

Université Pierre et Marie Curie -
Sorbonne Universités

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

RECOMMANDATIONS 2015 CASFM-EUCAST :
VERIFICATIONS DE METHODE ET MISE EN APPLICATION
AU LABORATOIRE SUR L'AUTOMATE SIRSCAN MICRO ®

Simon LANNE

Année 2015

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.



Simon LANNE

Interne en Biologie Médicale, 5^{ème} semestre

Laboratoire de Biologie Clinique

Centre de Lutte Contre le Cancer Henri-Becquerel

Rue d'Amiens, CS 11516, 76038 Rouen

Remerciements

Je remercie chaleureusement les biologistes du Laboratoire de Biologie Clinique du Centre Henri Becquerel pour leur aide et leurs conseils, et tout particulièrement le Dr Marion DAVID pour son encadrement tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Un grand merci à toute l'équipe des techniciens et secrétaires du Laboratoire de Biologie Clinique du Centre Henri Becquerel pour leur implication, et spécialement à Karine, technicienne référente en microbiologie, pour m'avoir apporté son aide dans ce projet.

Je remercie le Dr Pernet et le Dr Vaubourdolle pour la qualité de leurs enseignements et pour l'organisation de ce DU d'assurance qualité.

Tous mes remerciements vont aussi à mon frère, Baptiste, pour son accueil sur Paris, à mes parents pour les corrections apportées à ce mémoire, et à ma femme pour son soutien durant cette année.

Sommaire

SOMMAIRE	5
GLOSSAIRE	6
1. INTRODUCTION/PLANIFICATION	7
1.1. OBJECTIFS	7
1.2. PRESENTATION DU CENTRE DE LUTTE CONTRE LE CANCER HENRI BECQUEREL	9
1.2.1. <i>Historique et généralités</i>	9
1.2.2. <i>Le laboratoire de biologie clinique</i>	10
1.3. CALENDRIER DU PROJET	12
2. MATERIEL ET METHODE/REALISATION	13
2.1. VERIFICATION DE METHODE DE L'AUTOMATE SIRSCAN MICRO®.....	13
2.2. VERIFICATION DE METHODE DE L'ENSEMENCEMENT DES ANTIBIOGRAMMES PAR LA TECHNIQUE DE DIFFUSION EN MILIEU GELOSE	13
2.3. MISE EN PLACE DES RECOMMANDATIONS DU CASFM 2015	14
2.3.1. <i>Nouveautés par rapport à 2013</i>	14
2.3.2. <i>Commandes des nouveaux consommables</i>	16
2.3.3. <i>Vérification du système d'information</i>	17
2.3.4. <i>Vérification du système expert et vérifications générales des recommandations 2015...</i>	18
3. RESULTATS/EVALUATION	19
3.1. VERIFICATION DE METHODE DE L'ENSEMENCEMENT DES ANTIBIOGRAMMES	19
3.2. VERIFICATION DU SYSTEME D'INFORMATION	19
3.3. VERIFICATION DU SYSTEME EXPERT ET VERIFICATIONS GENERALES DES RECOMMANDATIONS 2015	20
3.4. ANALYSE DE RISQUES	21
4. INTERPRETATION/AJUSTEMENTS	23
4.1. VERIFICATION DE METHODE DE L'ENSEMENCEMENT DES ANTIBIOGRAMMES	23
4.2. AJUSTEMENTS DU SYSTEME EXPERT ET DES PRATIQUES	24
4.2.1. <i>Réponses aux non-conformités détectées sur les antibiogrammes patients et ATCC</i>	24
4.2.2. <i>Ajustements du système expert de l'automate et des paramétrages informatiques</i>	25
4.3. ÉLEMENTS DE REPONSE A L'ANALYSE DE RISQUES	26
4.4. MODIFICATIONS DES PROCEDURES DU LABORATOIRE	28
4.5. TRAÇABILITE ET ARCHIVAGE DES DONNEES	28
5. CONCLUSION	29
BIBLIOGRAPHIE	30
ANNEXES	32
RESUME	52

Glossaire

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

ASH : Agent des Services Hospitaliers

ATCC : American Type Culture Collection

BLSE : Béta-lactamase à spectre élargi

CAE : Contrat d'Aide à l'Emploi

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CHB : Centre Henri-Becquerel

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CIQ : Contrôle Interne de Qualité

CLCC : Centre de Lutte Contre le Cancer

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CTCB : Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

ETP : Equivalent Temps Plein

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses

HAS : Haute Autorité de Santé

LBC : Laboratoire de Biologie Clinique

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

MH : Mueller Hinton

RAQ : Responsable Assurance Qualité

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SIL : Système d'Information du Laboratoire (Glms)

SROS : Schéma Régional d'Organisation des Soins

1. INTRODUCTION/PLANIFICATION

1.1. Objectifs

Depuis 1978 et l'apparition des contrôles nationaux de qualité, la biologie médicale subit d'importants changements. Dans le domaine de la qualité, ces changements se sont accélérés dans les années 2010 avec la parution de l'ordonnance du 13 janvier 2010(1) et la loi du 30 mai 2013(2) portant réforme de la biologie médicale. Les laboratoires devront désormais être accrédités selon la norme NF EN ISO 15189 v2012(3) pour 50 % de leurs analyses en 2016, 70 % en 2018 puis 100 % au 31 octobre 2020. Le personnel du laboratoire a du apprendre une nouvelle facette de la biologie. Dans ce sens, la mise en application de la norme NF EN ISO 15189 sous l'égide du COFRAC permet d'optimiser le travail réalisé pour améliorer toutes les étapes de notre discipline, du prélèvement au rendu du résultat. Ceci faisant intervenir différents facteurs comme le personnel, le matériel, les locaux, etc.

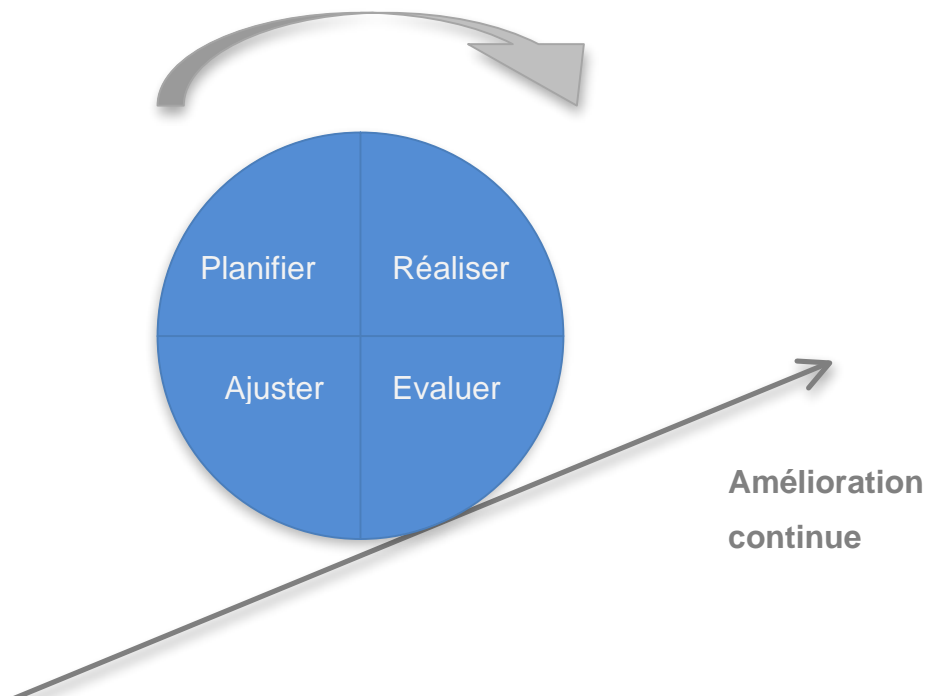
Dans cette démarche la bactériologie occupe une place toute particulière comme le décrit le QUAMIC : « La microbiologie médicale est fondamentalement différente des autres spécialités biologiques car elle s'intéresse au monde du vivant. Aussi elle ne peut être appréhendée en matière d'accréditation de la même manière que les autres disciplines, telles que la biochimie, pour lesquelles les analyses visent à effectuer le dosage d'un substrat ou d'un constituant au sein d'un liquide biologique. »(4) Concernant l'antibiogramme, le QUAMIC précise qu'il s'agit « d'un examen complexe, dépendant d'un paramètre supplémentaire original : la souche bactérienne, il s'agit d'un organisme vivant, dont la variabilité est impossible à maîtriser, ou même à connaître ou à prédire », « la qualité des résultats de l'antibiogramme, dépendra avant tout de l'aptitude du biologiste à maîtriser [les techniques d'ensemencement], c'est-à-dire, entre autres, de son aptitude à correctement choisir un antibiotique ou un panel d'antibiotiques pertinent, la méthode et les conditions techniques de sa réalisation et de connaître les limites de chaque technique ».(4)

L'accréditation de l'antibiogramme nécessite donc des dispositions et des interprétations propres à la discipline. Ainsi, pour l'antibiogramme par diffusion en

milieu gélosé, trois référentiels proposent des recommandations. Le REMIC guide le biologiste dans la réalisation technique de l'analyse, tout comme le QUAMIC, mais ce dernier insiste sur l'approche qualité, et enfin le CASFM-EUCAST émet des règles de détermination des sensibilités des souches bactériennes aux antibiotiques nécessaires pour l'interprétation des résultats.

L'objectif de cette étude est de mettre en application au laboratoire les recommandations du CASFM-EUCAST 2015 (v1.0 janvier 2015)(5). Pour cela, il est nécessaire de changer de technique d'ensemencement, de créer de nouveaux panels d'antibiogrammes, de réaliser une qualification du système d'information et de valider le système expert de l'automate de lecture des antibiogrammes. Au LBC, l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé est un examen déjà accrédité par le COFRAC depuis 2008, l'objet de ce travail est donc basé sur une gestion de la portée flexible (portée A). La procédure de gestion de la portée flexible du laboratoire sera donc utilisée afin de répondre aux exigences du COFRAC et du LBC pour la mise en place de ces nouvelles recommandations (Annexe II).

Afin de suivre une méthodologie efficace, une démarche basée sur la ROUE DE DEMING est utilisée.



1-Planification = Introduction : une réunion entre les différentes personnes impliquées (biologiste, RAQ, technicien référent en bactériologie, référent informatique) a permis de planifier le déroulement du projet, de définir un échéancier et de décrire les objectifs, ainsi que les moyens mis en œuvre pour les atteindre.

Ce mémoire développera succinctement dans un premier temps la vérification de méthode de l'automate Sirscan micro ® et celle de la technique d'ensemencement des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé (écouvillonnage vs inondation), puis sera plus largement abordée la mise en application des nouvelles recommandations du CASFM-EUCAST v2015.

2-Réalisation = Matériel et méthode : réaliser la vérification de méthode de la technique d'ensemencement, réaliser la liste des commandes de nouveaux consommables, mettre en place les recommandations 2015, créer un dossier de validation du système d'information, valider le système expert.

3-Evaluation = Résultats : recueillir, classer et observer les différents résultats obtenus pour chaque protocole mis en place et analyser les risques.

4-Ajustements = Interprétation : interpréter les différents résultats et en tirer les conclusions afin que les nouvelles recommandations du CASFM 2015 demeurent acquises et stables au LBC par divers ajustements et rédactions de procédures.

1.2. Présentation du Centre de Lutte Contre le Cancer Henri Becquerel

1.2.1. Historique et généralités

Créé en 1962 et ouvert aux patients en 1967, le Centre Henri-Becquerel est le Centre Régional de Lutte Contre le Cancer de Haute-Normandie. Les CLCC sont des Etablissements de Santé Privés d'Intérêt Collectif (ESPIC) faisant partie du groupe UNICANCER. Ils sont régis par des textes datant de 1945, modifiés en 2006 puis en 2010 et ont les mêmes missions que les Centres Hospitalo-universitaires, à savoir :

- le soin (dépistage, diagnostic, traitement et surveillance)
- la formation (étudiants des filières médicales et paramédicales)

- la recherche (fondamentale et clinique)

Leur fonctionnement, basé sur la pluridisciplinarité et la prise en charge globale du patient, est très spécifique. Le binôme CHB/CHU constitue le site régional de référence en cancérologie. Le CHB compte 122 lits d'hospitalisation traditionnelle et 36 lits d'hôpital de jour. Dans le cadre du SROS et de la complémentarité voulue avec le CHU, sont développés 5 axes prioritaires : sénologie, gynécologie carcinologique, oncologie médicale, radiothérapie, hématologie.

Le CHB est, en Haute-Normandie, le seul service d'hématologie d'adultes. Il comporte un service de soins intensifs pour les greffes de moelle et de cellules souches faisant l'objet d'une accréditation depuis 2008. Le service de Médecine Nucléaire est le Service Central pour la Haute-Normandie. La HAS a attribué au CHB une certification en 2003, 2007 puis 2011.

En plus des différents services cliniques et médico-techniques, le Centre dispose d'un Département de Biopathologie intégrée du cancer créée en septembre 2011. Il regroupe 3 secteurs existant depuis la création du Centre en 1967 :

- le laboratoire de Biologie Clinique
- le laboratoire de Génétique Oncologique
- le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

1.2.2. Le laboratoire de biologie clinique

1.2.2.1. Généralités et activités

Le laboratoire est ouvert les jours ouvrables de 8h00 à 17h30 et le samedi de 8h30 à 12h30. Les gardes du samedi matin sont assurées par 2 techniciens (un en microbiologie et un en biochimie) et par un biologiste, qui peut être un interne. Le laboratoire fonctionne avec une équipe de jour uniquement. Les gardes de nuit, de week-end (entre le samedi midi et le lundi 8h00), ainsi que celles des jours fériés, sont assurées par le CHU de Rouen. En contrepartie l'interne du CHB participe au service de garde du CHU.

Chaque année plus de 20.000 prélèvements y sont effectués et environ 75.000 dossiers y sont traités, dont 10% pour des patients non suivis au Centre (activité régionale spécifique en ce qui concerne les marqueurs tumoraux). Le

nombre de B annuel pour le LBC du CHB est d'environ 10.000.000. Ce laboratoire a aujourd'hui plusieurs fonctions :

- une activité de biologie polyvalente,
- une activité spécialisée d'immuno-analyse ouverte sur l'extérieur (CHU),
- une activité importante dans le domaine de l'hygiène hospitalière,
- une activité de gestion de la composante biologique des essais cliniques (analyses, sérothèque, préparation et transmission d'échantillons),
- un rôle de référent dans le domaine des marqueurs tumoraux et du métabolisme phosphocalcique,
- un rôle d'expert auprès de l'industrie du réactif, de sociétés savantes et de l'ANSM.

1.2.2.2. Personnel

Le personnel du LBC est composé d'un personnel d'encadrement (biologistes, cadre, technicienne principale et responsables techniques), et de personnel technique (techniciens, préleveurs, infirmière préleveuse, secrétaires, ASH) repartis de la façon suivante :

Fonctions	Biologistes	Techniciennes	Infirmière préleveuse	Assistants médicales	Secrétaires médicales	Principalat	ASH	CAE
ETP	1.9	10	0.5	1.8	1.5	1	0.8	1.2

Le personnel employé au laboratoire dispose de fiches de description de poste et de fonction internes au laboratoire, d'un dossier individuel contenant des éléments concernant les compétences (diplômes et habilitations) et les formations suivies. Enfin, il fait l'objet d'entretiens annuels d'appréciation menés par le supérieur hiérarchique. Au niveau analytique, l'habilitation de l'ensemble des techniciens permet l'accès réglementaire aux différents postes.

1.2.2.3. Démarche qualité

Accrédité COFRAC selon la norme 17025 depuis 2003, le LBC est passé à la norme NF EN ISO 15189 v2007 en 2012. La visite S4 du COFRAC a eu lieu en juin

2014 et le passage à la norme NF EN ISO 15189 v2012 se fera pour l'audit COFRAC de juin 2015 (visite S5). Un système d'audits croisés est organisé avec le CLCC de Rennes pour l'hématologie et la biochimie, ainsi qu'avec le CHU pour la microbiologie. Actuellement, le LBC est accrédité pour 96% des examens réalisés (98 % si l'on ajoute les portées demandées pour l'année 2015).

Un RAQ a été désigné au laboratoire. Il dispose d'une responsabilité et d'une autorité définies pour garantir que le système Assurance Qualité est mis en œuvre et observé régulièrement. De plus, il est en contact avec la Direction, où sont prises les décisions en matière de politique et de ressources.

Les objectifs qualité du département s'articulent autour de 3 principaux axes :

- la satisfaction du « client » au sens large (patients, prescripteurs)
- la maîtrise des systèmes analytiques et du système Qualité, en conformité avec les normes et textes opposables
- la satisfaction du personnel du département.

La politique qualité adoptée par le département est avant tout régie par les règles décrites dans les documents COFRAC et la norme NF EN ISO 15189 v2007 et v2012, mais respecte aussi les exigences définies par le GBEA, l'ordonnance 2010-49(1) et la loi n° 2013-442 du 30 Mai 2013(2) portant réforme de la biologie médicale. Cette politique et tous les éléments du système-qualité sont documentés et font l'objet d'une prise de connaissance par les personnels concernés tracée via Ennov (système de gestion documentaire). Pour la mettre en œuvre, chaque secteur du département est doté d'un RAQ, formé et habilité à l'audit. Les trois RAQ sont sous la responsabilité du coordonnateur RAQ du département.

1.3. Calendrier du projet

La mise en place des recommandations du CASFM 2015 a été programmée en plusieurs étapes selon un calendrier établi lors des réunions de planification :

Dates	Tâches réalisées
12/2014	Vérification de méthode de l'automate de lecture et interprétation des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé Sirscan micro ®
02/2015	Vérification de méthode : ensemencement par écouvillonnage des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé

03/2015	Création informatique des nouveaux panels, références de consommables et construction du dossier de qualification du système d'information (base de test)
28/03/2015	Repiquage des souches CIQ utilisées pour les premiers tests (CASFM 2015)
30/03/2015	Ensemencement des antibiogrammes selon les nouvelles recommandations (CASFM 2015)(5) de toutes les souches tests (CIQ) et des souches de patients de la journée en doublon de la technique habituelle (CASFM 2013)(6)
31/03/2015	Lecture des antibiogrammes des patients de la veille avec l'automate (CASFM 2013) Changement de version du logiciel de l'automate (CASFM 2015) Lecture des antibiogrammes des souches CIQ et patients de la veille (CASFM 2015)
31/03/2015 à fin 04/2015	Vérification du système expert de l'automate, vérifications générales des recommandations 2015, modification/rédaction des procédures, analyse des risques Clôture du dossier de qualification informatique sur la base de production

2. MATERIEL ET METHODE/REALISATION

2.1. Vérification de méthode de l'automate Sirscan micro ®

La vérification de méthode de l'automate Sirscan micro ® réalisée quelques mois auparavant ne sera pas détaillée dans ce mémoire car elle ne rentre pas directement dans le cadre de notre projet, mais elle aura été indispensable pour pouvoir utiliser l'automate et mettre en application les recommandations du CASFM.

Cette mise en application n'implique pas de changements majeurs du SH FORM. En annexe III se trouve le SH FORM 44(7) détaillant cette vérification de méthode, incluant les quelques modifications induites par la mise en application des nouvelles recommandations.

2.2. Vérification de méthode de l'ensemencement des antibiogrammes par la technique de diffusion en milieu gélosé

Le CASFM 2015 ne recommande plus d'utiliser la méthode d'ensemencement par inondation pour les antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé : seule la technique par écouvillonnage reste d'actualité(5). Afin de réaliser cette vérification de méthode nous utiliserons les recommandations données par le CASFM 2013(6) pour l'écouvillonnage comme nous le faisons pour l'inondation. Lors du passage aux recommandations 2015 la technique d'ensemencement sera donc déjà validée, seul l'inoculum changera et cela ne nécessitera pas de nouvelle vérification.

Le tableau suivant récapitule le protocole mis en place pour les tests de reproductibilité de la comparaison de méthode (chaque soucheensemencée l'a été selon les deux méthodes, inondation et écouvillonnage) :

Date d'ensemencement	Technicien (Initiales)	Germe pour l'antibiogramme	N° dossier labo
14/01/2015	KAR REN	<i>E. coli</i>	15000210301
15/01/2015	CAR BAN	<i>S. pneumoniae</i>	15000204501
20/01/2015	PIE DER	<i>E. coli</i>	15000384701
20/01/2015	SEV GOD	<i>S. aureus</i>	15000384801
27/01/2015	ISA MER	<i>P. aeruginosa</i>	15000509401
03/02/2015	KAR REN	<i>Enterococcus spp</i>	15000699001 (1)
05/02/2015	KAR REN	<i>E. coli</i> BLSE	15000699001 (2)

Le tableau suivant récapitule le protocole pour la répétabilité :

Date d'ensemencement	Technicien (Initiales)	Germe pour l'antibiogramme	Nombre ensemencement	N° dossier labo
20/01/2015	KAR REN	<i>E. coli</i>	5 fois	15000384701
20/01/2015	KAR REN	<i>S. pneumoniae</i>	5 fois	15000204501
20/01/2015	KAR REN	<i>S. aureus</i>	5 fois	15000384801

2.3. Mise en place des recommandations du CASFM 2015

2.3.1. Nouveautés par rapport à 2013

Les recommandations de 2015 intègrent de nombreux changements par rapport aux recommandations de 2013. Les principaux changements portent sur l'inoculum bactérien, les milieux gélosés et les disques d'antibiotiques (nouvelles molécules et concentrations recommandées).

➤ L'inoculum bactérien à l'ensemencement

- Anciennes méthodes utilisées au laboratoire :

Inondation (abandonnée après la vérification de méthode de l'ensemencement) : réalisation d'une suspension bactérienne de 0,5 McFarland dans une solution Médium. Puis ajout de 3 gouttes de cette suspension dans 10 mL d'eau distillée (sauf pour les Streptocoques, ajout d'1 mL de suspension dans 9 mL d'eau distillée). Enfin, inondation de la gélose et réaspiration du surplus.

Écouvillonnage (CASFM 2013) : réalisation d'une suspension bactérienne de 0,5 McFarland dans une solution salée. Puis ajout d'1 mL de cette suspension dans 9 mL d'eau distillée (sauf pour les Streptocoques, pas de dilution de la solution à 0,5 McFarland). Enfin, écouvillonnage de la gélose à partir de cette suspension finale selon la méthode « coté-coté-diagonale ». (6)

- Nouvelle méthode (CASFM 2015) :

Réalisation d'une suspension bactérienne de 0,5 McF dans une solution salée. Puis écouvillonnage à partir de cette suspension selon la méthode « coté-coté-diagonale ». Pas de distinction en fonction du type de bactérie.(5)

➤ Les milieux gélosés

Les milieux utilisés pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques ont en partie changé de composition, et de nouvelles recommandations quant aux espèces à ensemercer sur chaque gélose sont parues. Désormais seront utilisées des géloses MH-F (MH + 5% sang de cheval défibriné + 20 mg/L β -NAD) au lieu des géloses MH sang. Les géloses MH simples ne changent pas.(5)

Tableau 1 Milieux de détermination la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	
Organisme	Milieu
Entérobactéries	Gélose de Mueller-Hinton
<i>Pseudomonas</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gélose de Mueller-Hinton
<i>Acinetobacter</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton
<i>Staphylococcus</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton
<i>Enterococcus</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Gélose MH-F ¹
Streptocoques des groupes A, B, C, G	Gélose MH-F ¹
Streptocoques du groupe viridans	Gélose MH-F ¹
<i>Haemophilus</i> spp.	Gélose MH-F ¹
<i>Helicobacter pylori</i>	Gélose de Mueller-Hinton additionnée de 10% de sang de cheval
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Gélose MH-F ¹
<i>Listeria monocytogenes</i>	Gélose MH-F ¹
<i>Pasteurella multocida</i>	Gélose MH-F ¹
<i>Campylobacter</i> sp.	Gélose MH-F ¹
<i>Corynebacterium</i> sp.	Gélose MH-F ¹
Autres bactéries à croissance lente	Selon

¹ MH + 5% sang de cheval défibriné mécaniquement + 20 mg/L β -NAD

➤ **Les disques d'antibiotiques et bandelettes E-test**

Le changement le plus important apporté par les nouvelles recommandations du CASFM en 2015 porte sur les antibiotiques à tester dans nos différents panels. En effet, les concentrations des disques changent pour certains antibiotiques, engendrant un changement de leurs sigles d'appellation, de nombreuses molécules ne sont plus recommandées et de nouvelles sont à tester, parfois avec des indications de diamètres critiques, parfois avec des indications de concentrations critiques (pour des molécules à tester exclusivement par des E-test pour détermination de la CMI).(5) Pour s'adapter à ces modifications nous avons constitué de nouveaux panels d'antibiotiques à tester pour chaque catégorie de germes (le détail de la composition de chaque panel se trouve en annexe VI).

Le tableau suivant détaille la liste des anciens et nouveaux panels :

Anciens panels		Nouveaux panels	
Gélose MH	Gélose MH sang	Gélose MH	Gélose MH-F
-Staphylocoques	-Streptocoques	-Staphylocoques	-Streptocoques non groupables
-Streptocoques (pour Enterocoques)		-Entérocoques	-Streptocoques groupables et Pneumocoque
-Bacilles Gram négatif		-Bacilles Gram négatif	-Campylobacter
-Pseudomonas		-Pseudomonas	
		-Acinetobacter	
		-Stenotrophomonas	

2.3.2. Commandes des nouveaux consommables

Plusieurs commandes de nouveaux consommables sont nécessaires pour réaliser les antibiogrammes selon les recommandations CASFM 2015. Les commandes ont été passées chez nos fournisseurs habituels pour les géloses MH-F et pour la plupart des disques et bandelettes d'antibiotiques. Un nouveau fournisseur (Rosco Diagnostica ®) a été ajouté à notre liste pour commander certains disques n'existant pas chez notre fournisseur habituel. Le SH-REF 02(8) précise que le LBM est tenu de vérifier que « les fournitures de matériels [...] correspondent à ses

besoins et aux exigences réglementaires (marquage CE...) ». Le marquage CE est bien présent sur les produits distribués par ce fournisseur.

Le CASFM recommande de plus de tester plusieurs souches ATCC en tant que CIQ dont certaines n'étaient pas répertoriées au laboratoire. Ci-dessous la liste des CIQ utilisés auparavant, puis après commandes :

CIQ utilisés jusqu'au 31/03/2015	CIQ utilisés depuis le 31/03/2015
E. coli ATCC 25922	E. coli ATCC 25922
P. aeruginosa ATCC 27853	P. aeruginosa ATCC 27853
S. pneumoniae ATCC 49619	S. pneumoniae ATCC 49619
S. aureus ATCC 25923	S. aureus ATCC 29213
S. aureus méticilline R (souche labo)	S. aureus méticilline R (souche labo)
Enterobactérie BLSE (souche labo)	Enterobactérie BLSE (souche labo)
P. stuartii CIP 107808	E. faecalis ATCC 29212
	H. influenzae NCTC 8468
	C. jejuni ATCC 33560
	K. pneumoniae Carbapénèmase BAA 1705

2.3.3. Vérification du système d'information

L'évaluation des systèmes informatiques du laboratoire occupe désormais une place majeure dans la démarche d'accréditation avec le passage à la norme ISO 15189 v2012, la création du chapitre 5.10 de cette dernière(3) et du SH GTA 02(9). La mise en application des recommandations 2015 du CASFM implique de nombreux changements et ajustements informatiques nécessitant la création d'un dossier de qualification du système informatique afin de vérifier et de tracer chaque étape. Ce dossier a été constitué selon les recommandations données entre autre par le chapitre 8 du SH GTA 02(9).

Tous les paramétrages et les tests ont été réalisés en amont sur la base de test de notre SIL. Parmi ceux-ci il a été nécessaire de vérifier, par exemple, la bonne création des panels dans l'informatique, les nouveaux noms des différentes molécules utilisées, etc. Aucun test de connexion (envoi de la demande depuis Glims vers l'automate) n'a été effectué car sur la base de test cela est irréalisable, un passage en base de production est indispensable pour cette vérification.

Au moment de la mise à jour du logiciel v2015 de l'automate Sirscan micro ® une migration en base de production a été effectuée. Tous les nouveaux paramètres ont été activés, les anciens désactivés et une vérification de la connexion SIL/automate a été réalisée.

2.3.4. Vérification du système expert et vérifications générales des recommandations 2015

Afin de vérifier que la mise en application de la version 2015 ne donnait pas de résultat aberrant ou discordant par rapport aux recommandations 2013 jusqu'alors appliquées, tous les antibiogrammes faits en routine la veille du changement de version ont été ensemencés en double (selon les recommandations 2013 et 2015). La lecture s'est faite le lendemain pour les boîtes ensemencées selon les recommandations 2013 (juste avant la mise à jour du logiciel de l'automate) puis les mêmes antibiogrammes ensemencés selon les recommandations 2015 ont été lus après le changement de version du logiciel. Une comparaison de chaque sensibilité et de chaque interprétation du système expert a été faite par la suite.

Les données du mode opératoire sont rapportées dans le tableau suivant :

N° dossier (CASFM 2013)	N° dossier (CASFM 2015)	Type de prélèvement	Germe	Panel utilisé (CASFM 2013)	Panel utilisé (CASFM 2015)
15001841001	15001966801	Urine	<i>E.coli</i>	Bacille G-	Bacille G-
15001844301	15001966901	Redon	<i>E.coli</i>	Bacille G-	Bacille G-
15001844001	15001967101	Selles	<i>E.faecium</i>	Streptocoque	Enterocoque
15001824502	15001967202	Hémoculture	<i>E.coli</i>	Bacille G-	Bacille G-
15001832801	15001967301	Selles	<i>E.cloacae</i>	Bacille G-	Bacille G-
15001841401	15001967401	Urine	<i>S.epidermidis</i>	Staphylocoque	Staphylocoque

De plus, chaque souche CIQ (sauf *Haemophilus influenzae* car testé en milieu liquide au LBC) et chaque souche du LBC connues pour posséder un mécanisme de résistance particulier, a été testée le jour de la mise en production pour 3 raisons :

- Vérifier la concordance des interprétations des diamètres en termes de sensibilité aux antibiotiques (sensible/intermédiaire/résistant).
- Vérifier la bonne détection des principaux mécanismes de résistance.

- Tester au moins une souche sur chaque panel pour vérifier les transmissions informatiques.

Les données du protocole sont recensées dans le tableau suivant :

N° dossier	Souches	Panels utilisés (CASFM 2015)	Utilité du test
15001936901	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	Streptocoque groupable	1) Diamètres 2) Panel
15001935101	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	Enterocoque	1) Diamètres 2) Panel
15001932701	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Staphylocoque	1) Diamètres 2) Panel
15001927501	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Pseudomonas	1) Diamètres 2) Panel
15001928601	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Bacille gram -	1) Diamètres 2) Panel
15001928601	<i>K. pneumoniae</i> carbapénèmase ATCC BAA 1705	Bacille gram -	1) Résistance
15001932701	<i>S. aureus</i> Méricilline résistant	Staphylocoque	1) Résistance
15001935801	<i>S. maltophilia</i>	Stenotrophomonas	1) Panel
15001928601	<i>C. freundii</i> BLSE	Bacille gram -	1) Résistance
15001935601	<i>Streptococcus spp</i>	Streptocoque non groupable	1) Panel
15001935701	<i>A. baumannii</i>	Acinetobacter	1) Panel

3. RESULTATS/EVALUATION

3.1. Vérification de méthode de l'ensemencement des antibiogrammes

Les résultats obtenus pour la vérification de méthode de l'ensemencement par inondation ou écouvillonnage sont donnés dans l'annexe IV.

3.2. Vérification du système d'information

Lors de la migration en base de production, la connexion entre le SIL et l'automate n'a pas fonctionné. Un défaut de paramétrage (invisible en base de test)

empêchait la transmission de la demande d'un antibiogramme faite sur le SIL (quelque soit le panel) vers l'automate. Une intervention des informaticiens de Glims a été nécessaire pour réparer la connexion, engendrant un retard d'une journée par rapport au planning prévisionnel. Cela n'a pas eu d'impact pour les patients car tous les antibiogrammes de la journée avaient été lus selon la version 2013 du CASFM le matin même, avant le changement de version du logiciel. Le dossier de qualification du système d'information se situe en annexe VII.

3.3. Vérification du système expert et vérifications générales des recommandations 2015

Les données des antibiogrammes de patients réalisés en double selon les recommandations 2013 et 2015 sont inscrites dans le tableau ci-dessous (un exemple de compte rendu interne au laboratoire (automate) et de compte rendu patient selon les deux méthodes est visible en annexe V). Il faut noter que les antibiogrammes ne peuvent pas être comparés au niveau des diamètres du fait de la charge des disques et de l'inoculum qui diffèrent. La comparaison se fera au niveau des sensibilités (S, I ou R) et des phénotypes de résistance, sur les molécules qui existent sur les deux panels (v2013 et v2015).

Souches	Discordance sensibilité	Discordance interprétation	Remarques du système expert	Conformité
Urine <i>E. coli</i>	Aucune	Aucune	Phénotype sauvage (Sensible)	Conforme
Redon <i>E. coli</i>	Aucune	<u>Oui</u>	Pénicillinase (2013) Céphalosporinase (2015)	<u>Non-conforme</u>
Selles <i>E. faecium</i>	Aucune	Aucune	R haut niveau aux aminosides	Conforme
Hémoculture <i>E. coli</i>	<u>Oui</u> Céfotaxime S/R	<u>Oui</u>	Pénicillinase (2013) Céphalosporinase (2015)	<u>Non-conforme</u>
Selles <i>E. cloacae</i>	Aucune	Aucune	Céphalosporinase hyperproduite	Conforme
Urine <i>S. epidermidis</i>	Aucune	Aucune	Phénotype Méricilline R et KTG	Conforme

Les résultats des antibiogrammes des souches CIQ (ATCC) et de celles utilisées pour tester les mécanismes de résistance sont donnés ci-dessous :

Souches	Discordance (diamètres ou détection mécanisme résistance)	Conformité
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	Aucune	Conforme
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	Aucune	Conforme
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Oui CMI Teicoplanine = 1,5 mg/L Valeur attendue : 0,25-1 mg/L	<u>Non-conforme</u>
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Aucune	Conforme
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Aucune	Conforme
<i>K. pneumoniae</i> Carbapénèmase ATCC BAA 1705	Aucune	Conforme
<i>S. aureus</i> Méricilline résistant	Aucune	Conforme
<i>C. freundii</i> BLSE	Aucune	Conforme

Les souchesensemencées pour tester les panels qui n'avaient pas été testés par une souche ATCC ou une souche résistante (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus spp.*) donnent les résultats escomptés : chaque phénotype est cohérent avec les recommandations du CASFM v2015 et la pousse bactérienne sur gélose MH simple ou MH-F est bonne dans chaque cas.

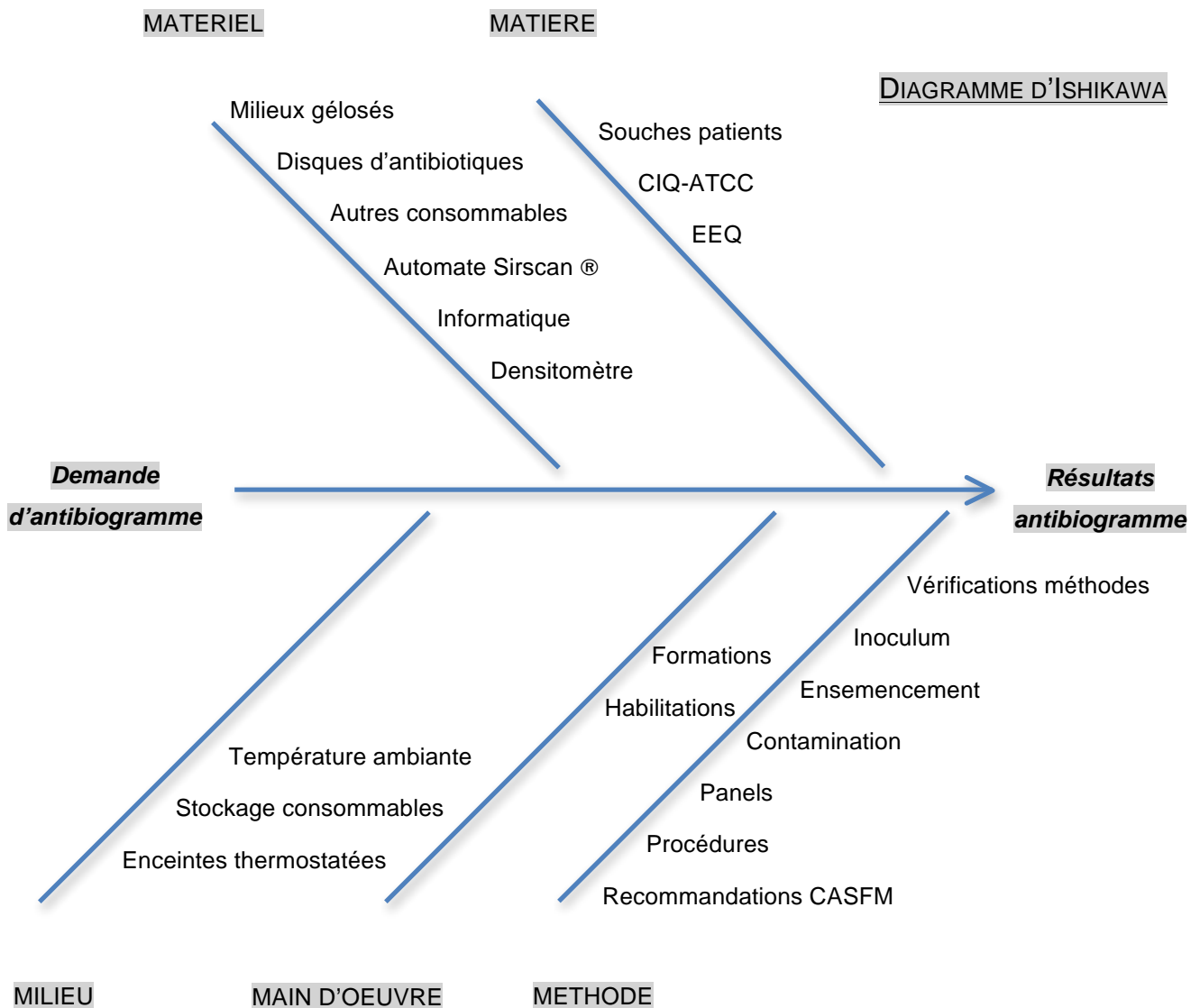
3.4. Analyse de risques

Comme le préconise le COFRAC dans la norme NF EN ISO 15189 v2012, paragraphe 4.14.6 « Gestion des risques » : « Le laboratoire doit évaluer l'impact des processus de travail et défaillances potentielles sur la sécurité des résultats des examens et doit modifier les processus pour réduire ou éliminer les risques identifiés, et documenter les décisions et actions menées ».(3)

De plus, R. Leclerc rappelle dans « L'antibiogramme » : «Dans le cas de l'antibiogramme, l'estimation de l'incertitude de mesure ne peut être atteinte par un calcul rigoureux et statistiquement valable, le laboratoire doit recenser toutes les étapes de l'analyse afin d'identifier les composantes de l'incertitude et les points critiques»(10). L'antibiogramme est donc une analyse dont chaque étape est

susceptible d'apporter une erreur. Cela s'explique par le nombre important de composantes mises en jeu dans sa réalisation, surtout humaines et matérielles, ainsi que par le caractère vivant des bactéries. De plus, une analyse des risques s'avère ici indispensable du fait du nombre important de composantes, comme rappelé précédemment, mais aussi du fait de changements majeurs par rapport à ce qui était effectué avant, tant dans la méthode qu'au niveau des consommables ou matériels.

Afin de mettre en avant les différents risques à maîtriser pour la bonne réalisation de l'analyse, un DIAGRAMME D'ISHIKAWA (méthode des 5M) a été réalisé (voir ci-dessous). Pour rappel, ce diagramme de cause à effet permet de faire apparaître de façon exhaustive toutes les causes d'erreurs susceptibles d'intervenir au cours de la réalisation d'une démarche précise.



4. INTERPRETATION/AJUSTEMENTS

4.1. Vérification de méthode de l'ensemencement des antibiogrammes

- Pour la reproductibilité : il a été retrouvé 100% de concordance qualitative S, I, R sur toutes les souches testées et par tous les techniciens habilités en microbiologie.
- Pour la répétabilité : (les limites « CV<5% et écart-type<1,5 mm » ont été choisies par le LBM en l'absence de référentiel disponible dans la littérature, en se basant sur une borne considérée comme acceptable sur ce type de technique).
 - Pour *E. coli* : tous les résultats de diamètres obtenus donnent un CV inférieur à 5% et un écart-type inférieur à 1,5 mm.
 - Pour *S. aureus* : tous les CV sont inférieurs à 5 % avec des écarts-types inférieurs à 1,5 mm sauf pour l'acide fusidique qui donne un CV=5,79 % et un écart-type=1,92 mm. Cependant, ce résultat est obtenu sur un grand diamètre (moyenne=33.2 mm), sans modification de la catégorisation de sensibilité donc sans conséquence sur la réponse qualitative.
 - Pour *S. pneumoniae* : 6 antibiotiques donnent des valeurs de CV et écarts-types en dehors des limites définies par le LBM. Cependant, pour les CV supérieurs à 5%, les écarts-types maximum sont de 3 mm, sur de grands diamètres (>24 mm). Ces résultats n'apportent pas de modification de la catégorisation de sensibilité et sont donc sans conséquence sur la réponse qualitative.

La technique d'ensemencement par écouvillonnage des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé recommandée par le CASFM v2015 a été agréée au laboratoire et mise en production le 23/02/2015 devant l'absence de résultat préjudiciable.

Pour la traçabilité, tous les résultats des différentes manipulations effectuées ont été conservés au laboratoire et mis en lien du SH FORM 43 de la vérification de méthode de l'antibiogramme. De plus, la nouvelle technique d'ensemencement a été détaillée dans la procédure « Mode opératoire pour l'antibiogramme » MO-LAB 009 modifiée à cette occasion.

4.2. Ajustements du système expert et des pratiques

4.2.1. Réponses aux non-conformités détectées sur les antibiogrammes patients et ATCC

Les résultats des vérifications du système expert et des autres vérifications générales ont montré quelques non conformités qu'il a fallu analyser afin d'apporter des mesures correctives appropriées si elle s'avéraient nécessaires :

- Une erreur humaine a été détectée sur la discordance d'interprétation de l'*E. coli* du redon (Pénicillinase vs Céphalosporinase, en technique CASFM v2013 puis v2015). En effet, le phénotype n'aurait pas dû être pondéré en pénicillinase de haut niveau lors de l'interprétation en v2013 car il s'agissait bien d'une céphalosporinase. Cette erreur était sans conséquence pour la prise en charge du patient, un renforcement de la vigilance lors de la lecture des antibiogrammes a été recommandé en tant que mesure corrective, mais aucune mesure curative n'a été entreprise.
- Pour la discordance de phénotype lu par le système expert sur l'*E. coli* de l'hémoculture, il s'agit d'une erreur mettant en avant les limites du système expert et de la lecture de l'automate. En effet, après relecture de cette boîte, une différence de lecture d'un millimètre sur le céfotaxime en v2013 transforme la sensibilité de S à I. Cela faisant donc changer le phénotype de résistance de la souche de Pénicillinase à Céphalosporinase. Aucune mesure corrective ou curative n'a été entreprise car le changement de phénotype de résistance est sans conséquence pour le patient au regard des traitements administrés.
- La souche ATCC de *Staphylococcus aureus* a donné un résultat de CMI non conforme pour la Teicoplanine, à 1,5 mg/L. Le résultat attendu doit se situer entre 0,25 et 1 mg/L (soit une dilution en dessous du résultat obtenu). Après un

nouvel ensemencement de la souche pour s'affranchir de toute erreur de technique la première fois, le même résultat non conforme a été retrouvé. Le résultat de CMI pour la Vancomycine, seul autre antibiotique se trouvant avec la Teicoplanine sur la petite boîte du panel Staphylocoque, est conforme, mais à la limite supérieure. La grande boîte est entièrement conforme.

Devant l'inoculum trop important de la petite boîte, il a été décidé de modifier la technique d'ensemencement en ne rechargeant pas l'écouvillon entre l'ensemencement de la grande et de la petite boîte. Après cela, le résultat apparaissait toujours non conforme. Il a donc été décidé en plus de ne réaliser que deux stries sur la boîte. Cela a donné un résultat conforme.

Une étude d'impact simple a pu être réalisée pour tous les résultats de CMI rendus durant cette phase de correction de la technique d'ensemencement de la petite boîte du panel Staphylocoque. En effet, durant cette période aucune souche de patient n'a été rendue résistante à la Vancomycine ou la Teicoplanine, alors que la CMI était surestimée à cause de l'inoculum. Toutes les souches étaient alors réellement sensibles. Aucun rappel de résultat n'a donc été entrepris et la nouvelle technique d'ensemencement pour ce cas particulier a été modifiée dans la procédure MO-LAB 009.

4.2.2. Ajustements du système expert de l'automate et des paramètres informatiques

Ci-dessous quelques exemples de modifications réalisées au niveau du système expert de l'automate Sirscan micro ® et de certains paramètres afin de répondre aux recommandations du CASFM 2015 et d'apporter un résultat d'antibiogramme le plus exact, le plus fiable, le plus intéressant et pertinent possible pour aider le clinicien dans sa prescription antibiotique :

- Masquage par le système expert du résultat des Quinolones qui apparaissaient sur tous les compte rendus (pour tous les types de prélèvements) des panels Entérocoques. Démasquage manuel par le biologiste ou l'interne dans le cas des infections urinaires.

- Pondération de « Sensible » à « Intermédiaire » de la Céfalexine (C1G) en cas de pénicillinase acquise détectée pour une entérobactérie du groupe I de résistance.
- Masquage de la Céfoxitine, Moxalactam, et Norfloxacin qui apparaissaient sur les résultats d'antibiogrammes de Staphylocoques.
- Ajout d'une phrase de commentaire automatique proposant un conseil thérapeutique et une aide à l'interprétation des résistances pour le clinicien sur les SARM et sur les Staphylocoques à coagulase négative méticilline résistants. Cela permet ainsi une homogénéisation de la prestation de conseil thérapeutique dispensée par le biologiste sur ce type de germe.
- Masquage du résultat de la Ceftazidime obtenu par disque lorsqu'une CMI E-test est réalisée pour cette molécule.
- Suppression des règles expertes « Test à la Ceftaroline » pour les Staphylocoques résistants à la Méricilline et « Y a t-il des colonies autour de la Vancomycine et de la Teicoplanine » pour les Entérocoques.

4.3. Eléments de réponse à l'analyse de risques

Dans le but de maîtriser les risques liés à la réalisation de l'antibiogramme (voir diagramme d'Ishikawa), il a été nécessaire de répondre de façon exhaustive aux différents risques identifiés. Ci-dessous sont listés les éléments de réponses mis en place au LBC :

- Matériel :
 - *Consommables* : procédure de gestion des commandes, procédure de recueil des fiches de données de sécurité, procédure de gestion des stocks, procédure d'utilisation et maintenance de l'automate Sirscan micro ®, vérification du système expert, maintenance et étalonnage du densitomètre, dossier de qualification du système informatique.

- Matière :
 - *Souches* : procédure de passage des CIQ au LBC, choix de CIQ recommandés par le CASFM-EUCAST et représentatifs de l'activité du laboratoire, abonnement à un programme d'EEQ (CTCB) avec passage minimum 4 fois par an.

- Milieu :
 - *Enceintes thermostatées, stockage, température ambiante* : suivi métrologique de l'étuve d'incubation des antibiogrammes, de la pièce de bactériologie et de la chambre froide.

- Main d'œuvre :
 - *Formations et habilitations* : habilitation du personnel médical à l'utilisation du nouvel automate Sirscan micro ®, maintien d'habilitation du personnel technique pour la réalisation des antibiogrammes, participation du personnel médical et technique à des journées de formation, information du personnel sur les changements dus aux nouvelles recommandations du CASFM v2015 lors d'une réunion de service (Annexe I), traçabilité dans le système de gestion documentaire de la prise de connaissance par le personnel concerné des nouvelles procédures mises en place dans le cadre des changements sur l'antibiogramme.

- Méthode :
 - *Vérifications de méthodes et antibiogramme* : SH FORM 44
 - *Inoculum, ensemencement* : maintenance et étalonnage du densitomètre
 - *Procédures, recommandations* : MO-LBM 009 (mode opératoire pour l'antibiogramme, gestion des CIQ, liste des panels d'antibiogrammes), PG-LBM 034 (gestion de la portée flexible), recommandations du CASFM-EUCAST v2015.

4.4. Modifications des procédures du laboratoire

Procédure « mode opératoire » pour l'antibiogramme

La procédure MO-LBM 009 (Annexe VI) décrivant le mode opératoire pour l'antibiogramme a été revue afin d'y apporter toutes les corrections faisant suite à l'adoption des nouvelles recommandations du CASFM. Elle comprend de plus les schémas des nouveaux panels antibiotiques mis en place au LBC, ainsi que la procédure détaillant le principe et la fréquence du roulement des CIQ au laboratoire.

Procédure « liste des fournisseurs »

La procédure LI-LBM 044 recensant la liste des fournisseurs a été modifiée pour répondre aux exigences du chapitre 4.6 de la norme ISO 15189 version 2012(3). Le fournisseur Rosco Diagnostica ® a été ajouté en tant que fournisseur critique, il sera donc évalué à chaque début d'année civile par le LBC.

4.5. Traçabilité et archivage des données

Afin de répondre aux exigences du COFRAC en terme de traçabilité, d'archivage et de sauvegarde des données (chapitres 5.10 NF EN ISO 15189(3) et 7.9 - 7.10 du SH GTA 02(9)), diverses vérifications ont été entreprises. Grâce au Sirscan micro ® il est possible de conserver toutes les images des boîtes d'antibiogrammes lues sur l'automate. Sur quelques dossiers choisis au hasard et ayant été lus avant la mise à jour du logiciel, aucune perte ou modification de données n'a été constatée après la mise à jour. De plus, toutes les lignes recensant les anciens noms des molécules utilisées selon les anciennes recommandations ainsi que les noms des anciens panels enregistrés dans Glims ont été conservés dans l'informatique. De nouveaux noms pour les molécules et les panels ont été créés.

5. CONCLUSION

La mise en place des nouvelles recommandations émises par le CASFM-EUCAST en janvier 2015 a été entreprise en suivant une démarche de gestion de la portée flexible. Cela a nécessité l'application de nombreuses vérifications de méthodes, revues de procédures ou modes opératoires, et a demandé une implication dans des domaines divers tels que l'informatique, les commandes, le personnel, etc.

Afin de respecter une logique dans le déroulement du projet, les protocoles mis en place au laboratoire pour les différentes vérifications de méthodes ont pris en compte le volume d'activité relativement faible que représente l'antibiogramme au sein du laboratoire, ainsi que les différentes contraintes propres au laboratoire et aux exigences du COFRAC.

Les résultats obtenus tout au long de cette démarche ont révélé de nombreux points satisfaisants. Cependant quelques axes d'amélioration sont à poursuivre notamment l'absence de communication informatique entre le Sirscan ® et le SIL pour certains commentaires biologiques spécifiques. Ceci oblige donc à une intervention manuelle dans le SIL et de ce fait ne favorise pas l'harmonisation des commentaires entre biologistes.

L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé est déjà accrédité par le COFRAC au Centre Henri Becquerel, les résultats de cet examen sont donc rendus sous accréditation COFRAC. La visite de renouvellement de ce dernier a eu lieu en juin 2015 et n'a pas révélé d'écart à ce propos.

Bibliographie

1. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.
2. LOI n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale. 2013-442 mai 30, 2013.
3. Norme NF EN ISO 15189 Déc 2012.
4. QUAMIC-2014 [Internet]. [cité 4 févr 2015]. Disponible sur: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/QUAMIC/QUAMIC_2014.pdf
5. CASFM_EUCAST_V1_2015 [Internet]. [cité 4 févr 2015]. Disponible sur: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_EUCAST_V1_2015.pdf
6. CASFM2013vjuin [Internet]. [cité 1 mai 2015]. Disponible sur: <http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM2013vjuin.pdf>
7. SH-FORM-43 [Internet]. [cité 1 mai 2015]. Disponible sur: <https://www.cofrac.fr/documentation/SH-FORM-43>
8. SH-REF-02 [Internet]. [cité 1 mai 2015]. Disponible sur: <https://www.cofrac.fr/documentation/SH-REF-02>
9. SH-GTA-02 [Internet]. [cité 1 mai 2015]. Disponible sur: <https://www.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-02>
10. Leclerc R. Antibiogramme. 3ème édition. Paris: ESKA; 2012.

Table des matières des annexes

Annexe I : Réunion "Info flash" sur les changements liés au CASFM 2015

Annexe II : Procédure de gestion de la portée flexible du LBC (PG-LBM 034) (extrait)

Annexe III : SH FORM 44, Sirscan micro ® : Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé

Annexe IV : Résultats obtenus pour la comparaison des deux techniques d'ensemencement (extrait)

Annexe V : Exemples de compte-rendu automate et compte-rendu patient, antibiogrammes réalisés selon les recommandations CASFM 2013 puis 2015

Annexe VI : Procédure « mode opératoire » antibiogramme (MO LBM 009), incluant les panels d'antibiogrammes et la gestion des CIQ (extrait)

Annexe VII : Dossier de vérification du système d'information (extrait)

Annexes

Annexe I : Réunion « Info flash » sur les changements liés au CASFM 2015



CENTRE HENRI-BECQUEREL
CENTRE DE LUTTE CONTRE LE CANCER DE HAUTE-NORMANDIE

Info flash microbio : antibiogramme selon CASFM 2015

M. David

Antibiogrammes

- Pour toutes les bactéries:
Inoculum: 0.5 mcF en Api NaCl (possibilité d'utiliser Api NaCl pour galeries Api 20E, 20NE), JAMAIS de dilution
- Cas des hémocultures: 4 gouttes en Api NaCl, PAS de dilution
- Ecouvillonnage côté-côté-diagonale, sans recharger
- Dépôt des disques
- Retourner les boîtes et incuber dans les 15 min, max 30 min après dépôt des disques

Antibiogrammes


Tableau 1
Milieux de détermination la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Organisme	Milieu
Entérobactéries	Gélose de Mueller-Hinton
Pseudomonas spp.	Gélose de Mueller-Hinton
Stenotrophomonas maltophilia	Gélose de Mueller-Hinton
Acinetobacter spp.	Gélose de Mueller-Hinton
Staphylococcus spp.	Gélose de Mueller-Hinton
Enterococcus spp.	Gélose de Mueller-Hinton
Streptococcus pneumoniae	Gélose MH-U1
Streptococcus des groupes A, B, C, G	Gélose MH-U1
Streptococcus non groupables	Gélose MH-U1
Haemophilus spp.	ATB Haem
Helicobacter pylori	Non concerné
Aloprevia catenulata	Gélose MH-U1
Listeria monocytogenes	Gélose MH-U1
Pasteurella multocida	Gélose MH-U1
Campylobacter spp.	Gélose MH-U1
Corynebacterium sp.	Gélose MH-U1
Autres bactéries à croissance lente	Selon

Panel BGN, Panel staph, Panel campylo, Panel strepto

Antibiogrammes

- Panel BGN + témocilline, tigécycline, E-test si besoin
- Panel pyo + E-test si besoin
- Attention: Acineto et Steno: E-test si besoin



ATB PYO

TIC FER [E] [E] [E]
75 30 30 30

POU [ACINETO] P-H 100 / T2* 110 / CAZ 30 / CTX 30

[E] [E] [E] [E] [E] [E]
10 35 30 30 30

C/F ATM SXT LVK
5 30 25 5


GMN TMN AKN CST
10 10 30 50

POU [STENO] A/NO 30 + C/M/CAZ/AMK

Antibiogrammes

- Panel Staph: E-test systématique VAN et TEC + novobiocine
- Panel Campylo: si besoin
- Panel entéro: E-test si besoin

Attention strepto non groupables, strepto groupables et pneumo



ATB ENTERO

FCV CVC AP COK
1 1 2 3

NE PAS mettre novobiocine, furazolidone, novobiocine

ATB STAPH

ATM SXT LVK
5 30 25 5

GMN TMN AKN CST
10 10 30 50

Antibiogrammes

- Molécules avec plusieurs concentrations:
 - Pipéracilline: PIL et PIR
 - Tazocilline: TZP et PTZ
 - Ampicilline: API et AMP
 - Céfotaxime: COX et CTX
 - Ceftazidime: CZD, CAZ
 - Gentamicine: GMN, GME, GEN
 - Rifampicine: RIF, RAM
 - Linézolide: LIN, LZD

Annexe II : Procédure de gestion de la portée flexible du LBC (PG-LBM 034) (extrait)

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Procédure GÉNÉRALE	001	PG-LAB 034	03	09/06/2015	09/06/2017

GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE MIXTE A-B

EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE Amorce(s) :

Documents associés :

DD-GEN 019 - Manuel de prélèvement du laboratoire d'oncogénétique, DD-LBM 006 - Fiche de description de fonction : Responsable Technique, DD-LBM 009 - Fiche de description de poste : Technicien de laboratoire, DE-LAB 001 N - Norme NF EN ISO 15189:2007 (août), DE-LAB 002 N - SH-REF 02 rév 03 15189:2007 Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, DE-LAB 003 N - SH-REF 02 rév 04 15189:2012 Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, DE-LAB 018 N - Norme NF EN ISO 15189:2012 (décembre), IM-LAB 036 - Tableau de suivi des dossiers de validation/vérification de méthodes, IM-LAB 059 - Imprimé libre, LI-ACP 010 - Liste des habilitations du personnel et matrice des compétences, LI-ACP 028 - Liste des examens et opérations, LI-GEN 022 - Liste des habilitations équipements oncogénétique, LI-GEN 024 - Liste des habilitations aux postes, LI-GEN 027 - Liste des habilitations aux fonctions clés, LI-LBM 012 - Habilitation, LI-LBM 049 - Liste des analyses accréditées (ou non) du laboratoire de biologie clinique, PG-LAB 005 - Vérification/validation des techniques d'analyses, PG-LAB 006 - Contrôles internes et externes de la qualité, PG-LAB 018 - Procédure de traitement des non conformités, PG-LAB 021 - Action corrective et préventive, PG-LAB 029 - Utilisation des moyens informatisés, PG-LAB 032 - Incertitudes des résultats d'examen

4. GLOSSAIRE

Abréviations :

- o **SMQ** : Système Management de la Qualité
- o **RAQ** : Responsable Assurance Qualité
- o **COFRAC** : Comité Français pour l'Accréditation

Définitions :

- o **PORTEE FLEXIBLE STANDARD** : portée correspondant à une accréditation de type A
- Le laboratoire est autorisé sans évaluation spécifique et préalable, à utiliser des méthodes (normalisées ou reconnues) adoptées, reposant sur des compétences techniques déjà démontrées.
- o **PORTEE FLEXIBLE ETENDUE** : portée correspondant à une accréditation de type B
- Le laboratoire est autorisé sans évaluation spécifique et préalable, à réaliser des prestations d'analyses selon des méthodes validées modifiées ou adaptées à partir des méthodes mentionnées (ou méthodes équivalentes) dans la portée d'accréditation.
- o **PORTEE MIXTE** : Portée qui cumule des disciplines en A et B.

5. RESPONSABILITES

Le responsable technique du secteur concerné est responsable de l'autorisation d'emprunt (cf. DE-LAB 036 : Document SH-REF 08 rév 01 « Expression et évaluation des portées d'accréditation ») de la méthode d'analyse avant utilisation en routine, et notamment des points suivants :

Muriel DAVID

04/06/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 38

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Procédure GÉNÉRALE	001	PG-LAB 034	03	09/06/2015	09/06/2017

GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE MIXTE A-B

EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE Amorce(s) :

- ✓ la méthode est correctement définie dans le document de référence (norme ou document publié ou notice fournisseur ou document qualité interne au département (méthode d'analyse)) et répond au besoin explicite (ou implicite) du client (patient ou service de soins).
 - ✓ Le technicien référent et/ou le praticien compétent réalise les essais de validation selon la PG-LAB 005.
 - ✓ un programme de maîtrise de la qualité est mis en place.
 - ✓ la documentation qualité technique du SMQ est mise à jour ou rédigée.
 - ✓ la décision d'aptitude est rédigée et visée.
- Le rôle et les responsabilités du responsable technique sont définis dans le Manuel d'Assurance Qualité du Département MG-LAB 001.

Le **RAQ** peut participer par délégation du responsable technique au processus de vérification/validation. Il est d'ordre par responsable des étapes finales de mise à jour de la liste, et de sa transmission au coordinateur RAQ du département pour transmission au responsable d'accréditation COFRAC.

6. DEVELOPPEMENT DE LA PROCEDURE

6.1. Généralités

Dans le cadre de la gestion de la portée flexible mixte, plusieurs cas peuvent se présenter :


- **Etendre la portée d'accréditation à un nouveau paramètre dont la compétence et la famille font partie de la portée actuelle d'accréditation** (ajout, par exemple d'un nouveau marqueur tumoral sur automate accrédité)
- Le processus suit le logigramme formalisé au paragraphe 6.2.
- **Revue des références documentaires (documents fournisseurs, références littéraires ou des sociétés savantes) suite à évolution ou modifications**
- Le responsable technique est responsable de la revue documentaire et statue sur l'impact ou pas des modifications vis-à-vis de la méthode actuelle.
- En cas d'impact, un dossier de vérification/validation est ouvert et suit le logigramme 6.2.
- Dans tous les cas, la revue +/- impact sont tracés par le responsable technique sur un imprimé libre IM-LAB 059 et archivé par le RAQ avec le dossier de vérification/validation de la méthode.
- **Renouvellement automate accrédité**
- Dans ce cas précis, il s'agit de qualifier l'appareil, après revue du dossier d'installation et de qualification réalisé sur site par le fournisseur. La décision d'aptitude est prononcée suite au passage des CIQ. Le dossier est transmis au COFRAC par le cadre du département après validation par le responsable technique.
- **Renouvellement automate avec choix d'un nouveau fournisseur pour des compétences dans des disciplines accréditées**
- Les critères de sélection et les étapes concernant l'achat d'un nouvel automate d'analyses sont énoncés dans le manuel qualité. Dans ce cas, il s'agit non seulement de qualifier l'appareil (qualification faite sur site par le fournisseur), mais également de vérifier/valider les méthodes

Muriel DAVID

04/06/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 48

 INSTITUT PASTEUR DE LILLE DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE		GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE MIXTE A-B			
Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Procédure GÉNÉRALE	001	PG-LAB 034	03	09/06/2015	09/06/2017
EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE			Annexé(s) :		

d'analyses. Le responsable technique est en charge du dossier global de vérification/validation des méthodes (selon le logigramme 6.2) et de qualification de l'automate.

Ce renouvellement est planifié par anticipation (2 à 4 semaines) pour permettre la formation du technicien référent et la réalisation des essais sur site avant déclaration d'aptitude et mise en production.

➤ **Evolution ou modifications des réactifs**

Le responsable technique après revue documentaire statue sur l'impact ou pas des modifications vis-à-vis de la méthode actuelle.


En cas d'impact, un dossier de vérification/ validation est ouvert et suit le logigramme 6.2.

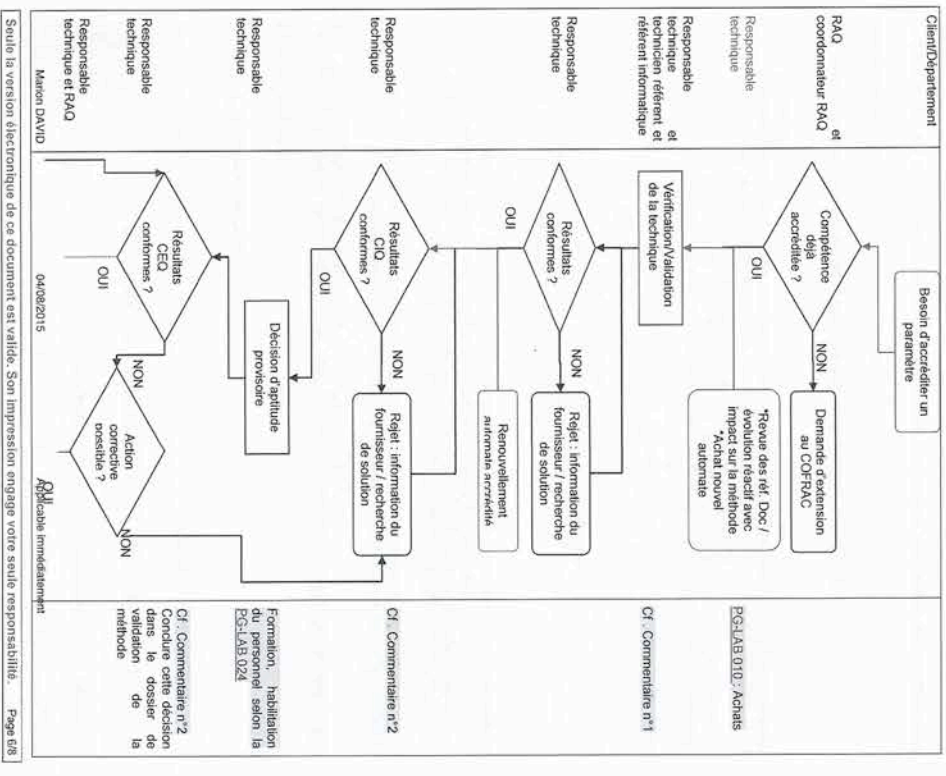
Dans tous les cas, la revue +/- impact sont tracés par le responsable technique sur un imprimé libre IMLAB 059 et archivé par le RAQ avec le dossier de vérification/validation de la méthode.

6.2. Logigramme		
Qui	Quoi	Comment

Métron DAVID 04/08/2015 Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 5/8

 INSTITUT PASTEUR DE LILLE DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE		GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE MIXTE A-B			
Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Procédure GÉNÉRALE	001	PG-LAB 034	03	09/06/2015	09/06/2017
EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE			Annexé(s) :		



Métron DAVID 04/08/2015 Applicable immédiatement

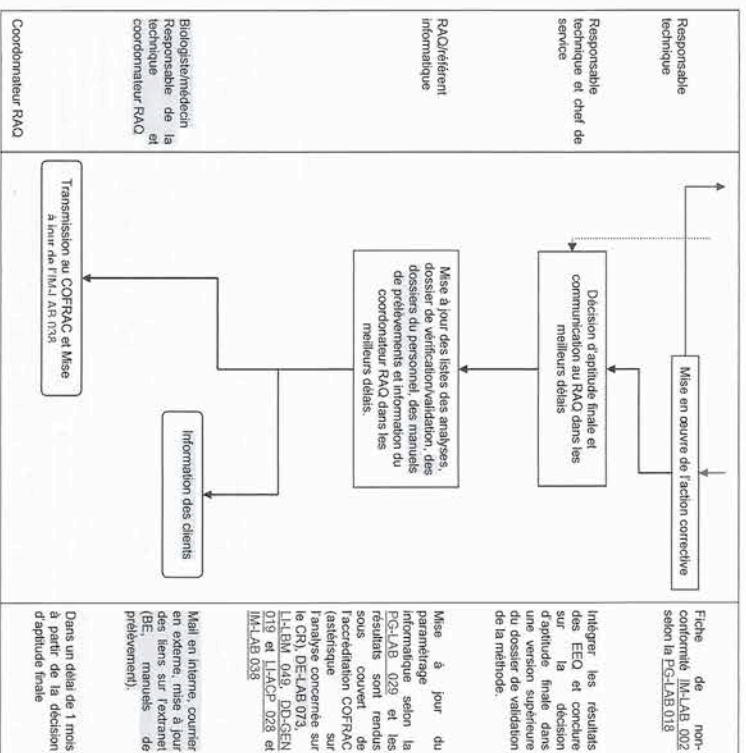
Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 5/8

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Procédure GÉNÉRALE	001	PG-LAB 034	03	09/06/2015	09/06/2017

GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE MIXTE A-B

EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE

Annexe(s) :



La politique d'évaluation du département intègre un plan d'audit annuel dont celui de la gestion de la portée flexible (PG-LAB 027).

Marian DAVID 04/09/2015 Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 7/8

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Procédure GÉNÉRALE	001	PG-LAB 034	03	09/06/2015	09/06/2017

GESTION DE LA PORTEE FLEXIBLE MIXTE A-B

EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE

Annexe(s) :

6.3. Commentaires

Commentaire n°1 :

La création d'un dossier de vérification ou de validation de méthode (DE-LAB 073) suit les instructions de la PG-LAB 005. Vérification/validation d'une méthode et inclue l'étude :

- du processus pré analytique selon la PG-LAB 035, la revue de demande selon la PG-LAB 002 et mentionne explicitement le biologiste responsable de la technique et de la validation.
- Du processus analytique dont entre autre les conditions environnementales selon la PG-LAB 023 Hygiène et sécurité des locaux et du personnel et la PG-LAB 013. Procédure d'entretien général du département. La liste des analyses est mise à jour ainsi que les dossiers du personnel, une fiche d'habilitation est créée ou complétée si elle existe déjà. La réévaluation est systématique selon la PG-LAB 024.
- Le processus post-analytique selon la PG-LAB 036 :
 - La gestion des déchets et des effluents selon la PG-LAB 012 Elimination des déchets
 - La conservation des échantillons et leur mise en échantillonnage :
 - Bioclin : PG-LBM 004 Gestion des échantillons. PG-LBM 025 Gestion de l'échantillonnage.
 - Génétique oncologique : MO-GEN 001 et MO-GEN 002 Traitement et gestion des prélèvements en cytogénétique et en biologie moléculaire ; PG-GEN 004 Gestion des banques d'échantillons en oncogénétique.
 - Anatomie et cytogénétique pathologiques : PG-ACP 042 stockage des prélèvements PG-ACP 008 prise en charge des cytologie., MO-ACP 013 prise en charge des biopsies osseuses et 014, prise en charge des biopsies.
- La validation et la transmission des résultats sont traitées dans la PG-LAB 003. Leur interprétation contextuelle est évoquée au sein de la procédure générale PG-LAB 037 Prestation de conseils.

Un dossier de qualification informatique est également créé selon la PG-LAB 029.

Commentaire n°2 :

La gestion des CIO et CEQ (Contrôles Internes et Externes de la Qualité) est réalisée selon la procédure PG-LAB 006.

L'évaluation de l'incertitude de mesure (selon PG-LAB 032) est réalisée par le responsable technique dès l'étape de la vérification/validation technique (identification des sources d'incertitude) jusqu'à la réception des résultats de CEO.

7. ANNEXE(S)

Néant Marian DAVID 04/09/2015 Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 8/8

Annexe III : SH FORM 44, Sirscan ® micro : Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé

	FICHE TYPE QUALITATIF VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE	REFERENCE : SH FORM 44 INDICE DE REVISION : 00 DATE D'APPLICATION : 15/04/11
---	--	--

	FICHE TYPE QUALITATIF VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE	REFERENCE : SH FORM 44 INDICE DE REVISION : 00 DATE D'APPLICATION : 15/04/11
---	--	--

Note : le laboratoire se référera au tableau du § 9.2.1 du Document Cotrac SH GTA 04 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera une fiche par examen de biologie médicale

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE : Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé : système de mesure SIRSCAN.

DESCRIPTION DE LA METHODE	Etude de la sensibilité d'une espèce bactérienne à différents antibiotiques, via la mesure du diamètre d'inhibition de croissance autour de chaque disque d'ATB. Domaine d'application : souche bactérienne à potentiel pathogène isolée en culture. La méthode est conduite par des C/O réguliers effectués à partir de souches ATCC, CIP et « locales » (SAMR et BLSF). La méthode fait l'objet d'une HEQ (ANSM et CTCB). Dépôt à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensémençé avec une culture pure selon les recommandations du référentiel CASFM en vigueur, de disques de papier buvard ou comprimés, imprégnés des antibiotiques à tester. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme radiale si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques sont entourés de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture, fonction de la sensibilité de la souche bactérienne à l'antibiotique considéré. A la limite des zones d'inhibition, la concentration d'antibiotique correspond à la CMI de la souche bactérienne testée pour l'antibiotique considéré. La méthode se déroule en 6 étapes :
Principe de la Mesure :	
Méthode de mesure :	

¹ Dans le cadre d'une portée B, le laboratoire aura à sa charge d'établir un protocole d'évaluation propre aux items et aux examens concernés par la portée B.

Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...):	1/ préparation et dilution d'une suspension d'inoculum selon les recommandations du référentiel CASFM en vigueur 2/ ensémençement par écouvillonnage de la gélose selon les recommandations du CASFM en vigueur 3/ dépôt des disques d'antibiotiques 4/ incubation selon les recommandations du référentiel CASFM en vigueur 5/ mesure métrique par pied à coulisse ou système optique automatisé (automate SIRSCAN Micro - IZA)
Type de récipient, Additifs (tubes, ...):	Suspension bactérienne obtenue à partir d'une ou de plusieurs colonies de même morphotype, issue de culture bactériologique de tout prélevement d'origine humaine à visée de culture bactériologique Tubes stériles à usage unique contenant le diluant (solution saline) selon les recommandations du référentiel CASFM en vigueur.
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...):	A partir des colonies obtenues sur milieux de culture, réalisation d'une suspension bactérienne, puis élimination adéquate de cette suspension en fonction du genre bactérien.
Unités :	Zone d'inhibition exprimée en mm. Rendu du résultat en catégorie clinique : sensible/intermédiaire/résistant.
Intervalles de référence² :	Diagnostics critiques et interprétation quantitative définis selon les recommandations du référentiel CASFM en vigueur
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Code C.M.D. (s'il existe) :	
Instrument (analyseur automatique, etc.) :	Camera de lecture et pied à coulisse - système SIRSCAN Micro (IZA) (DE-LBM 230A. Guide de référence rapide du Sirscan Micro)
Référence du réactif (référence fournisseur, version notifiée) :	Système SIRSCAN Micro (IZA) N°S 214HSKMH00160, Logiciel SIRWEB Liaison bidirectionnelle avec système central (import + export) + SIRWEB épidémiologie. Version du logiciel ADS pack 00 du 18/09/2014, mise à jour selon les recommandations du fournisseur.
Matériau d'étalonnage (références)/ Recours à un étalon métrologique :	Calibration trimesurée via un étalon (réf.ZN152) relié aux étalons nationaux. Elle permet : 1. La calibration de l'automate 2. La vérification des mesures
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Etafon à étalonnage ou à remplacer tous les 4 ans. Vérification annuelle du pied à coulisse MO-LBM-029. Souches bactériennes de collection recommandées par le référentiel CASFM en vigueur (phénotype sauvage ou résistant) 1 seul niveau de calibration

² Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant, l'âge, le sexe, l'âge...



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION
(PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE
MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44
INDICE DE REVISION : 00
DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :	Karine REMAULT
Procédure de validation :	La validation de la méthode a comporté 3 étapes : 1) étude bibliographique sur les difficultés inhérentes à la méthode 2) étude des différentes étapes du processus pour identifier les facteurs de risque. 3) évaluations théorique et pratique des compétences du personnel. Ce point fait partie des critères d'habilitation découlant de la formation au poste.
Procédure de gestion de la portée flexible :	PG-LAB 034 « Gestion de la portée flexible mixte A – B »
Période d'évaluation :	31 mars au 1 ^{er} avril 2015
Date de mise en service :	1 ^{er} avril 2015
Autorisation de mise en service par :	Marion DAVID



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION
(PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE
MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44
INDICE DE REVISION : 00
DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Type d'échantillon primaire (urne, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :	1/ Suivi de lot et de préemption du matériel de prélèvement. 2/ Modalités de prélèvement, de transport et de conservation du prélèvement avant réception au laboratoire 3/ Intégrité de l'échantillon pour sa prise en charge du prélèvement en secteur technique 4/ Densité correcte de la suspension 5/ Délivraison adéquate des disques ATB-tests 6/ Dispersion des disques ATB à égale distance 7/ Pénétration des disques ATB 8/ Rupture de stocks des disques ATB des géloses, des suspensions salines, des écouvillons ... ; plus généralement de tout matériel nécessaire	1/ Gestion dans le logiciel PHARMA 2/ Cf guide de prélèvement MO-LBM 032 3/ Cf PG-LBM 004 « Maîtrise des échantillons », MO-LBM 008 « Réception et traitement des prélèvements microbiologiques » 4/ Calibration du densimètre, livre de vie LV L041, recommandations CASFM en vigueur Calibration pipettes, pipettes à usage unique commerciales, recommandations CASFM en vigueur 6/ Dépôt des disques standardisé via un distributeur 7/ Suivi des lots et des préemptions (documents « suivi des lots ATB », « gestion des préemptions » : IM-LBM 184 ; IM-L275 ; IM-L276 8/ Suivi des stocks journalier
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...):	Remarque : antibiogramme et identification s'interprètent ensemble, selon les connaissances concernant les résistances naturelles et acquises du micro-organisme identifié.	Remarque : voir dossier de vérification/validation de l'identification de micro-organismes
Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	Preparation d'une suspension de densité établie par la méthode Connaissance : • Des critères d'acceptation d'un échantillon • Des supports documentaires:	Calibration du densimètre, livre de vie LV L041 Calibration pipettes, pipettes à usage unique commerciales Recommandations CASFM en vigueur Habilitation par formations collectives ou individuelles par une personne qualifiée et habilitée. • Formation à l'utilisation du



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION
(PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE
MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44
INDICE DE REVISION : 00
DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
	<ul style="list-style-type: none"> des éléments techniques communs de la confirmation des résultats CAT en cas de résultats alarmants	<ul style="list-style-type: none"> logiciel qualité et du SIL (MO-LBM 031) Formation en double au poste technique Prise de connaissance des documents en vigueur au poste (DE-LBM 230A – LV-LBM 023) Info flash bactéro : passage au référentiel CASFM 2015 selon la PCL-LAB 024. CAT résultats alarmants DD-LBM 027 Tracabilité informatique de toutes les opérations effectuées sur le dossier (bordereau et opérateur) : pré-analytique, technique et validation biologique. Tracabilité de prise de connaissance des modes opératoires DPC, congrès, participation à des réseaux, contrôle DEQ. Surveillance journalière de la température des enceintes (minutés d'un thermomètre mini/minix) Indicateur d'anaérobiose.
Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage,...) :	Condition de T°C : 18-40°C	
Référence du réactif (référence fournisseur, version) :	Disques Biorad (références : document « gestion des périmètres » IM-LBM 184 - IM-L275 ; IM-L276) / Milieux MH (63301 et 63824) et MH-F (63325 et 63324) Biorad Rupture des stocks des milieux de cultures ou disques ATB	Marché annuel + commandes ponctuelles selon la consommation réelle
Matériau de référence :	Ecouvillons Delablab distribués par CML ref 300261, risque : rupture stock	Scdm les recommandations du CASFM en cours + bactéries multi-résistantes BLSE et SAMR issues de sources cliniques conservées Liste des CIOQ LI-LBM 025 Liste des CIOQ LI-LBM 015 Identification bactérienne et



FICHE TYPE QUALITATIF

VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION
(PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE
MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44
INDICE DE REVISION : 00
DATE D'APPLICATION : 15/04/11

MAITRISE DES RISQUES

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques	Densité de la suspension exacte épaisseur de l'inoculum Fiabilité du lecteur d'images d'anthogranne SIRSCAN Fiabilité du système export Etuve	anthogranne MO-LBM 009 Calibration du densitomètre mensuelle Calibration pipettes annuelle Procédures d'utilisation (Sissem DE-LBM 040) Cahier de vie de l'automate Contrat de maintenance Suivi métrologique de l'étuve d'incubation des anthogrannes (sonde Evicene) Validation des règles d'expertises/commentaires Tracabilité des images en cas de problème d'interprétation Tracabilité de la mise à jour du système expert Habilitation et DPC du personnel biologique valident l'anthogranne

* Item à renseigner si nécessaire

Evaluation des CIO :

(cf MO-LBM 038)

ATCC, CIP, sources « locales » SAMR et BLSE (cf LI-LBM 025)

Contrôle hebdomadaire de la conformité des diamètres obtenus par rapport aux diamètres définis par le CASFM selon le référentiel en vigueur.

Contrôle supplémentaire de détection des SAMR et BLSE (détection des images de synergie C3G-acide clavulamique).

Evaluation des EEQ :

(cf MO-LBM 038)

ANSW et CTCB

En attente des résultats avec SIRSCAN

Références bibliographiques :

-Recommandations CA-SFM 2015 version 1

-Bactériologie médicale techniques usuelles, F. Denis et al, 2011 éditions Elsevier Masson DE-L175D

-Précis de Bactériologie Clinique J. Freney and coll, 2^{ème} édition 2007 Edition ESKA DE-L108D

-Anthogranne P. Courvalin et al, 3^{ème} édition 2012 DE-L174D

-Comité qualité de la société française de microbiologie (QUAMIC) : Recommandations 2014

**FICHE TYPE QUALITATIVE**VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION
(PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE
MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

**FICHE TYPE QUALITATIVE**VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION
(PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE
MEDICALE

REFERENCE : SH FORM 44

INDICE DE REVISION : 00

DATE D'APPLICATION : 15/04/11

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

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

Voir mémoire de DU qualité 2014-2015 rédigé par l'interne du laboratoire entre le 01/11/2014 et le 30/04/2015, Mr Simon LANNIE.

COMPARAISON DE METHODES :

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...):	Ecouvillonnage + système de mesure SIRSCAN Micro (I2A) NS 214HSKM100160.
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou EBMD :	Logiciel SIRWEB Liaison bidirectionnelle avec système central (import + export) + SIRWEB génétomologie
Nombre de mesures :	Version du logiciel ADS pack 00 du 18/09/2014, mise à jour selon les recommandations CASFM 2015 version 1.
Intervalle de comparaison adaptée à l'activité du laboratoire :	NA
Méthode d'exploitation des résultats :	Interprétation S/I/R identique
Equation de la droite de régression :	NA
Diagramme des différences et/ou des rapports :	NA
Conclusions et dispositions ³ :	confirme

INTERVALLE DE MESURE (indispensable en portée B)
(si possible et pertinent, ex : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH) :

Mode de détermination :	
Limite inférieure de linéarité (de quantification)/ Profil de linéarité :	NA
Limite supérieure de linéarité :	

INTERFERENCES

(ex : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) :

Verification bibliographique :	NA
--------------------------------	----

³ Le laboratoire précise les dispositions mises en œuvre (par exemple : utilisation transitoire et documentée d'un facteur de correction).**CONTAMINATION**
(indispensable en portée B et pour les paramètres sensibles en portée A)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, gHCG) :	
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides) :	NA
Verification bibliographique :	
Verification :	

Commentaires éventuels :**Conclusion provisoire sur la validation de la méthode (en attente des retours des EEO) :**

L'analyse bibliographique et l'analyse des risques liés à cette méthode ont permis de mettre en évidence les points critiques et de décrire les moyens mis en place par le laboratoire pour maîtriser ces risques. Le personnel est habilité et formé ; ses compétences sont vérifiées. Le matériel est maîtrisé. La saisie des résultats est tracée. La méthode est encadrée par des contrôles internes et externes.

Les moyens mis en œuvre par le laboratoire permettent donc de garantir une bonne maîtrise de la méthode.

Les études menées par le laboratoire pour la mise à jour du logiciel du SIRSCAN selon le référentiel CASFM 2015 - version 1 ont montré des résultats satisfaisants concernant l'expertise du logiciel et la validation interne, assurant des résultats biologiques de qualité rendus au clinicien.

La méthode est validée pour une utilisation quotidienne dans le secteur de bactériologie du laboratoire.

Marion David

Conclusion définitive : en attente retour EEO

Annexe IV : Résultats obtenus pour la comparaison des deux techniques d'ensemencement (extrait)

(Reproductibilité)

E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	AMX	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	FEP	11	R	R	15000699001	11	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	PIP	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	CF	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	CTX	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	AMC	18	I	I	15000699001	17	I	I	-1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	ATM	7	R	R	15000699001	8	R	R	1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	TZP	20	I	I	15000699001	19	I	I	-1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	FOX	24	S	R par BLSE	15000699001	23	S	R par BLSE	-1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	CAZ	11	R	R	15000699001	11	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	TCC	17	R	R	15000699001	16	R	R	-1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	ERM	29	S	S	15000699001	28	S	S	-1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	CFM	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	CS	17	S	S	15000699001	17	S	S	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	IPM	29	S	S	15000699001	29	S	S	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	FT	22	S	S	15000699001	22	S	S	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	AN	24	S	S	15000699001	24	S	S	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	TM	10	R	R	15000699001	10	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	GM	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	SXT	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	FOS	23	S	S	15000699001	24	S	S	1
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	CIP	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	NOR	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
E. coli BLSE	05/02/15	KARREN	15000699001	NA	6	R	R	15000699001	6	R	R	0
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	TIC	26	S	S	15000509401	26	S	S	0
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	FEP	28	S	S	15000509401	29	S	S	1
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	PIP	30	S	S	15000509401	30	S	S	0
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	TZP	21	S	S	15000509401	25	S	S	4
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	MEM	22	S	S	15000509401	24	S	S	2
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	TCC	25	S	S	15000509401	26	S	S	1
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	CAZ	29	S	S	15000509401	27	S	S	-2
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	IPM	25	S	S	15000509401	24	S	S	-1
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	FOS	32	S	S	15000509401	30	S	S	-2
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	ATM	32	S	S	15000509401	30	S	S	-2
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	SXT	6	R	R	15000509401	6	R	R	0
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	CIP	34	S	S	15000509401	33	S	S	-1
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	GM	20	S	S	15000509401	19	S	S	-1
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	TM	24	S	S	15000509401	24	S	S	0
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	AN	23	S	S	15000509401	22	S	S	-1
P. aeruginosa	27/01/15	KARREN	15000509401	CS	19	NL	NL	15000509401	19	NL	NL	0

(Répétabilité)

S. pneumoniae

	Diamètres (mm)									Moyenne	Ecart-type	CV (%)
PénicillineG	40	S	40	S	40	S	40	S	40	40,0	0,00	0,00
Oxacilline	40	S	40	S	40	S	40	S	40	40,0	0,00	0,00
Amoxicilline	40	S	40	S	40	S	40	S	40	40,0	0,00	0,00
Céfotaxime	40	S	40	S	40	S	40	S	40	40,0	0,00	0,00
Amoxicilline+ac. clav.	40	S	40	S	40	S	40	S	40	40,0	0,00	0,00
Erythromycine	40	S	37	S	35	S	38	S	35	37,0	2,12	5,73
Lincomycine	38	S	35	S	34	S	38	S	34	35,8	2,05	5,72
Pristinamycine	36	S	33	S	32	S	33	S	31	33,0	1,87	5,67
Teicoplanine	31	S	28	S	28	S	30	S	29	29,2	1,30	4,47
Norfloxacine	15	S	14	S	14	S	15	S	14	14,4	0,55	3,80
Ciprofloxacine	26	I	24	I	24	I	25	I	22	24,2	1,48	6,13
Levofloxacine	26	S	24	S	24	S	26	S	23	24,6	1,34	5,45
Vancomycine	35	S	33	S	33	S	35	S	33	33,8	1,10	3,24
Cotrimoxazole	26	S	26	S	26	S	28	S	27	26,6	0,89	3,36
Gentamicine HC	31	BNR	30	BNR	30	BNR	32	BNR	30	30,6	0,89	2,92
Linézolide	38	S	33	S	32	S	36	S	31	34,0	2,92	8,57
Furanes	35	S	34	S	33	S	35	S	35	34,4	0,89	2,60
Tétracycline	28	S	27	S	29	S	29	S	29	28,4	0,89	3,15
Rifampicine	31	S	31	S	31	S	31	S	30	30,8	0,45	1,45

E.coli

	Diamètres (mm)									Moyenne	Ecart-type	CV (%)
Amoxicilline	25	S	25	S	24	S	24	S	23	24,2	0,75	3,09
Céfépime	37	S	37	S	37	S	37	S	36	36,8	0,40	1,09
Pipéracilline	28	S	29	S	28	S	28	S	27	28,0	0,63	2,26
Cefalotine	22	S	21	S	22	S	21	S	22	21,6	0,49	2,27
Céfotaxime	35	S	36	S	37	S	36	S	34	35,6	1,02	2,86
Amoxicilline+ac. clav.	25	S	25	S	26	S	25	S	25	25,2	0,40	1,59
Aztréonam	35	S	36	S	37	S	37	S	35	36,0	0,89	2,48
Pipéracilline+tazobactam	27	S	27	S	28	S	27	S	26	27,0	0,63	2,34
Céfoxitine	29	S	31	S	30	S	31	S	30	30,2	0,75	2,48
Ceftazidime	32	S	33	S	33	S	33	S	31	32,4	0,80	2,47
Ticarcline+ac. clav.	28	S	30	S	30	S	30	S	28	29,2	0,98	3,36
Ertapénème	36	S	38	S	38	S	37	S	36	37,0	0,89	2,42
Céfixime	30	S	30	S	31	S	31	S	29	30,2	0,75	2,48
Colistine	19	S	19	S	19	S	20	S	18	19,0	0,63	3,33
Imipénème	32	S	31	S	32	S	33	S	30	31,6	1,02	3,23
Furanes	24	S	24	S	24	S	25	S	22	23,8	0,98	4,12
Amikacine	25	S	25	S	24	S	25	S	24	24,6	0,49	1,99
Tobramycine	24	S	22	S	23	S	23	S	23	23,0	0,63	2,75
Gentamicine	25	S	25	S	25	S	25	S	25	25,0	0,00	0,00
Cotrimoxazole	28	S	28	S	29	S	28	S	27	28,0	0,63	2,26
Fosfomycine	27	S	26	S	28	S	27	S	25	26,6	1,02	3,83
Ciprofloxacine	37	S	36	S	37	S	37	S	37	36,8	0,40	1,09
Norfloxacine	34	S	34	S	34	S	33	S	33	33,6	0,49	1,46
Ac.nalidixique	29	S	29	S	30	S	29	S	28	29,0	0,63	2,18

Annexe V : Exemple de compte-rendu automate et compte-rendu patient, antibiogrammes réalisés selon les recommandations CASFM 2013 puis 2015

(CASFM 2013)

COMPTÉ RENDU INTERNE LABORATOIRE

HEMATOLOGIE SOINS PROTÉGÉE

Date de naissance : 13/06/13
 N°P : 15001841401
 Date de demande : 27/03/2015
 N°de demande : 15001841401
 Date d'envoi : 25/03/2015
 Etabli le : 07/04/2015

Prélèvement : URINES
 Miction spontanée

Germes : *Staphylococcus epidermidis*

LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE ET DE RADIOANALYSE

Autofortisation n° 760000166

Rouen le, mardi 07 avril 2015

PATIENT : N° 1308613

Sexe : F D.N. : 19/04/1942

LABORATOIRE : Hématologie
 Tél : 02 32 08 22 74
 Fax : 02 32 08 25 90
 labo.bioclin@chc.unicaen.fr
 CHEF DE SERVICE : DOSSIER N° : 150018414
 Dr Christian BASTARD
 Précrit par : Hématologie HEMAB

BIOLOGISTES : Marion DAVID
 Area PERDRIX
 Sylvie DALPIERARD
 Recu le : 28/03/2015 10:27

DESTINATAIRE :
 Hospitalisation Hématologie Secteur Protégé

Antibiotique	Diamètre	CI/II	Res. h24	Res. int.
PEN G	14	R	R	R
KANAMYCINE	6	R	R	R
TORBA	6	R	R	R
GENTA	6	R	R	R
LATAMOXEF	19	R	R	R
ERYTHRO	36	S	S	S
LINCO	38	S	S	S
PRISTINA	39	S	S	S
TECO	22	S	S	S
CIPRO	6	S	S	S
FOFPO	44	S	S	S
TRIM-SULF	6	R	R	R
VANCO	22	S	S	S
CEROXTINE	24	R	R	R
AC-FUSIDIC	37	S	S	S
LINEZOLIDE	33	S	S	S

Antibiotique	Diamètre	CI/II	Res. h24	Res. int.
FUSIANES	28	S	S	S
TETRA	30	S	S	S
BIPAM	49	S	S	S

MICROBIOLOGIE

Examen Cytochimique des Urines (*), Miction spontanée

Leucocytes : 10000
 Hématies : <1000
 Cytocytes granuleux :
 Cistaux :
 Examen direct :
 1 - *Staphylococcus epidermidis*
 2 - *Enterococcus* sp
 3 - *Candida albicans*

Aucun germe n'a été rencontré.

Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé : automate SIRSCAN micro 12a

1.1 *Staphylococcus epidermidis*

Protéine	1.1 : <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Amoxicilline	Résistant
Amoxicilline	Résistant
Clotrimazole	Résistant
Colistine	Résistant
Fidroxime	Résistant
Doxycycline	Résistant
Kanamycine	Résistant
Tétracycline	Résistant
Polymyxine	Sensible
Erythromycine	Sensible
Lincomycine	Sensible
Cloxaciline	Résistant
Clindamycine	Résistant
Furazolidone	Sensible
Furazolidone	Sensible
Vancomycine	Sensible
Kétoconazole	Sensible
Isavuconazole	Sensible
Lincosamine 30	Sensible
Isavuconazole	Sensible

Les tests réalisés (CMI) ont été réalisés sous couvert de la réglementation en vigueur. Vous êtes responsable de votre centre.
 L'interprétation est donnée dans le cadre de la réglementation en vigueur.
 Centre Régional de Lutte contre le Cancer de Haute-Normandie
 Rue d'Ardenne CS 11516 76031 Rouen Cedex 1 - Téléphone : 02 32 08 22 22 - Fax : 02 32 08 22 70
 Etablissement à but non lucratif participant au service public hospitalier

FIN DE COMPTE-RENDU
 Validé par : Dr Marion DAVID, SLAMNE (Internes),
 CENTRE REGIONAL DE LUTTE CONTRE LE CANCER DE HAUTE-NORMANDIE
 Rouen le, mardi 07 avril 2015

COMPTE RENDU INTERNE LABORATOIRE

BIDONBIOCLIN BIOCLIN

Date de naissance : 01/01/1950
N° : 1409428

Date de demande : 02/04/2015
N° de demande : 15001967401

LABO ONCOGENETIQUE
Date d'envoi : 06/12/2014
Etabli le 07/04/2015

Prélèvement : URINES

Miction spontanée

Germe : *Staphylococcus epidermidis*

Antibiotique	Diamètre	CMI	Rés. brut	Rés. int.
PEUR G	6		R	R R1850
KANAMYCINE	6		R	R R1840
TOBRAM	6		R	R R1840
GENTAM	6		R	R R1840
LATAMOXE	16		NL	PS
ERYTHRO	34		S	S
CLINDA 2	33		S	S
DALF-QUINU	33		S	S
NORFLO	6		R	R
CIPRO	6		R	R
RIFAM	44		S	S
TRIM-SULF	6		R	R
FURANES	24		S	S
CEFOXITINE	21		R	R
AC-FUSIDIO	33		S	S
LINEZOLIDE	27		S	S

Antibiotique	Diamètre	CMI	Rés. brut	Rés. int.
VANCO CMI	2	0.125	S	S
TEICO CMI			S	S
NOVOBIOCLIN			NL	

Bêta-lactamines: Phénoxyphénylamine résistant.
Résistance à toutes les Bêta-lactamines.
Aminosides : phénotype KTG
ML.S : phénotype sauvage
Ne pas utiliser la Rifampicine en monothérapie.
Ne pas utiliser l'acide fusidique en monothérapie.

T test de la Ceftriaxone est envisageable selon la structure
Si testée, La Ceftriaxone doit être testée en bandelette CMI
ou en diffusion en milieu gélosé selon la méthode EUCAST
(inoculum boud)
La résistance inducible au Linezolid n'est détectée que si
l'incubation est prolongée à 48h

Valeur des tests :

Méthodologie antibiogramme	CA-SFMEUCAST	Staph & Bactéries	METHIR
Staph : phénotypage ML.S	ML.S sauvage	Staph : Test Mst+Teico	Non réalisé

Règles de déclenchement :

74	186	187	194	205	211	235	242	243	245	246	249	253	611	714	715	848	851	928
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Alarmes déclenchées :
202 216

Page 1

LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE ET DE RADIOANALYSE

Autorisation n° 760000166

Rouen le, mardi 07 avril 2015

Page 1 de 1

PATIENT : N° 1409428
BIOCLIN BIDONBIOCLIN
Mme BIDON
Sexe : F D.N. : 01/01/1950

TEL : 02 32 08 22 74
Fax : 02 32 08 25 90
labo.bidon@phb.unicaen.fr
CHIEF DE SERVICE
Dr Christian BASTARD
BIOLOGISTES
Mélina DAVID
Anne PERDRIX
Sylvie DALPHARD

DOSSIER N° : 150019674
Prélevé le : 02/04/2015 14:46
par : RENAULT Kéline
Reçu le : 02/04/2015 14:45

DESTINATAIRE :
LABORATOIRE BIO et CYTOGENETIQUE
CENTRE HENRI BECOUEREL

MICROBIOLOGIE

Examen Cyto bactériologique des Urines (*), Miction spontanée

1 - *Staphylococcus epidermidis*

déclenché 15001941401

1.1 *Staphylococcus epidermidis*

Pathogène O	Antibiogramme
Coliformes	Résistant
Enterococcus	Résistant
Staphylococcus	Résistant
Streptococcus	Résistant
Enterobacteriaceae	Résistant
Chlamydiae	Sensible
Chlamydia	Sensible
Herpesvirus	Résistant
Cytomegalovirus	Résistant
Cardiomyxozoa	Résistant
Microsporidies	Résistant
Acido lactiques	Sensible
Haemophilus	Sensible
Lactobacilles	Sensible
Yersinia	Sensible
Vibrionaceae	Sensible
Vibrionaceae	Sensible
Vibrionaceae	Sensible

Les tests effectués en Lm (*) sont réalisés sous contrat.
Offre d'accreditation COFRAC n° 5-1460, Santé Humaine, l'analyse disponible sur www.cofrac.fr
L'accreditation est soumise aux conditions de l'annuaire.
CENTRE REGIONAL DE LUTTE CONTRE LE CANCER DE HAUTE-NORMANDIE
Rue d'Amiens CS 11518 60203 Rouen Cedex 1 - Téléphone : 02 32 08 22 22 - Fax : 02 32 08 22 20
Etablissement à but non lucratif participant au service public hospitalier



Annexe VI : Procédure « mode opératoire » antibiogramme (MO LBM 009), incluant les panels d'antibiogrammes et la gestion des CIQ (extrait)

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opératoire	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI-BIOGRAMMES

EMETTEUR : LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Annexé(s) :

6.1.4. Cocci GRAM NEGATIF

- si aspect coco-bacillaire : galerie Api 20 NE, une nuit à 30°C (2 nuits si week-end)
- si aspect en diplocoques : galerie Api NH

6.1.5. Cultures mycologiques après 2 nuits à 35°C

- 6.1.5.1. Champignons levuriformes
- Sur milieu chromogène pour candida :

Colonne verte : *Candida albicans*
 Pour l'identification des autres candida, se référer au DE-L1169 A.
 Sinon faire Fungidichrom I selon les indications du fabricant ;

- Si Fungidichrom code pour *Cryptococcus neoformans* : envoi au CHU pour confirmation.

6.1.5.2. Champignons filamenteux : examen à l'état frais

- si lètes aspergillaires : *Aspergillus* sp. (à différencier entre les diverses espèces par morphologie et coloration des colonies : *Aspergillus fumigatus*, *flavus*, *niger*, *terreus*, etc. ...) : Conserver les boîtes jusqu'à 15 jours à 30°C pour identification.
- si autres morphologies, rechercher les formes typiques pour les genres *Penicillium*, et responsables de muco-mycoses.

6.1.6. Identification des bactéries anaérobies

Sur des Bacilles ou des Cocci s'étant développés sur gélose au sang anaérobie (sous sachet Genbag anaer) :

- Replanter 2 gélouses au sang anaérobies dans les mêmes conditions afin d'ensemencer un système Rapd-anaer.
- Si le résultat n'est pas satisfaisant, ensemercer une galerie Api anaérobie (de type Api 20A).

6.1.7. Germes à déclaration obligatoire

Les germes à déclaration obligatoire (notamment *Salmonella* invasives, *Shigella*, *Yersinia*, *Listeria*, *Pasteurella*, *Legionella*) sont adressés au Centre de Référence (cf REMIC) avec la souche, son type antigénique si possible et les éléments cliniques requis par la fiche de déclaration. L'envoi est tracé sur la demande d'origine accompagnée du double de la déclaration.

6.2. Antibiogrammes

Les antibiotiques testés (cf IM-LBM184) pour chaque type de germe sont choisis en raison de leur activité possible, de leur disponibilité à la pharmacie de l'établissement et des schémas thérapeutiques de première intention retenus par le Comité du Médicament ainsi que dans le but de mettre en évidence les principaux phénotypes de résistance détectés par le SIRSCAN/MICRO expert

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 7/14

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opératoire	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI-BIOGRAMMES

EMETTEUR : LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Annexé(s) :

Un ATB n'est refait, pour un même germe présent chez un même patient, qu'au bout de 10 jours par rapport à la dernière date de reprise de l'antibiogramme (interloger GILMS « arlagnee »).

Les disques d'antibiotiques : la gestion des lots de disques est réalisée sur un fichier Excel. Ordinateur « Bacterio » : Pharma sur NetchUser\usr\Groups (G-); dossier CQ Bacterio, fichier AntibioGramme.xls.

Dans chaque distributeur une fiche indiquant le lot de fabrication est mise à jour si nécessaire lors des changements de cartouches.

Les « Certificats BioRad », résultats des contrôles qualité pratiqués par le fabricant sur chaque lot de disques, sont consultables sur le site : Bio-Rad.com/certificat (jusqu'à la date de péremption des disques)

Les antibiogrammes sont réalisés en utilisant :

- des ampoules de solution saline, adaptées à l'utilisation du Densimat

Cas particuliers :

1) Afin d'accélérer l'obtention du résultat (vital pour le patient), un antibiogramme peut être tenté directement à partir du faon hémoculture positif.

2) Certaines souches posent des problèmes de redémarrage dans ces conditions (Staphylocoque en particulier), il peut être plus efficace d'ensemencer les gélouses pour antibiogramme à l'aide d'un écouvillon chargé du milieu d'hémoculture, passé sur la totalité de la surface des boîtes en le rechangeant plusieurs fois.

Dans ces conditions (1) et (2), le résultat ne peut être pris en considération que si la densité de colonies obtenues sur les milieux utilisés est conforme aux recommandations (colonies denses mais non entièrement confluentes, selon les recommandations des « actualités permanentes en bactériologie clinique » et du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie)

6.2.1. Antibiogrammes Bacilles GRAM NEGATIF (entérobactéries et Pseudomonas)

- Préparation de l'inoculum

Réaliser une suspension bactérienne directement à partir des colonies en solution saline pour atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland (a contrôler sur le Densimat). Mettre en suspension en milieu salé quelques colonies avec une ose stérile.

- Inoculation de 2 gélouses de Muller-Hinton: une ronde et une carrée.

L'inoculum doit être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans 3 directions.

- Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique

Marion DAVID

04/06/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 8/14

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opérateur	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI BIOGRAMMES

EMETTEUR : Laboratoire de Biologie Clinique Amène(s) :

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opérateur	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI BIOGRAMMES

EMETTEUR : Laboratoire de Biologie Clinique Amène(s) :

Déposer les disques d'antibiotique ,avec le distributeur automatique BioRad adapté.

- **Incubation des boîtes**
Retourner les boîtes et dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques les incuber dans l'étuve à 35 ± 2 °C pendant 16-24h

• **Lecture des boîtes**

Lire à l'aide du système SirsScan Expert. Si l'incubation est > à 1 nuit, le biologiste ou l'interne doit juger de la valeur du résultat, lors de la validation biologique, selon le phénotype de résistance probable du germe testé. En cas de doute, l'antibiogramme est renouvelé.

- Vérifier la présence éventuelle de Béta lactamase à Spectre Étendu, BLSE (mise en évidence d'une synergie entre 1 ou plusieurs céphalosporine(s) de 3^{ème} génération et le disque d'Amoxicilline + Acide Clavulanique par une image typique en bouchon de champagne).

• Si la mise en évidence d'une BLSE est impossible en raison d'une résistance importante ou contacte à l'amoxicilline-Acide Clavulanique et à certaines céphalosporines de 3^{ème} génération, ensemercer une boîte de Muller-Hinton + cloxacilline afin de tester dans ces conditions les céphalosporines de 3^{ème} génération et un disque imprégné d'acide clavulanique (la cloxacilline inhibe les céphalosporinases et fait réapparaitre les images en bouchon de champagne).

- Une autre solution consiste à rapprocher les disques d'antibiotiques intéressés (1,5 cm environ de bord à bord)

• S'il s'agit de vérifier la persistance ou la disparition d'une BLSE connue ou d'en faire le dépistage, ensemercer un milieu spécifique chromogène directement à partir du prélèvement ou à partir d'un milieu d'isolement. Interprétation voir DE-L-153 A

• En cas de suspicion de carbapénémase (diamètre d'inhibition diminué pour au moins un carbapénème, ou présence de colonies dans le diamètre d'inhibition d'un ou de carbapénème(s), habituellement résistance aux C3G) : envoyer au CHU pour tests de confirmation.

- En cas de multi-résistance et/ou sur demande du service concernée avec le biologiste : possibilité de pratiquer un E-test ceftazidime, colistine, et/ou piperacilline/azobactam, (principalement les cas suivants :

- E-test piperacilline/azobactam en cas d'infection à entérobactérie BLSE, hors urine
- E-test colistine pour Pseudomonas et entérobactéries multi-résistants
- E-test ceftazidime pour bacilles Gram négatifs non fermentants et entérobactéries BLSE)
- E-test amoxicilline et céfotaxime pour strepto groupable et non groupable/pneumo

Mode opératoire du E-test:

- utiliser une suspension semblable à celle de l'antibiogramme classique.
- Plonger un écouvillon stérile et éliminer le surplus en l'appuyant contre la paroi du tube.
- Écouvillonner doucement toute la surface d'une gélose Muller-Hinton (boîte ronde) dans 3 directions afin d'obtenir un ensemençement homogène.

Marion DAVID

04/06/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 8/14

- Appliquer les bandelettes d'E-test à l'aide d'une pince, l'échelle de CMI tournée vers soi, en un seul geste.
- Incuber 1 nuit à 35°C.
- Lire la CMI de l'antibiotique au point d'intersection de l'ellipse d'inhibition et de la bandelette.
- Entrer le résultat sur SirsScan. Valider.

Renseigner SirsScan (synergies), valider sur SirsScan et vérifier la transmission sur GLIMS. Confirmer.

6.2.2. Antibiotogrammes Bacilles et Cocci GRAM POSITIF AEROTOLERANTS (Staphylocoques, Streptocoques,Enterocoques)

6.2.2.1 Réalisation des Antibiotogrammes de staphylocoques et d'enterocoques

Préparation de l'inoculum

Réaliser une suspension bactérienne directement à partir des colonies en solution salée pour attendre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland (à contrôler sur le Densimat). Mettre en suspension en milieu salé quelques colonies avec une ose stérile.

Inoculation de 2 géloses de Muller-Hinton

L'inoculum doit être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans 3 directions.

Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique

Déposer les disques d'antibiotiques, avec le distributeur automatique BioRad adapté.

Incubation des boîtes

Retourner les boîtes et dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques les incuber dans l'étuve à 35°C pendant une nuit.

Lecture des boîtes

Incuber une nuit à 35°C puis lire à l'aide du système SirsScan Expert. Si l'incubation est > à 1 nuit, les mêmes règles que pour les bacilles à gram négatif s'appliquent.

6.2.2.2 Particularités concernant les Staphylocoques :

- Si un Staphylocoque montre un diamètre d'inhibition autour du disque de pénicilline strictement inférieur à 26 mm : souche résistante à la pénicilline. Si diamètre supérieur ou égal à 26 mm et

Marion DAVID

04/06/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 10/14

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opérateur	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI BIOGRAMMES

EMETTEUR : LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Annexé(s) :

bordure nette : souche résistante. Si diamètre supérieur ou égal à 26 mm et bordure floue : souche sensible.

• Si un Staphylocoque montre un diamètre d'inhibition <26mm autour du disque de céfoxiline, il est réputé résistant aux isoxazoly-pénicillines et doit être répondu «*net R_s*».

• CMI glycopeptides systématique.

6.2.2.3 Pour les pneumocoques et streptocoques

- la réalisation des antibiogrammes se fait de la même façon que pour les entérocoques sauf que nous utilisons des géloses Muller-Hinton F.
- Incuber une nuit à 35°C en atmosphère CO₂. Si l'incubation est > à 1 nuit, les mêmes règles que pour les bacilles à gram négatif s'appliquent.
- Lire à l'aide du système Sirscaan Expert en se référant au MO-LBM028.

6.2.3. Antibiogramme *Cocci gram négatif et Haemophilus*

Utiliser le système Api ATB NH. Transcrire les résultats sur le système Sirscaan Expert.
Transmettre les souches identifiées *Neisseria gonorrhoeae* au CHU pour réalisation de l'antibiogramme.

6.2.4. Antibiogramme *anaérobie*

Utiliser le système Api ATB Anaë. Transcrire les résultats sur le système Sirscaan Expert

6.2.5. Antifongogramme

Utiliser le système Fungifast AFG (Eitech France SA). Demande sur GLIMS : MY2. Préparer et ajuster l'inoculum à 2 Mc Farland selon les spécifications de la notice. Transcrire les résultats sur le système Sirscaan Expert.

Il est inutile de pratiquer un antifongogramme sur les souches de *Candida albicans*, sauf si la souche est isolée à partir d'une hémoculture ou d'une infection profonde.

Pour les hémocultures et infections profondes : envoi de la souche pour CMI antifongiques au CHU : sur demande pour *Candida albicans*, systématiquement pour les autres espèces.

6.3. Contrôle Qualité

Principe :

Le contrôle réalisé est triple :

- Contrôle de l'ATB
- **Contrôle de positivité sur BACTEC**

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 11/14

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opérateur	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI BIOGRAMMES

EMETTEUR : LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Annexé(s) :

- Contrôle des identifications

Huit souches sont testées, par roulement, une fois par semaine (imprimé IM-L-163F). Elles sont ensemencées sur gélose au sang. En cas de non revivification, la souche concernée est à nouveau testée la semaine suivante à partir d'un nouveau «*culti-loop* », en plus de la souche normalement prévue. Deux flacons d'hémocultures (aérobie et anaérobie) sont ensemencés par 1ml de la dilution finale des antibiogrammes et occupent, sur le BACTEC, les positions aléatoires proposées, par la machine. Le temps de positivité de la souche est transcrit sur MEDLAB, puis rangées dans le classeur CIO Baclic.

Les souches utilisées sont les Culti loop Oxoid ou CIP Pasteur

- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Klebsiella pneumoniae* BAA 1705
- *Haemophilus influenzae* NCTC 8468
- *Campylobacter jejuni* ATCC 33560

6.3.1. Contrôle interne de qualité des ATB

Les contrôles de qualité sont enregistrés dans GLIMS selon le MO-LBM038.

Un CIO ATB est à prévoir en cas de panne ou changement de logiciel SIRSCAN Micro

Réalisation : sortir le Culti-loop à traiter. Le réhydrater ; Ensemencer une gélose au sang et la placer 24 h à l'étuve.

Le lendemain, ensemencer, les galeries, les flacons hémocultures et l'antibiogramme correspondant.

Les résultats sont édités, validés par le biologiste par rapport au DD-LBM072, et conservés dans le classeur spécifique pour contrôle qualité interne.

La souche *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 sert à tester le coffret antibiogramme pour les pneumocoques, incluant la détermination des CMI.

La souche *Haemophilus influenzae* ATCC 33560 sert à tester galerie api NH et ATB haemo

Cas particulier des souches multirésistantes :

Une souche de bactérie multi résistante (SAMR, SEMR ou BLSE) issue de la collection du laboratoire est testée environ 8 fois/an, soit à une fréquence proche de 6 semaines. C'est un contrôle de vraisemblance du fait de l'instabilité potentielle des souches utilisées, qui permet néanmoins de tester la qualité des milieux et des conditions de conservation des souches, les milieux chromogènes qui caractérisent ces espèces bactériennes, la reproductibilité du processus complet d'identification et de réalisation de l'antibiogramme en fonction de la technicienne en poste. Les résultats sont édités, avec mention du résultat attendu et du résultat obtenu. En cas de discordance, le biologiste référent en microbiologie prend les mesures nécessaires (analyse des résultats, interprétation, et éventuellement

Nation DAVID

04/08/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 12/14

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opérateur	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI BIOGRAMMES

EMETTEUR : LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Annexé(s) :

fiche de non-conformité). Les résultats sont conservés dans le classeur spécifique pour contrôle qualité interne.

6.3.2. Contrôle interne de qualité des galeries d'identification

En plus des garanties de fabrication apportées par les fabricants (certification, contrôle qualité), le laboratoire a jugé nécessaire de pratiquer un contrôle de qualité interne sur les galeries d'identification les plus fréquemment utilisées :

Pour les galeries 20 E tester avec les souches *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* BAA 1705

Pour les galeries 20NE tester avec la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pour les galeries API 20 Staph tester avec la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Pour les galeries API 20 STREP avec la souche *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

Pour les api NH avec la souche *Haemophilus influenzae* NCTC 8468

Pour les Fungichrom et Antifongigrammes tester avec la souche *Candida albicans* ATCC 10231

6.3.3. Contrôle externe de qualité

Le laboratoire participe :

- au Contrôle National obligatoire : habituellement biannuel, il consiste le plus souvent en l'identification de deux souches lyophilisées ; les résultats sont transmis par courrier, tout comme le retour de l'ANSM,
- au CEO organisé par le Centre Toulousain de Contrôle en Biologie : il s'agit d'un contrôle trimestriel portant sur deux germes qui font l'objet d'une identification et de la réalisation d'un antibiogramme (antibiologiques précisés). Les résultats sont transmis au CTCB par Internet (www.ctcb.com) ; ils donnent accès aux résultats attendus, en attendant le résultat définitif. Celui-ci se compose d'un document détaillé, transmis ultérieurement par courrier.

On réalise pour tous les contrôles externes un repiquage sur milieu de conservation des souches dès le J1, de manière à pouvoir reprendre l'identification en cas de résultat non conforme. Les milieux sont conservés entre 2 et 8°C.

Les documents renvoyés par les organisateurs avec les résultats enregistrés et interprétés sont visés par le biologiste, commentés et les actions correctives éventuellement nécessaires y sont mentionnées. Les techniciens intervenant en microbiologie en prennent connaissance et y apposent leur paraphe.

Ces documents sont ensuite classés dans les classeurs qualité CEO Toulouse CTCB ou National ANSM

Mation DAVID

04/08/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 13/14

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Date d'application	Date limite de validité
Mode Opérateur	002	MO-LBM 009	03	05/06/2015	05/06/2017

IDENTIFICATION BACTERIENNE ET ANTI BIOGRAMMES

EMETTEUR : LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Annexé(s) :

7. ANNEXE(S)

NEANT

Mation DAVID

04/08/2015

Applicable immédiatement

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 14/14

Antibiogramme des bacilles à gram négatif

Boîte carrée				Boîte ronde			
AMP	FEP	TIC	CXN				
10	30	75	30				
COX	AMC	ATM	PTZ	TMN	GMN	SXT	FOS
5	30	30	36	10	10	25	200
FOX	CZD	TCC	ETP	+ CIP	NXN	NAL	AKN
30	10	85	10	5	10	30	30
FLX	CST	IPM	NFE				
5	50	10	100				

TEM 30, TCC 15 sont testés à la demande

Antibiogramme des bacillères du genre Pseudomonas

TIC	FEP	PIL	PTZ
75	30	30	36
MEM	TCC	CZD	IPM
10	85	10	10
CIP	ATM	SXT	LVX
5	30	25	5
GMN	TMN	AKN	CST
10	10	30	50

Antibiogramme des bacillères du genre Acinetobacter

TIC	FEP	PIR	TZP
75	30	100	110
CTX	TCC	CAZ	IPM
30	85	30	10
CIP	ATM	SXT	LVX
5	30	25	5
GMN	TMN	AKN	CST
10	10	30	50

Antibiogramme des bacillères du genre Streptophomorus

TIC	FEP	PIL	PTZ				
75	30	30	36				
MNO	TCC	CZD	IPM				
30	85	10	10				
CIP	ATM	SXT	LVX				
5	30	25	5				
GMN	TMN	AKN	CST				
10	10	30	50				

Antibiogramme des bacillères du genre Staphylococcus

PNG	KMN	TMN	GMN				
1	30	10	10				
MOX	ERY	CMN	QDF				
30	15	2	15				
NXN	CIP	RIF	SXT				
10	5	5	25				
NFE	FOX	FAD	LN				
100	30	10	10				

+ Boîte ronde
CMI => VAN/TEC
+ un disque de novobiocine pour les STCM sur urine

Antibiogramme des bacillères du genre Enterococcus

PNG	OXC	API	COX				
1	1	2	5				
AMC	ERY	CMN	PTN				
30	15	2	15				
TEC	NXN	CIP	LVX				
30	10	5	5				
VNC	SXT	GME	LN				
5	25	30	10				

Boîte ronde
+ RIF 5, NFE 100, TET 30, mupirocine 10, novobiocine 5, furazolidone 50

Antibiogramme des bacillères du genre Streptococcus non groupable

PNG	OXC	API	COX				
1	1	2	5				
AMC	ERY	CMN	PTN				
30	15	2	15				
TEC	NXN	CIP	LVX				
30	10	5	5				
VNC	SXT	GEN	LZD				
5	25	500	30				

Boîte ronde
+ RAM 30, NFE 100, TET 30

Antibiogramme des bacillères du genre Streptococcus groupable et Streptococcus pneumoniae

PNG	OXC	API	COX				
1	1	2	5				
AMC	ERY	CMN	PTN				
30	15	2	15				
TEC	NXN	CIP	LVX				
30	10	5	5				
VNC	SXT	GEN	LN				
5	25	500	10				

Boîte ronde
+ RIF 5, NFE 100, TET 30

Antibiogramme des bacillères du genre Campylobacter

AMP	GMN	TET
10	10	30
CIP	ERY	AMC
5	15	30

Annexe VII : Dossier de vérification du système d'information (extrait)

 CENTRE HENRI BECQUEREL LABORATOIRE DE BIOPATHOLOGIE		Type Imprime		Réf. Modèle 004	Réf. Documentaire IM-LAB 059	Version 02	Appliqué(e) le 01/10/2012
IMPRIME LIBRE							
EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE							

OBJET : Dossier de validation du changement du logiciel d'interprétation du SIRSCAN et modification /création de panels d'anthiogrammes 01.04.2015

Preamble :

L'automate Sirscan, actuellement utilisé pour répondre les anthiogrammes, a été mis en production au laboratoire de Biologie le 04 décembre 2014 par la société IZA.

L'automate a été mis en place avec le logiciel d'interprétation des anthiogrammes ADS.00 en décembre 2014 et se voit venir d'une nouvelle version permettant de répondre à la norme SFM/EUCAST2015.

La mise en production de cette nouvelle version du logiciel est prévue le 1^{er} avril 2015.

Le dossier de validation / corrélation des nouveaux panels anthiogrammes a été géré par Marion David, Biologiste, Simon Lanne, interne au laboratoire, et Karine Renaud, référente bactériologie.

Afin de conserver l'antériorité et la traçabilité des anciens panels, il nécessite la création de nouveaux panels, anthiobiologiques ayant modifié leur code d'appel suite à l'ajout des concentrations et modèles de compte-rendu sur notre SGL Glims (version PDP).

Le paramétrage sur glims s'est effectué en amont par Isabelle VAN HULLE référente informatique du laboratoire de Biologie Clinique du 16 au 20 mars 2015 tant sur la base de test glims, afin d'effectuer les tests de connexion et transmission en amont, que sur la base de production V8.10.

Le paramétrage du SIRSCAN a été réalisé par Monsieur Lafrech d'IZA le 31 mars et 1^{er} avril 2015 sur site.

La mise en production du nouveau logiciel a donc été validée le 1^{er} avril 2015 par Marion David, Biologiste responsable du secteur microbiologie, conjointement avec Emilie Bruneau, RAQ & Technicienne Principale du laboratoire et Isabelle VAN HULLE, référente informatique.

SIRSCAN

Un dossier de validation technique (répétabilité et corrélations) ja été validé en amont par Marion David, Simon Lanne, Interne et Karine Renaud, technicienne référente.


Glims

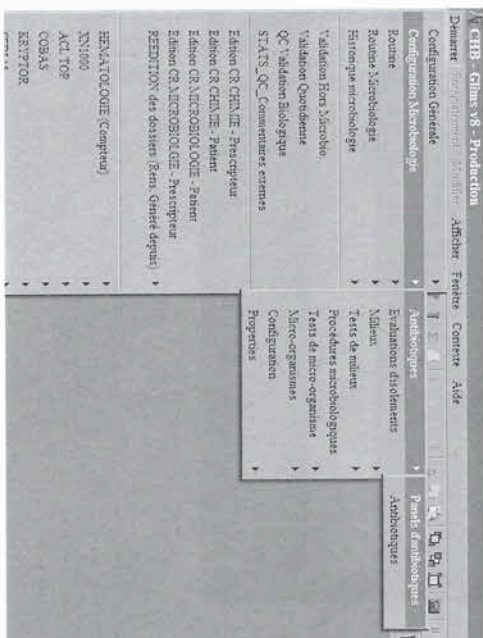
Détail et descriptif du paramétrage effectué en base de production sur glims V8.10:

Le fournisseur des réactifs BIORAD a mis à jour sa liste d'anthiobiologiques avec les mnémoniques spécifiques à leur concentration/dosage.

Création de ce fait de nouveaux ATB afin de corrélater avec le libellé du fournisseur.
Mise à jour de la concentration sur les ATB déjà existants et pour lesquels aucun changement notable n'a été apporté.

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 128

 CENTRE HENRI BECQUEREL LABORATOIRE DE BIOPATHOLOGIE		Type Imprime		Réf. Modèle 004	Réf. Documentaire IM-LAB 059	Version 02	Appliqué(e) le 01/10/2012
IMPRIME LIBRE							
EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE							



Panel utilisés antérieurement et remplacés à compter du 31.03.2015

Nom	Type de formule
B2	Agar
PVO	Agar
STAD	Agar
STRBP	Agar
STRPTO2	Agar

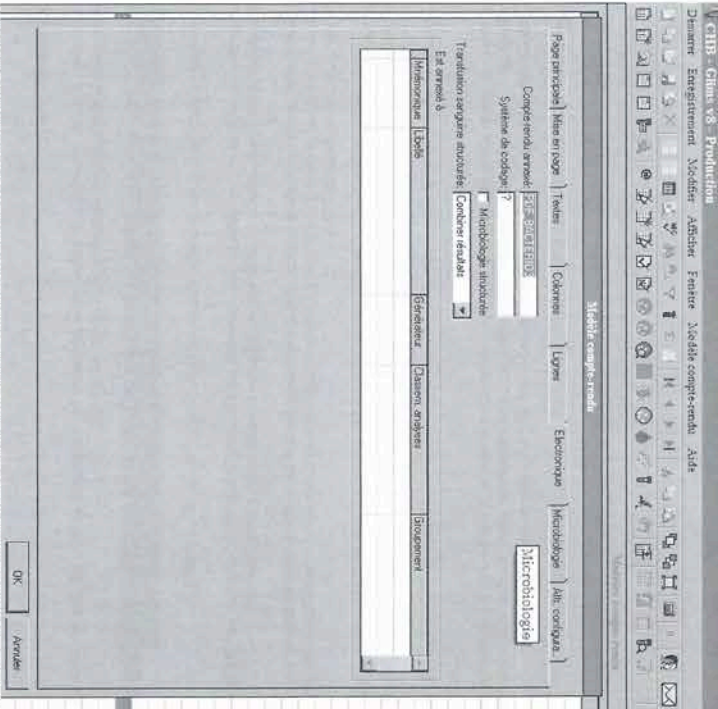
Désactivés à compter du 1^{er} avril

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 238

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Applicatif(s) le
Imprime	004	IM-LAB 059	02	01/10/2012

IMPRIME LIBRE

EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE



Le modèle HPRIM+BIOCLIN3 est associé/annexé au modèle de CR_PDE_BACTERIO3, nouvellement crée également mais à l'identique de l'ancienne version.

Pas de changement des Layouts : pas de modification sur le « dur » du compte rendu : pas de nécessité de changement de version du Layout-Report pour le compte rendu de microbiologie.

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 26/38

Type	Réf. Modèle	Réf. Documentaire	Version	Applicatif(s) le
Imprime	004	IM-LAB 059	02	01/10/2012

IMPRIME LIBRE

EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE

Le changement de version du logiciel d'interprétation s'est déroulé le 31 mars 2015 en début d'après midi : avant ce changement, test de connexion des nouveaux panels sur 2 dossiers = transmission des nouveaux panels avec les nouveaux mnémoniques concluants, validés par Marlon David.

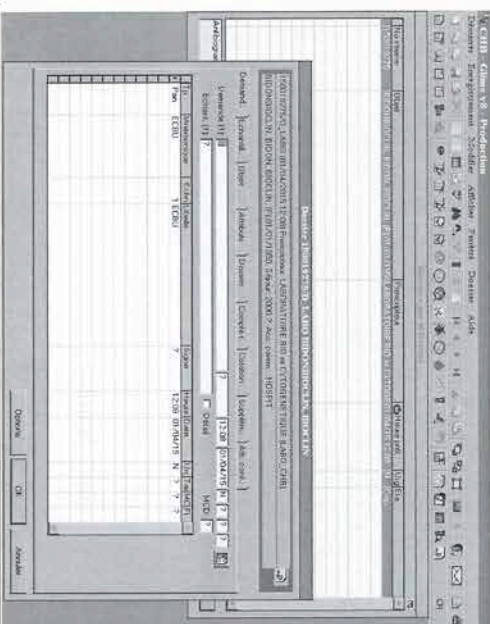
De ce fait, nous validons l'import de la nouvelle version du logiciel d'interprétation : nouveaux dossiers émis sur patient « BIDON » patient test.

Correction le 1^{er} avril matin des erreurs constatées lors de la migration par IVH et MIPS (ticket sur le support crée le 31 mars).


Validation le 1^{er} avril 2015 par Marlon David de la transmission bidirectionnelle et de l'ATB rendu par le SIR et envoyé à Ghins
Plusieurs dossiers tests BIDON sont de nouveaux effectués :

Dossiers tests BIDON effectués par Marlon DAVID le 01_04_2015

- 150019275
- 150019286
- 150019327
- 150019351
- 150019356
- 150019357
- 150019358
- 150019369
- 150019208 - 1^{er} essais
- 150019206



Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 27/38

 Centre Hospitalier de Valenciennes RECOUREL <small>LABORATOIRE DE BIOPATHOLOGIE</small>		EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE		
Type	Ref. Modèle	Ref. Documentaire	Version	Applicatif(e) le
Imprime	004	IM-LAB 059	02	01/10/2012
IMPRIME LIBRE				

Examen Cytopathologique des Urines (*) - Mécon spontané

Leucocytes 10000 / ml
 Hématies 10200 / ml
 Cytologie granuleuse Anormale
 Cytosur granuleuses Rare


1 - Sporotrichosia urinal
 2 - Sporotrichosia urinal (M)

Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé : automne SIRSCAN micro 2a

1.1 - Sporotrichosia urinal (M)
 1.2 - Sporotrichosia urinal (M)

Antibiotique	1.1 - Sporotrichosia urinal (M)	1.2 - Sporotrichosia urinal (M)
Amoxicilline	Sensible	Résistant
Clarithromycine	Sensible	Résistant
Clavulanate	Sensible	Résistant
Colistine	Sensible	Résistant
Fluconazole	Sensible	Résistant
Fluorouracile	Sensible	Résistant
Gentamicine	Sensible	Résistant
Griséofulvine	Sensible	Résistant
Hydrocortisone	Sensible	Résistant
Imidazole	Sensible	Résistant
Imipenem	Sensible	Résistant
Isotriaenolone	Sensible	Résistant
Levofloxacine	Sensible	Résistant
Métronidazole	Sensible	Résistant
Nystatine	Sensible	Résistant
Ofloxacine	Sensible	Résistant
Oseltamivir	Sensible	Résistant
Triméthoprim	Sensible	Résistant
Vancomycine	Sensible	Résistant
Vinorelbine	Sensible	Résistant

Valable par : Dr Marlon DAVID



Conclusion :


VALIDATION DE LA CONNEXION BI DIRECTIONNELLE GLIMS – SIRSCAN – GLIMS – CROSSWAY

VALIDATION du changement de version du logiciel du SIRSCAN LE 01.04.2015

Validation par :

- 10 dossiers test « BIDON » répondus et validés par Marlon DAVID, Biologiste responsable du secteur microbiologie.
- Validation de la transmission des demandes, étiquettes
- Validation de la transmission des nouveaux mnémoniques et nouveaux panes d'ATB, des micro-organismes vers l'automate SIRSCAN
- Validation des résultats répondus par SIRSCAN et validation de la corrélation vers glims.
- Validation des résultats des germes répondus sur CROSSWAY ainsi que le compte rendu Pdf avec antibiogramme.

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 37/38

 Centre Hospitalier de Valenciennes RECOUREL <small>LABORATOIRE DE BIOPATHOLOGIE</small>		EMETTEUR : DEPARTEMENT DE BIOPATHOLOGIE		
Type	Ref. Modèle	Ref. Documentaire	Version	Applicatif(e) le
Imprime	004	IM-LAB 059	02	01/10/2012
IMPRIME LIBRE				

Le nouveau modèle de compte -rendu du SGL sera mis en place ultérieurement en raison des mises à jour d'accréditation dans les semaines à venir. (une aide de la DSJ quant à la mise en place de ces nouveaux modèles de CR est attendue car le MISPL associé pour crossway est de leur ressort).
 Pas de modification de la tarification.

Au total : Mise en production le 1^{er} avril 2015 de l'automate d'antibiogramme et d'expertise microbiologique SIRSCAN délivré par 12a, conforme à la norme SFM EUCAST 2015.

Marlon DAVID, Biologiste responsable microbiologie Laboratoire de Biologie Clinique
 Le 01.04.2015
 Signature :

Karhe RENAULT, technicienne référente secteur microbiologie, Laboratoire de Biologie Clinique
 Le 01.04.2015
 Signature :

Isabelle VAN HULLE, Référente Informatique Laboratoire de Biologie Clinique
 Le 01.04.2015
 Signature :

Annexe 1 : dossiers des demandes d'examen

Seule la version électronique de ce document est valide. Son impression engage votre seule responsabilité. Page 38/39

Résumé

Le laboratoire de biologie médicale du Centre de Lutte Contre le Cancer Henri Becquerel a obtenu sa première accréditation en 2003 et est accrédité pour l'antibiogramme depuis 2008.

Le domaine de la microbiologie est particulier du fait de la nature vivante de l'analyte il est donc nécessaire de s'adapter à cette contrainte afin de réaliser une approche qualité la plus fiable possible. Le QUAMIC et le REMIC demeurent parmi les seuls référentiels pouvant guider le laboratoire de microbiologie dans cette démarche.

Le CASFM-EUCAST a émis en janvier 2015 des recommandations quant à la réalisation et l'interprétation des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé, représentant des changements majeurs pour les laboratoires utilisant cette technique (milieux gélosés, ensemencement, disques d'antibiotiques, panel, etc.). Pour mettre en application ces recommandations le laboratoire s'est appuyé sur une gestion de la portée flexible permettant de respecter les exigences auxquelles il est soumis.

En élaborant un projet suivant la roue de Deming, une formation du personnel concerné et différentes vérifications de méthodes (automate de lecture des antibiogrammes Sirscan ®, ensemencement des antibiogrammes, système d'information, système expert du Sirscan ®) ont été entreprises.

L'exploitation des résultats a permis de mettre en avant quelques non conformités ou problèmes concernant par exemple l'ensemencement, l'informatique ou les règles d'expertise et d'interprétation. Une réponse efficace a due être apportée, et pour une bonne application au sein du laboratoire du projet élaboré, de nombreux ajustements ont été nécessaires. Parmi ceux-ci ont été corrigés des procédures touchant différents domaines (CIQ, fournisseurs de consommables, mode opératoire, etc.), le système expert et le système d'information.

Une analyse des risques a été nécessaire pour maîtriser au mieux les différentes étapes de la démarche. Enfin, la traçabilité a été effectuée tout au long de la réalisation du processus via, entre autre, la constitution d'un dossier de vérification du système d'information.