

Vérification de méthode de
l'identification des levures par
spectrométrie de masse de type
MALDI TOF

Contexte :

- Ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 : obligation d'accréditation pour les LBM
- Norme 15189 : « Les procédures d'examen doivent faire l'objet d'une vérification indépendante par le laboratoire »
- SH REF02 : « Dans le cas de méthode reconnue, la validation de méthode est réduite à une vérification sur site »

Principe de la SM

- Octobre 2014 : Acquisition d'un SM de type MALDI TOF par le département de microbiologie du CHU de ROUEN
- La spectrométrie de masse (SM) permet de quantifier la masse et l'abondance des protéines d'un microorganisme.
- microorganisme = spectre protéique spécifique
- Avantage : simplicité, rapidité, fiabilité, faible coût d'utilisation

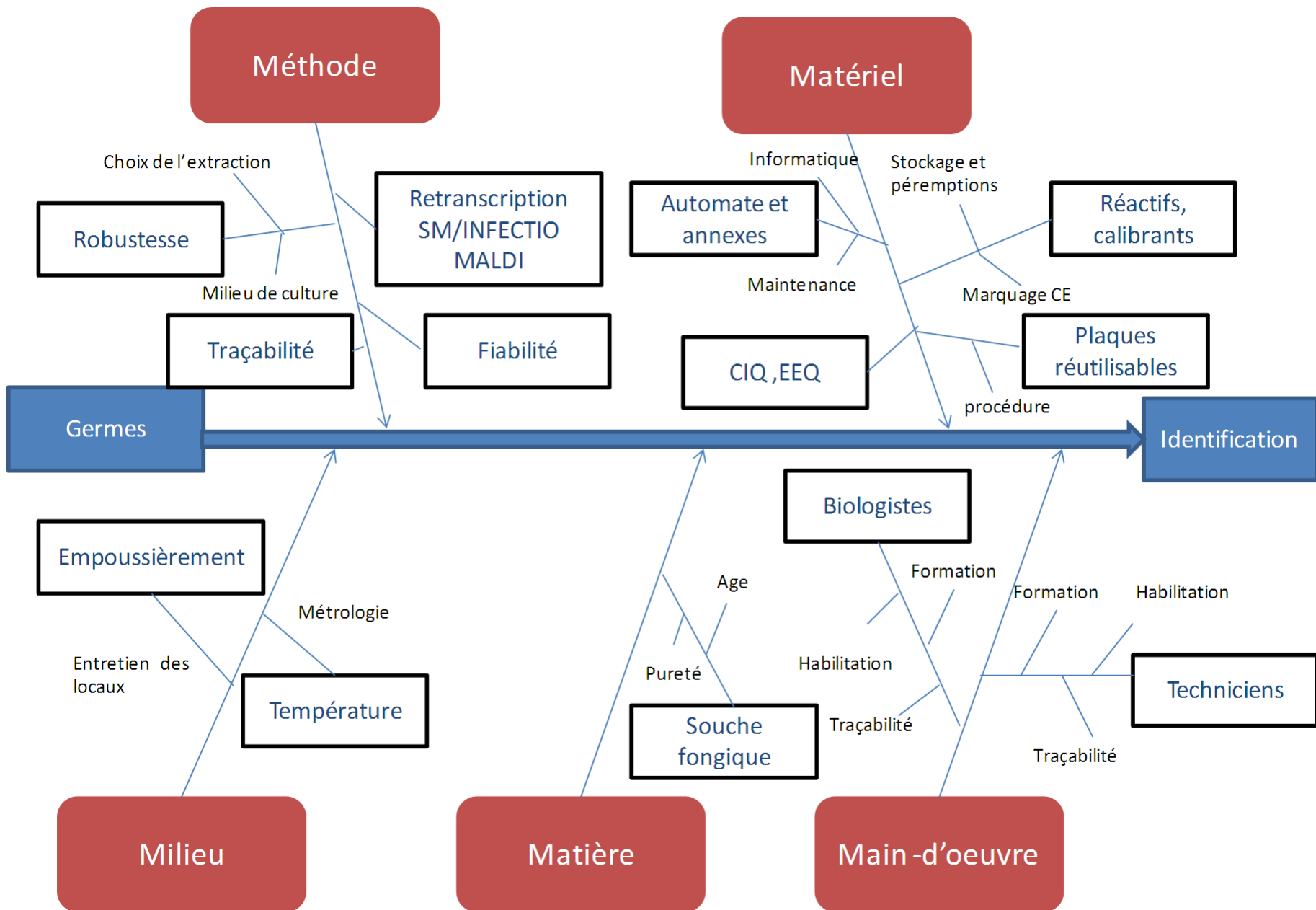
Objectif : réalisation d'un dossier de vérification de méthode

- Etape 1 : Formation initiale du personnel
- Etape 2 : Evaluation des besoins en matériels et réactifs
- Etape 3 : Etude de l'analyse des risques
- Etape 4 : Rédaction du mode opératoire d'utilisation du SM
- Etape 5 : Mise en place de CIQ
- Etape 6 : Début de la vérification technique
- Etape 7 : Rédaction d'une protocole de validation des résultats

Formation initiale du personnel

- Formation initiale = Société BRUKER
- 2 types de formation : référent , utilisateur
- Attestations de formation enregistrées dans le dossier individuel du personnel
- Au total :
 - 3 techniciens / 4 ont été formés dont 1 référent
 - 2 biologistes / 4 ont été formés dont 1 référent
- Formation en interne possible par un référent

Analyse de risques : diagramme d'Ishikawa





Mise en place de CIQ (1)

- Choix des souches en fonction de la fréquence d'isolement et de l'importance clinique :
 - ➔ 2 souches ATCC : *Candida albicans* ; *candida parapsilosis*
 - ➔ 1 souche d'EEQ : *Cryptococcus neoformans*
- Fréquence de passage : au minimum une souche toute les deux semaines pour tester l'ensemble des lots de réactif, et une souche après chaque opération de maintenance du SM.
- Processus analytiques testés : ensemencement, identification, antifongigramme

Mise en place des CIQ (2)

- A la fin de toutes les étapes analytiques : évaluation de la conformité des résultats par le biologiste.
 - Résultats conformes : aucune action
 - Résultats non conformes : étude des causes possibles, rédaction d'une fiche de non-conformité et réalisation d'une étude d'impact
- Rédaction d'une procédure de gestion des CIQ (PO 16854) et d'un tableau de gestion des CIQ (FO 19323)

Vérification analytique (1) :

- Méthode qualitative selon la portée A d'accréditation
- Domaine : Microbiologie ; Famille : Parasitologie-Mycologie (PARASITOMYCO) code PM4
- Répétabilité : identification correcte et répétable avec N=10 pour trois souches différents
 Résultats : CONFORME
- Reproductibilité : identification correcte et reproductible avec N=10 pour trois souches différents
 Résultats : CONFORME

Vérification analytique (2) :

- Etude de la contamination : vérification de l'absence de pic résiduel. Protocole EBB EBB EBB

 Résultats : CONFORME

- Etude de la performance en fonction de l'âge de la culture : 24, 48 ou 72 heures N=3 pour 3 souches différentes

 Résultats : CONFORME

- Etude de la performance en fonction du milieu de culture utilisé N=3 pour 3 souches différentes

 Résultats : CONFORME

Vérification analytique (3)

- Comparaison avec les techniques d'ID déjà utilisées :

- API 32 C : N= 41

Résultats : ID identiques 40 /41 ; absence d'ID : 1/41

- CAN2 : N= 11

Résultats : ID identiques : 11/11

- BichroLatex albicans : N= 17

Résultats : ID identiques : 17/17

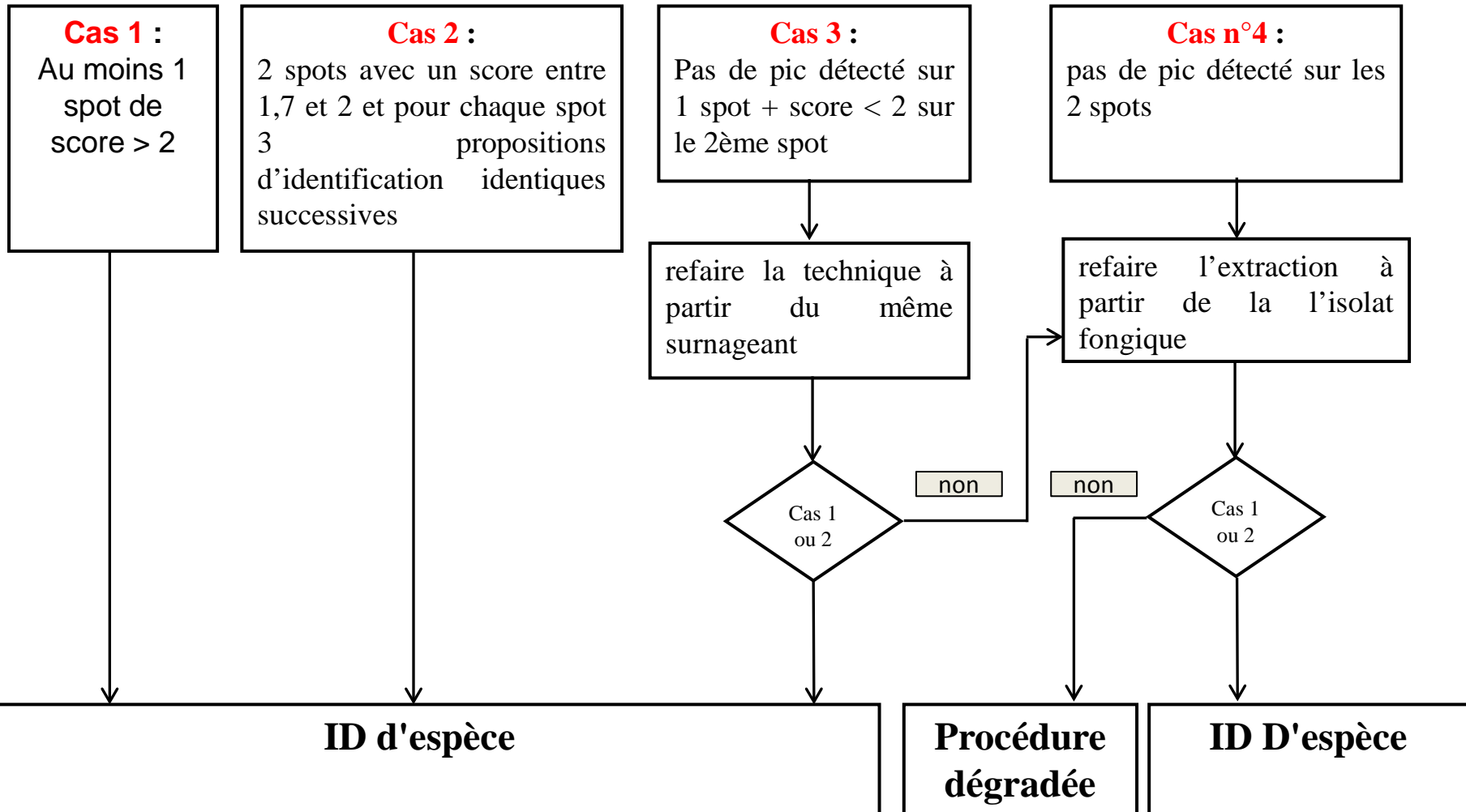


CONCORDANCE 100%

- Vérification de la connexion SM/INFECTIO-MALDI

Vérification analytique (4)

- Rédaction d'un protocole de vérification analytique



Discussion/perspectives

- Les performances du SM correspondent aux attentes du laboratoire : Utilisation en remplacement des autres techniques d'ID.
- Ces performances doivent être confirmées lors de l'utilisation du SM en « routine » : suivi des CIQ, des EEQ, traçabilité des difficultés rencontrées.
- Enregistrement de l'automate dans le logiciel de gestion des équipements : fiche de vie

Discussion/perspectives (2)

- Réactifs intégrés au logiciel de gestion des stocks : traçabilité, gestion des commandes et des réactifs périmés
- Evaluation du fournisseur commune avec l'unité de bactériologie prévue pour la fin de l'année.

Conclusion

- Cette vérification de méthode a permis d'initier la mise en place de la démarche qualité au niveau du secteur de mycologie.
- Travail identique à faire pour l'identification des champignons filamenteux.