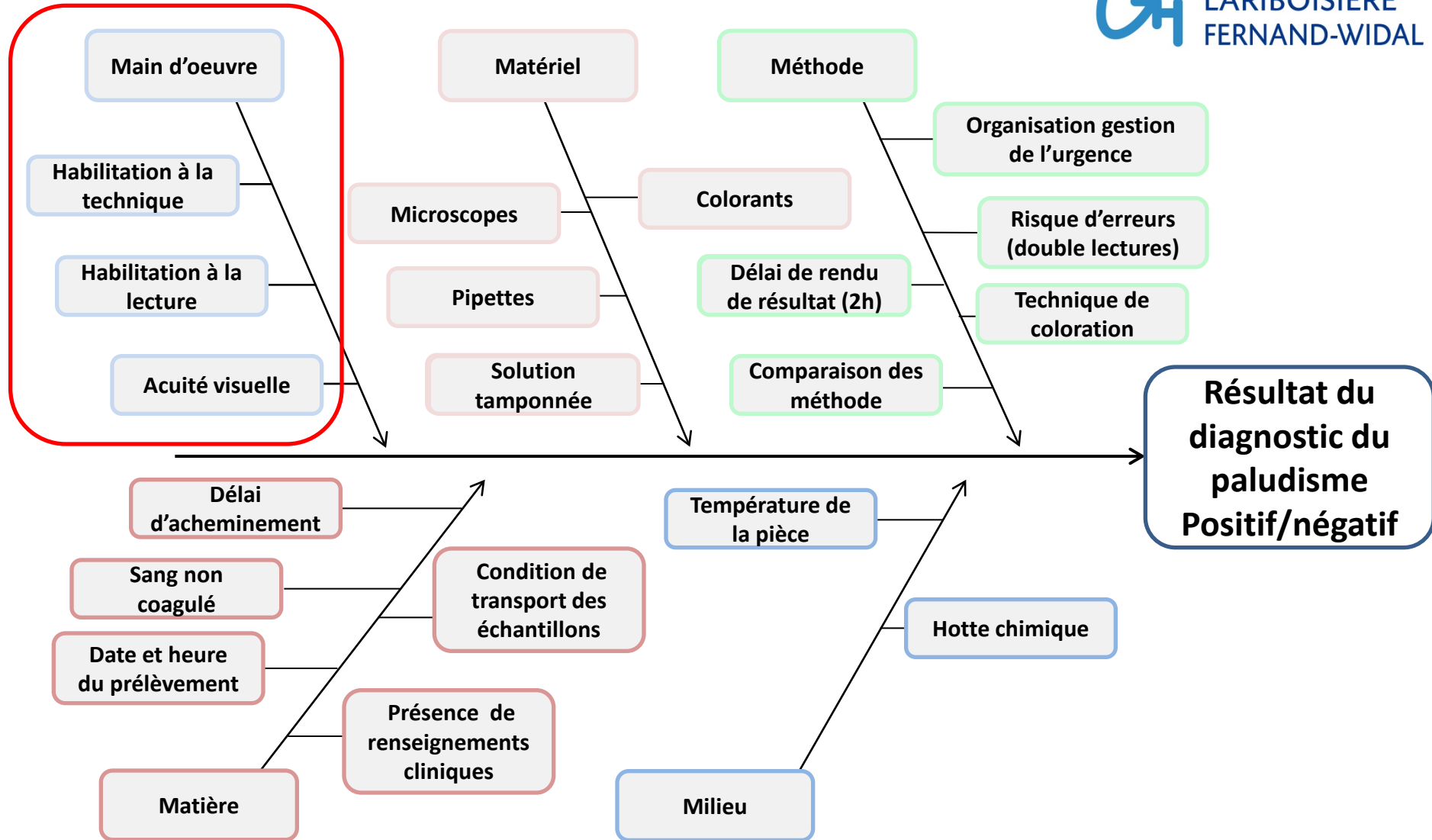
Contrôle interne de la qualité :

- Qualité du frottis
- Maîtrise des colorations
- Maîtrise de la lecture

Evaluation externe de la qualité:

- CNQ : ANSM 1 à 2 contrôles par an (Annexe 2)
- CTCB : 1 contrôle par an
- CNR : 1 contrôle par an

Comparaison des méthodes (Frottis/GE/TDR versus CNR paludisme)



Habilitation du personnel (1/2)

Qui ?

Internes (secteur de parasitologie/mycologie et secteur de garde)

Comment ?

Formation théorique et pratique supervisées, initiales, avec grille d'habilitation et enregistrements des compétences et des acquis dans un dossier individuel

Quand ?

Formation théorique et pratique programmée à l'arrivée des internes de biologie au mois de Mai et Novembre (session supplémentaire si besoin)

Habilitation du personnel (2/2)

Formation initiale :

- un cours théorique 1h30 + polycopié
- une formation technique (voir/faire en binôme/seul)
- formation à la lecture de lames (5 boîtes de lames tests à identifier)

Examen final : 1 frottis sanguin + 1 GE + 1 TDR

Pour les internes restant plus de 6 mois dans le GH :

Réhabilitation (formation à la lecture de lames + examen) si aucun diagnostic de paludisme n'a été réalisé durant leurs gardes

Rédaction des documents :

Pas de logiciel de gestion documentaire complet à ce jour

→ défaut de codification et difficulté de gestion des documents papiers

Vérification de la méthode :

Méthode conforme en portée A

Comparaison des méthodes : très bonne corrélation des résultats, rare discordances en cas de très faible parasitémie (confirmation par PCR)

Participation au contrôle national de qualité et autres CQE :

→ aucune discordance

Bilan

N°	Dossier	Date	Goute épaisse	Frottis	ICT	Identification	Parasitémie	CNR Identification	CNR Parasitémie	CNR PCR
1	761305050921	26/05/2013	positive	trophozoïtes+schizontes+gamétocytes	négatif	<i>P.ovale</i>	2,00%	<i>P.ovale</i>	/	NON
2	761306017181	08/06/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,10%	<i>P.falciparum</i>	0,10%	OUI
3	761306027034	12/06/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,20%	<i>P.falciparum</i>	0,16%	NON
4	761306043293	19/06/2013	positive	négatif	positif	<i>P.falciparum</i>	<0,01	<i>P.falciparum</i>	/	OUI
5	761306064698	28/06/2013	positive	trophozoïtes et gamétocytes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,15%	<i>P.falciparum</i>	0,15%	OUI
6	761307005866	02/07/2013	positive	négatif	négatif	<i>Plasmodium spp</i>	<0,01	<i>P.malariae</i>		OUI
7	761307024146	10/07/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,10%	<i>P.falciparum</i>	0,1%	NON
8	761307047901	22/07/2013	positive	trophozoïtes et gamétocytes	positif	<i>P.vivax</i>	Non effectué	<i>P.vivax</i>	/	OUI
9	761308005315	03/08/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,01%	<i>P.falciparum</i>	/	OUI
10	761308008626	05/08/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,45%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
11	761308019384	12/08/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	<0,1	<i>P.falciparum</i>	/	OUI
12	761308019978	12/08/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	<0,1	<i>P.falciparum</i>	/	OUI
13	761308029253	18/08/2013	positive	trophozoïtes	non effectué (suivi)	<i>P.falciparum</i>	3,50%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
14	761309013629	07/09/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,10%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
15	761309014485	07/09/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,60%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
16	761308037580	22/08/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,15%	<i>P.falciparum</i>	0,1%	NON
17	761309064996	30/09/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,40%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
18	761310004759	02/10/2013	positive	trophozoïtes et gamétocytes	positif	<i>P.falciparum</i>	<0,1	<i>P.falciparum</i>	/	NON
19	761310026625	11/10/2013	positive	trophozoïtes	négatif	<i>P.falciparum</i>	0,06%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
20	761310034693	15/10/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,50%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
21	761310032169	15/10/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	<0,01	<i>P.falciparum</i>	<0,01	NON
22	761310039824	17/10/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,40%	<i>P.falciparum</i>	0,4%	NON
23	761310062622	28/10/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,00%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
24	761311005844	04/11/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	3,00%	<i>P.falciparum</i>	3%	NON
25	761311014434	07/11/2013	positive	trophozoïtes et gamétocytes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,00%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
26	761311021969	12/11/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,30%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
27	761311033424	18/11/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,50%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
28	761311031883	17/11/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	0,05%	<i>P.falciparum</i>	/	OUI
29	761311052025	26/11/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	1,60%	<i>P.falciparum</i>	/	NON
30	761312016471	07/12/2013	positive	trophozoïtes	positif	<i>P.falciparum</i>	3,50%	<i>P.falciparum</i>	/	NON

Bilan

N°	Dossier	Date	Laboratoire de parasitologie Saint Louis			AFSSAPS/ANSM		
			Frottis	Identification	Parasitémie %	Identification	Parasitémie %	Evaluation
1	761309058540	27/09/2013	Positif	<i>P.falciparum</i>	6	<i>P.falciparum</i>	5	A
2	761211044939	22/11/2012	Positif	<i>P.falciparum</i>	0,2	<i>P.falciparum</i>	0,2	A
3	761111032331	17/11/2011	Positif	<i>P.falciparum</i>	2	<i>P.falciparum</i>	2	A
4	761011005204	03/11/2010	Positif	<i>P.ovale</i>	0,15	<i>P.ovale</i>	0,12	A
5	PC09002796	13/10/2009	Négatif	Absence de pa	/	Absence de parasite	/	A
6	PC08003658	28/11/2008	Positif	<i>P.vivax</i>	<0,1	<i>P.vivax</i>	0,02	A
7	PC07003151	27/09/2007	Positif	<i>P.malariae</i>	<0,1	<i>P.malariae</i>	0,1	A
8	PC06003733	16/11/2006	Positif	<i>P.falciparum</i>	0,7	<i>P.falciparum</i>	0,5 à 1	/
9	PC05001690	26/05/2005	Positif	<i>P.ovale</i>	/	<i>P.ovale</i>	0,5	/
10	PC04004132	26/11/2004	Positif	<i>P.falciparum</i>	2	<i>P.falciparum</i>	2 à 3	/
11	PC04001725	13/05/2004	Positif	<i>P.falciparum</i>	28	<i>P.falciparum</i>	30	/
12	PC02003875	21/11/2002	Positif	<i>P.ovale</i>	0,1	<i>P.ovale</i>	0,4	/
13	PC01003724	18/12/2001	Positif	<i>P.ovale</i>	0,6	<i>P.ovale</i>	0,1	/
14	PC00003071	30/10/2000	Positif	<i>P.falciparum</i>	7,5	<i>P.falciparum</i>	12	/
15	PC00001420	25/05/2000	Positif	<i>P.malariae</i>	0,2	<i>P.malariae</i>	0,1	/

Habilitation

Mise en pratique de l'habilitation aux internes du laboratoire en mai 2014

Tous les internes ont participé à la formation théorique et ont validés la formation pratique

ANNEXE X Formation théorique et pratique au diagnostic du paludisme
 Liste des internes session Mai 2014

Prénom	Formation théorique	Réalisation du F/GE	Lecture Boite I	Lecture Boite II	Lecture Boite III	Lecture Boite IV	Lecture Boite V	Lecture Boite GE	Test final le :	Date 1 ^{er} garde	Validité de l'habilitation
Mohamed	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	23/05/14	03/06/2014	03/06/2015
Aude	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	20/05/14	30/05/2014	30/05/2015
GREVERIE	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	16/05/14	19/05/2014	19/05/2015
AN Jennifer	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	23/05/14	27/05/2014	27/05/2015
il camille	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	16/05/14	16/05/2014	16/05/2015
RO Mathieu	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	03/06/14	07/06/2014	07/06/2015
IMOUCHE ne	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	16/05/14	21/05/2014	21/05/2015
IAUD Cécile	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	23/05/14	24/05/2014	24/05/2015
-DECAUDIN aume	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	20/06/14	22/06/2014	22/06/2015
H HADJ AMMED	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	19/05/14	23/05/2014	23/05/2015
LI Katia	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	20/05/14	25/05/2014	25/05/2015
IOU Idine	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	19/05/14	20/05/2014	20/05/2015

Conclusion

Premier dossier de vérification d'une technique qualitative

Première approche et familiarisation du personnel à la norme 15189

Mise en conformité de l'analyse d'un point de vu technique

Validation du processus d'habilitation pour les internes

Perspectives :

Extension de l'habilitation au techniciens et biologistes concernés

Mise en conformité de tout le processus pré-analytique, de la gestion du personnel, de la métrologie, du processus post-analytique...