

Université Pierre et Marie Curie

Sorbonne Universités

MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME UNIVERSITAIRE

« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE

DE BIOLOGIE MEDICALE »

**Maîtrise des risques dans la recherche de Clonalité lymphoïde au
laboratoire d'hématologie de Saint Louis**

Dalleu Rachel

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 ».

AUTEUR

Rachel DALLEU

Référente qualité du laboratoire d'hématologie

Hôpital Saint Louis

GHU SLS/LRB/FW Saint-Louis, Lariboisière, Fernand-Widal

1 rue Claude-Vellefaux 75475 Paris Cedex 10

Tél : 01 42 49 99 49 - Fax : 01 42 38 53 69

rachel.dalleu@aphp.fr



Remerciements

Je tiens à remercier en particulier toute l'équipe du secteur de biologie moléculaire du laboratoire d'hématologie de l'hôpital Saint Louis de m'avoir permis d'évoluer et soutenue dans ma nouvelle fonction de référente qualité.

Je remercie également :

-Dr Jean-Michel CAYUELA, pour son enseignement et son aide au quotidien.

-Nelly DE ANGELIS, Dzemail ALILI, Laurent LEROY ainsi que Pr François SIMON et Elisabeth FAURE, chef et cadre du pôle B2P de m'avoir encouragé et cru en moi.

-Carole MAUTE pour son aide précieuse et sa pédagogie à toute épreuve.

-Daniela GEROMIN et Christine GLOSEK pour leur soutien psychologique.

-Nathalie SCHNEPF et Nathalie TIERTANT « mes RAQ favorites », qui m'aident à porter mes projets et ceux du LBM à s'approcher de jour en jour « des 100% » !!!

Merci également à toutes les personnes qui m'aident au quotidien et à toute la cellule qualité du GHU SLS/LRB/FW, vous avez tous contribué à ce que je trouve une voie qui me passionne.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	7
1. PRESENTATION	8
1.1. Le Groupe hospitalier Universitaire Saint Louis/Lariboisière/Fernand Widal (GHU SLS/LRB/FW)	8
1.2. Le pôle B2P	8
1.3. La démarche qualité du pôle B2P et de la structure laboratoire d'hématologie.....	9
2. CONTEXTE	11
3. PROBLEME	12
4. LE PROJET	12
4.1. Rédaction de la maîtrise de risque dans la procédure générale Validation et Vérification de méthode :	13
4.2. Réalisation du tableau AMDEC pour l'examen de la Clonalité Lymphoïde : Identification des risques	15
4.3. Evaluation et hiérarchisation des risques	21
4.4. Identification des risques et mise en place des actions correctives	21
4.5. Résultats : Réduction des risques	25
4.6. Le suivi des risques : Revue de la stratégie des risques	29
5. CONCLUSION	33
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	34
7. ANNEXES	35

GLOSSAIRE

Définitions :

Risque : Situation non souhaitée ayant des conséquences négatives résultant de la survenue d'un ou plusieurs événements dont l'occurrence est incertaine.

Non-conformité : Non-observation d'une exigence du laboratoire

Action curative : Action visant à prendre des mesures immédiates afin de traiter ponctuellement une anomalie en informant le client si nécessaire.

Action corrective (d'après ISO 9000) : Action visant à éliminer la cause d'une non-conformité pour éviter sa réapparition. Cette action corrective peut être entreprise à la suite d'une non-conformité, d'une réclamation, d'un audit.

Action préventive (d'après ISO 9000) : Action visant à éliminer la cause d'une non-conformité potentielle ou d'une autre situation potentielle indésirable.

Amélioration continue : Activité régulière et permanente permettant d'accroître la capacité à satisfaire les exigences des clients (besoin ou attente formulé, habituellement implicite, ou imposé).

Abréviations :

AMDEC : Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité

CIQ: Contrôle Interne de Qualité

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

SMQ : Système Management Qualité

COFRAC : COmité FRançais d'Accréditation

RQ : Responsable Qualité

RQS : Responsable Qualité Structure

GHU SLS/LRB/FW : Groupe Hospitalier Universitaire

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

B2P : Biologie-Physiologie-Pathologie

SLS : Saint-Louis

LRB : Lariboisière

INTRODUCTION

Depuis l'Ordonnance n°2010-49 du 13 Janvier 2010¹, la totalité des activités des Laboratoires de Biologie Médicale (LBM) doit être accréditée selon la Norme NF EN ISO 15189² pour le 31 Octobre 2020. La dernière version de la Norme NF EN ISO 15189: 2012² notifie dorénavant aux LBM d'avoir une gestion des risques. Afin d'aider les LBM à obtenir leur accréditation, le COFRAC a élaboré des documents non opposables :

1. le SH GTA 04 Révision 01: guide technique d'accréditation de vérification (portée A)/validation (portée B) des méthodes en biologie médicale³
2. le SH FORM 43 Révision 01: fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale⁴

L'objectif de ce mémoire est de réaliser une maîtrise des risques « a posteriori » pour un examen réalisé dans notre LBM depuis maintenant plusieurs années afin d'être en conformité avec les nouvelles exigences de la Norme NF EN ISO 15189: 2012².

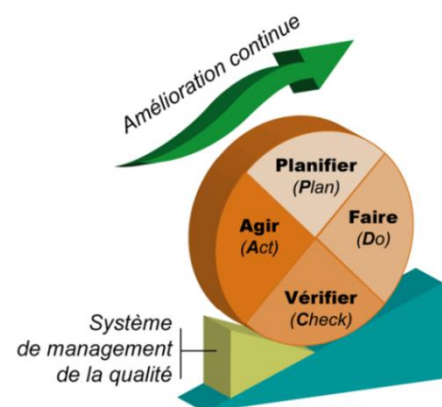
La méthodologie utilisée est basée sur le concept de la roue Deming (PDCA : Plan-Do-Check-Act):

-Planifier (Plan) : Création du tableau Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité (AMDEC) et d'un Plan Action Qualité (PAQ)

-Réaliser (Do) : Mettre en place les actions correctives

-Evaluer (Check) : Mise en place des indicateurs qualité

-Ajuster (Act) : Calcul de l'indice de criticité résiduel



1. PRESENTATION

1.1. Le Groupe hospitalier Universitaire Saint Louis/Lariboisière/Fernand Widal (SLS/LRB/FW)

Le GHU SLS/LRB/FW est l'un des 12 groupes hospitaliers de l'APHP (Annexe 1), il bénéficie d'une capacité de 1410 lits et se compose de 10 pôles médicaux:

1. Pôle Hématologie Oncologie Radiothérapie (HOR)
2. Pôle Dermatologie, Oncodermatologie, chirurgie plastique, Reconstructrice, Esthétique, chirurgie Maxillo-faciale (DOREM)
3. Pôle Appareil Locomoteur
4. Pôle Neurosciences Tête et Cou (NTC)
5. Pôle Digestif, Urologie, Néphrologie, Gynécologie-Obstétrique (DUNEGO)
6. Pôle URGENCES
7. Pôle Infectiologie, Médecine Aiguë, Gériatrie, Médecine Interne, Neurocognition, Endocrinologie (IMAGINE)
8. Pôle Biologie-Pathologie-Physiologie (B2P)
9. Pôle Imagerie
10. Pôle Produits de santé, Evaluation BLOCs (PREBLOC)

1.2. Le pôle B2P

Le pôle B2P et le laboratoire de biologie médicale du GHU SLS/LRB/FW sont une même entité, celle-ci est constituée de 15 structures réparties sur les sites Lariboisière (LRB) et Saint Louis (SLS) (Annexe 2).

Le pôle B2P compte 116 Equivalents Temps Plein (ETP) pour le personnel médical (PM) et 670 ETP pour le personnel non médical (PNM), dont 273 techniciens de laboratoire, qui réalisent chaque année 6,5 millions d'actes de biologie représentant près de 400 millions de B/BHN.

1.3. La démarche qualité du pôle B2P et de la structure laboratoire d'hématologie

A ce jour, les réalisations du Système de Management de la Qualité (SMQ) sont les suivantes :

1. Mise en place d'un système pyramidal pour le management de la qualité organisé autour d'un responsable assurance qualité (RAQ) et de ses adjoints. Ils garantissent la mise en œuvre du maintien et de l'amélioration du SMQ et coordonnent les quarante-et-un référents qualité structure (RQS), chargés de relayer la politique qualité au sein de leur propre structure.
2. Expression et communication de la politique qualité par le directeur du laboratoire au travers de notre Manuel Qualité.
3. Etablissement de contrats de prestations avec d'une part les cliniciens du GHU SLS/LRB/FW et d'autre part les laboratoires sous-traitants.
4. Déploiement du logiciel de gestion de la qualité, KALILAB, qui a succédé pour la partie gestion documentaire à un logiciel développé localement (GESDOC).
5. Evaluations et audits. Un plan annuel d'audit est mis en place. Les audits sont réalisés par des auditeurs internes habilités, des auditeurs externes au GHU SLS/LRB/FW et des sociétés externes. Quatre audits internes ont déjà eu lieu (personnel, fournisseur, gestion des non conformités et informatique) et des audits internes externalisés ont également eu lieu début 2016. (Annexe 3).
6. Formations à la gestion des non conformités suite à un écart lors de la visite S1 du COFRAC. Un audit spécifique a été réalisé en mars 2016.
7. Mise en place d'une politique d'évaluation des fournisseurs avec organisation d'un audit interne spécifique.
8. Revues de direction. La première a été organisée en 2013. La 4ème a eu lieu en Mars 2016.
9. Adaptation de notre SMQ aux exigences de la version 2012 de la Norme NF EN ISO 15189², avec notamment son évolution vers l'approche processus. Nomination des pilotes et co-pilotes des 19 processus et 25 sous-processus.
10. Définition d'indicateurs de performance des processus de production des analyses. Cette politique est en cours d'extension aux processus supports.

Les principales étapes franchies dans notre démarche d'accréditation sont les suivantes :

- Mai 2013 : Engagement du LBM du pôle B2P dans une démarche d'accréditation COFRAC selon la Norme NF EN ISO 15189².

- Mars 2014 : Evaluation initiale pour l'accréditation du LBM B2P par le COFRAC pour deux examens de biologie (dosage sanguin de la troponine et numération globulaire et plaquettaire) sur 4 structures internes du pôle (hématologie LRB et SLS et biochimie LRB et SLS) sur les lignes de portées BB1 (famille Biochimie générale et spécialisée) et HB1 (famille hématocytologie) pour des méthodes de portée A soit environ 4% des actes du LBM.

- Août 2014 : Certificat d'accréditation du laboratoire B2P

- Mai 2015 : Confirmation de l'accréditation du LBM lors de la visite de surveillance S1, avec une portée d'accréditation équivalente à celle de la visite d'évaluation initiale.

- Juillet 2015 : Des examens de biochimie (ligne de portée BB1, site SLS) ont été ajoutés via la portée flexible. Le nombre d'actes rendus sous accréditation par le LBM B2P s'établit donc actuellement à 21,9%.

Demande d'extension aux portées HB1 ainsi qu'un rajout d'examens appartenant à la portée BB1 qui devraient permettre d'atteindre les 50,4% d'actes accrédités réglementaires au 31/10/2016.

- Avril 2016 : Visite de surveillance S2 des portées HB1 et BB1, 19 écarts dont 2 critiques. L'envoi des éléments de preuve au COFRAC montrant la maîtrise de ces deux écarts, a été fait le 03 Septembre 2016, nous attendons actuellement la confirmation du COFRAC.

Mon rôle dans la structure :

- Missions spécifiques. Depuis peu, RQS du laboratoire d'hématologie à Saint-Louis après y avoir été technicienne dans le secteur de biologie moléculaire.

- Missions transversales sur le pôle B2P. En qualité de suppléante de l'administrateur général KALILAB, j'ai participé au paramétrage préalable du logiciel et à son

déploiement sur le GHU SLS/LRB/FW. J'organise et anime des formations et des réunions destinées aux utilisateurs de KALILAB. J'assure également le suivi des dysfonctionnements et autres problèmes rencontrés par les utilisateurs, ainsi que les montées de version. Par cette fonction, je suis pilote du sous-processus KALILAB où j'ai choisi deux indicateurs qualité dont j'assure actuellement le suivi.

2. CONTEXTE

L'hôpital Saint-Louis est un hôpital dont les spécialités sont l'hématologie oncologique et la dermatologie depuis plus de 400 ans. En effet, l'hôpital Saint Louis est centre expert national clinique pour les Lymphomes cutanés – réseau GFELC dirigé par le Pr Martine Bagot, service de dermatologie.

Le LBM est de ce fait très fortement impliqué dans la prise en charge médicale et le suivi des patients atteints d'une hémopathie.

A ce titre, et dans le contexte des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) de l'adulte, des lymphomes, des myélomes et de certaines pathologies cutanées, le laboratoire a développé et mis en place une méthode pour détecter au sein d'une population hétérogène de lymphocytes, la prolifération anormale d'un lymphocyte (clone), cette prolifération est appelée « population monoclonale » Figure1.

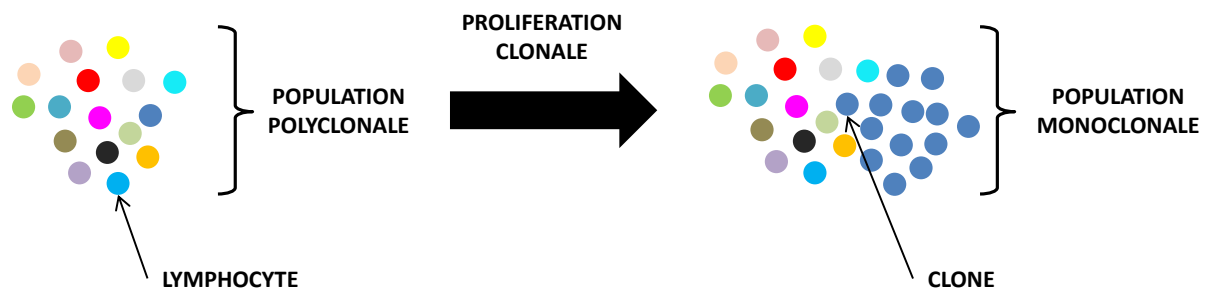


Figure 1 : Schéma d'une prolifération anormale d'un lymphocyte.

L'hétérogénéité de la lignée lymphocytaire est induite par le mécanisme de recombinaison V(D)J impliquant le réarrangement successif de plusieurs gènes codant pour les parties variables du récepteur à l'antigène du lymphocyte B (gène BCR) ou T (gène TCR). Cette recombinaison génère une séquence génétique unique qui représente une empreinte de la cellule. Ainsi le récepteur à l'antigène qu'elle produit est spécifique de chaque lymphocyte. On parle de récepteur clonal et de clone lymphocytaire pour toutes les cellules filles exprimant le même récepteur.

Dans le cas des pathologies dues à la prolifération anormale d'un clone lymphocytaire, on utilise sa séquence unique pour le détecter à l'aide de PCR. Il s'agit de l'analyse de la clonalité lymphoïde.

3. PROBLEME

Le chapitre 5.5 de la Norme NF EN ISO 15189² impose de vérifier et de valider les performances analytiques des méthodes d'analyse utilisées en biologie médicale afin qu'elles soient compatibles avec les pratiques cliniques. Ainsi le biologiste doit s'assurer avant la mise en production des méthodes que leur niveau de performances correspond aux attentes et qu'il soit maintenu au cours du temps. Cette exigence est conditionnée par :

1. l'identification et le suivi des risques susceptibles de disqualifier la méthode
2. la vérification régulière des performances analytiques atteintes
3. la gestion des dysfonctionnements observés

Ce mémoire présente la première étape de la validation d'une méthode complexe de biologie moléculaire : la mise en place de la maîtrise des risques pour chaque étape analytique de l'examen de la clonalité lymphoïde, méthode qualitative de portée B.

Pour cela, j'ai été encadré par le Dr Jean-Michel Cayuela qui a mis en place cet examen au laboratoire d'hématologie de l'hôpital Saint-Louis en 1990 et j'ai collaboré avec l'équipe « Clonalité » qui assure la réalisation de cet examen.

4. LE PROJET

Afin de réaliser la maîtrise de risque pour l'examen de clonalité lymphoïde, j'ai recherché dans notre base documentaire les procédures générales (PG) rattachées à ce domaine :

1. SLL-B2P-QUAL-PG-005 Identifier et maîtriser les risques du laboratoire B2P (Annexe 4)
2. SLL-B2P-ANA-PG-005 Validation et vérification des méthodes en biologie médicale (Annexe 5)

Pour la PG Validation et vérification des méthodes en biologie médicale, j'ai constaté que la version actuelle n'intégrait pas la méthodologie pour réaliser une maîtrise des risques. J'ai donc pris rendez-vous avec Mme Nathalie SCHNEPF (RAQ du

laboratoire) et suite à cet entretien, elle m'a confié la rédaction du paragraphe : 5.3.2 Analyse des risques de cette PG.

4.1. Rédaction de la maîtrise de risque dans la procédure générale Validation et Vérification de méthode :

Cette rédaction a été réalisée en collaboration avec le Dr. Jean-Michel CAYUELA, pilote du sous-processus : [P2/1] SP - Etape analytique, vérification ou validation de méthode (Annexe 6) et la RAQ.

Ce paragraphe définit :

- a) les méthodes utilisées au LBM pour réaliser et évaluer la maîtrise des risques: le diagramme d'Ishikawa et les 5 M (Matière, Main d'œuvre, Milieu, Méthode Matériel)
- b) l'échelle de l'indice de criticité du LBM

Pour cette dernière, une question s'est posée : doit-on la définir de 1 à 5 ou de 1 à 25.

En effet, si nous suivons notre PG (Paragraphe 6.5. Identification des risques dans un laboratoire de biologie médicale, Annexe 4), l'indice de criticité C du risque est calculé selon la formule suivante :

$$C = \text{cotation Fréquence (F)} \times \text{cotation Gravité (G)}$$

Et, en se basant sur les tableaux I et II également issus de notre PG, l'indice de criticité **C** est donc compris entre **1** et **25** :

Fréquence	Signification	Cotation
Très rare	Moins de 1 fois par an	1
Rare	1 à 3 fois par an	2
Peu fréquente	Au moins 1 fois par trimestre (4 à 12 fois par an)	3
Fréquente	Au moins 1 fois par mois (12 à 50 fois par an)	4
Très fréquente	Au moins 1 fois par semaine (> 50 fois par an)	5

Tableau I : détermination de la fréquence d'un risque

Gravité	Signification	Cotation
Mineure	Sans impact sur la prise en charge du patient ou sur le rendu des résultats. Sans effet sur la performance, les processus, la poursuite de l'activité ou la sécurité. Incident du travail	1
Significative	Conséquences modérées sur la prise en charge du patient ou sur le rendu des résultats (retard,...), mais sans conséquence grave pour le patient. Effet ne remettant pas en cause le fonctionnement du processus. Atteinte superficielle, sentiment d'insécurité. Dégradations mineures Accident du travail sans arrêt	2
Grave	Conséquences significatives sur la prise en charge, surveillance renforcée, erreur sur le rendu de résultat Arrêt temporaire de l'activité avec solution de remplacement Arrêt de travail ≤ 21 jours	3
Critique	Conséquences graves, pronostic vital du patient engagé, risque de séquelles Dégradation permanente de l'activité avec impact sur les performances et la sécurité Dégradation de matériel de valeur Arrêt de travail > 21 jours	4
Très critique (ou catastrophique)	Décès, séquelles graves irréversibles Arrêt de l'activité sans solution de remplacement Dégradation majeure ne permettant pas de réaliser l'activité Arrêt du travail entraînant le décès ou des séquelles graves irréversibles	5

Tableau II : détermination de la gravité d'un risque.

Cependant, la maîtrise des risques présentée dans le SH-FORM 43⁴ est une maîtrise des risques à réaliser « a priori », c'est-à-dire pour des examens qui ne sont pas encore réalisés au LBM. La Fréquence (F) est donc toujours égale à 1, ce qui génère un indice de criticité C compris entre 1 et 5.

Le paragraphe 5.3.2 Analyse des risques de la PG : SLL-B2P-ANA-PG-005 Validation et vérification des méthodes en biologie médicale, décrit donc les deux cas de figure:

1. l'analyse des risques est effectuée « a priori », dans ce cas on utilise la formule $C=G$ et l'échelle est comprise entre 1 et 5.
2. l'analyse des risques est effectuée « a posteriori » (valable jusqu'au 31 Octobre 2020), dans ce cas l'indice de Criticité C a pour formule : $C = F \times G$ donc une échelle comprise entre 1 et 25.

Dans le cas d'une analyse des risques « a priori », notre logiciel KALILAB propose un tableau pré-remplis, identique à celui présenté par le COFRAC dans le SH-FORM 43⁴. Cependant, il est fortement recommandé de l'adapter à nos propres examens en y ajoutant ou supprimant des risques spécifiques.

Dans le cas d'une analyse des risques « a posteriori », l'outil utilisé sera le tableau AMDEC (l'Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité). C'est donc ce dernier qui a été rédigé pour l'examen de clonalité lymphoïde au laboratoire d'hématologie de Saint Louis.

4.2. Réalisation du tableau AMDEC pour l'examen de la Clonalité Lymphoïde : Identification des risques

4.2.1. Rédaction de la procédure technique

La réalisation du tableau AMDEC a demandé au préalable la rédaction de la procédure technique : SLL-SLHEM-BMHEM-MT-003 Mise en évidence de la clonalité d'une population lymphoïde (Annexe 7). En effet, cet examen complexe comporte plusieurs étapes analytiques présentées dans la figure 2.

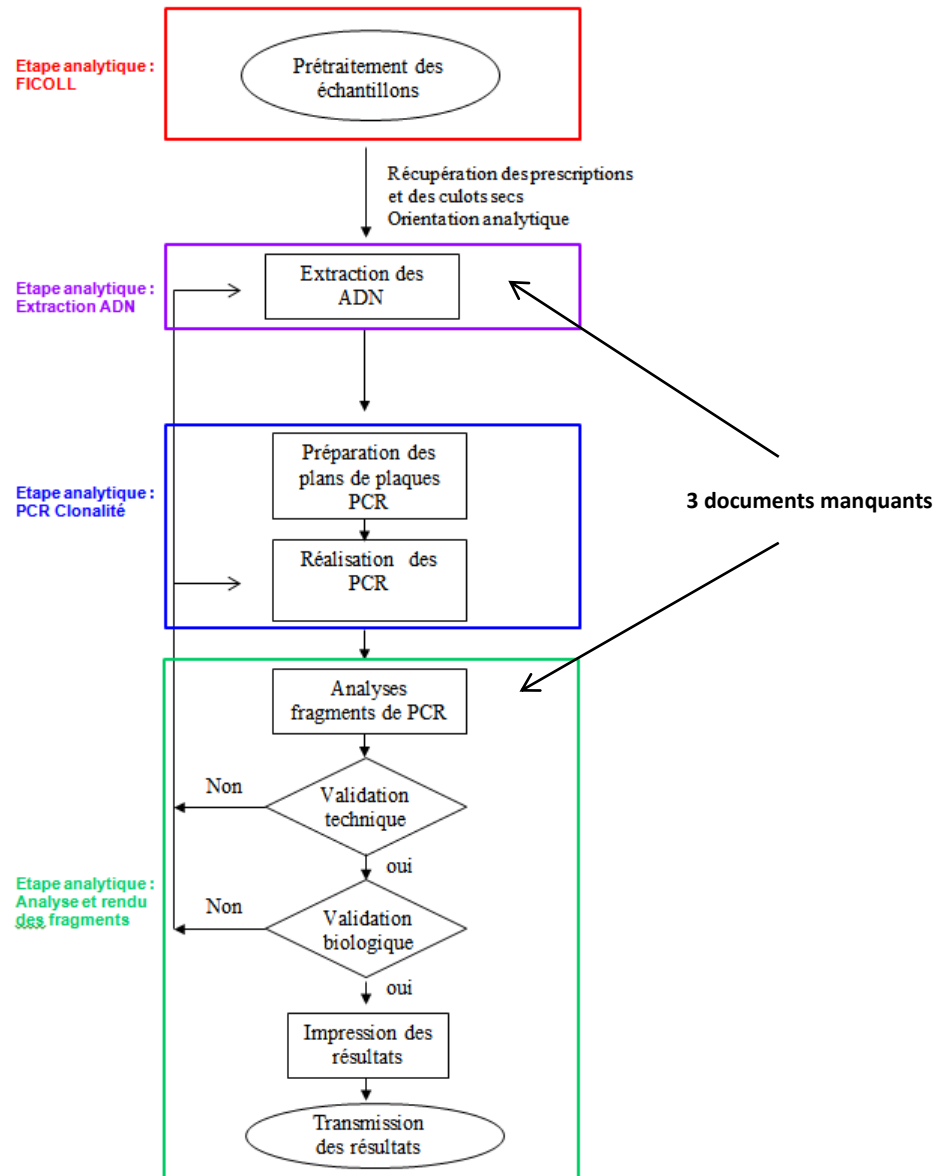


Figure2 : Logigramme de l'examen de la clonalité lymphoïde présentant les différentes étapes analytiques

Le logigramme de cette procédure technique a mis en évidence l'absence de documents. Lors d'une réunion qualité le 14 Avril 2016, j'ai demandé la rédaction de ces documents manquants aux différents référents des postes concernés. Chaque document à rédiger est considéré comme une « **action corrective/préventive à réaliser** », signalée en rouge dans le tableau AMDEC. Les « **actions correctives/préventives réalisées** » apparaissent en vert dans ce même tableau.

4.2.2. Recherche des risques et méthodologie

Afin de répertorier l'ensemble des risques, j'ai interrogé les techniciennes responsables et réalisé une extraction puis une analyse de non-conformités liées à cet examen (Annexe 8 et Annexe 9).

Pour chaque étape analytique de cet examen, j'ai défini les phases pré-analytique, analytique et post-analytique. Pour chacune de ces phases, j'ai classé les risques selon la méthode des 5M en me basant sur le diagramme Ishikawa (Figure 3).

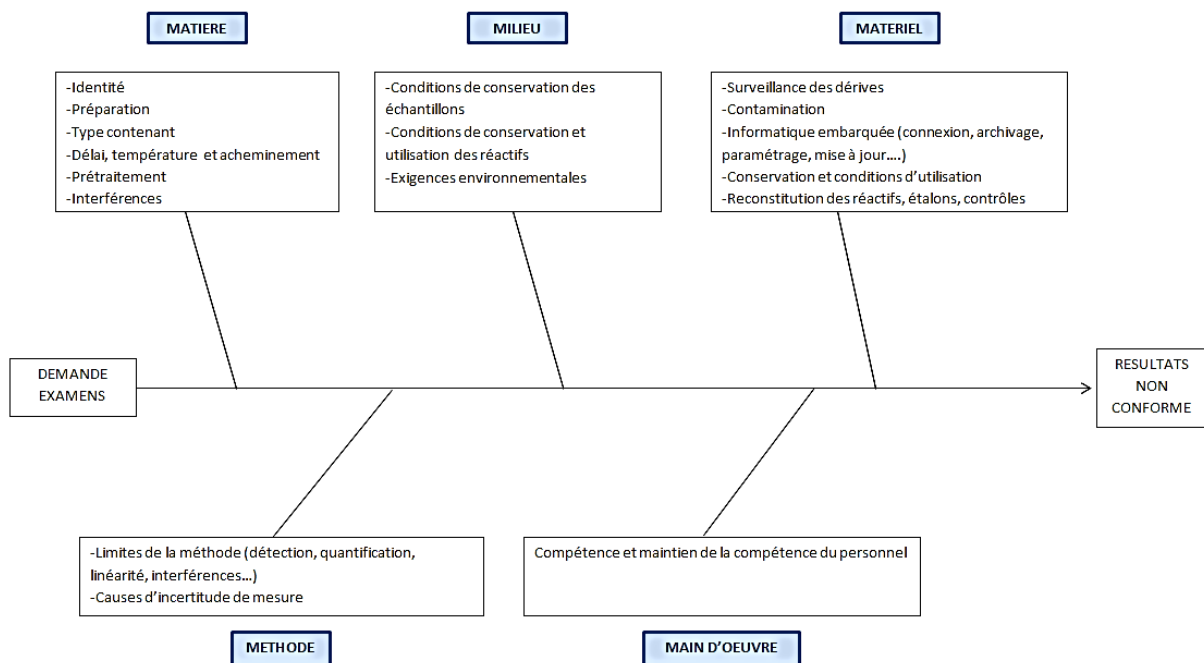


Figure 3 : Diagramme d'Ishikawa pour l'examen de la clonalité lymphoïde (cours sur la maîtrise des risques dans un LBM de Mme Anne Vassault⁵ ; Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de génétique somatique des hémopathies malignes, Flandrin⁶)

AMDEC Clonair																			
ETAPE ANALYTIQUE	PROCESSUS	NOMINATION PROCESSUS	SM	DEFALANCE	MODE DE DEFALANCE	FREQUENCE INITIALE	GRAVITE INITIALE	INDICE CRITICITE INITIALE	MOYENS DE MASTRISE EXISTANTS	MODE DE DETECTION	DOCUMENTS ASSOCIES	NUMERO RISQUE	ACTIONS CORRECTIVES/PREVENTIVES*	INDICATEUR QUALITE	FREQUENCE RESIDUELLE	GRAVITE RESIDUELLE	INDICE CRITICITE RESIDUELLE	ANNEXES	
P R E L E V E M E N T			MATIERE	ERREUR NATURE PRELEVEMENT, MAUVAIS ANTICOAGULANT, CONDITIONS ACHAMINEMENT NON RESPECTEES, ERREUR PRESCRIPTION	PERTE NOMBRE CELLULES, ANALYSE NON JUSTIFIEE	1	2	2	MANUEL DE PRELEVEMENT, CATALOGUE DES EXAMENS, BASTE PRESCRIPTION, VERIFICATION CONFORMITE PRELEVEMENT AGENT ACB/TECHNICIEN PREANA SPE	VISUEL	SLL B2P-PRE-PT-003 Manuel de prélèvement des échantillons biologiques - Site Saint-Louis, Catalogue des examens sur internet, SLL-SHEM-PLUS-PT-009 Réception des prélèvements au préanalytique spécialisé, SLL-B2P-PRE-PG-006 Gestion échantillons (réception, stockage, élimination), SLL-SCACB-PLUS-MT-023 Prise en charge des échantillons pour l'hématologie spécialisée, SLL-SHEM-BMHEM-IT-002 Juste prescription clonair® lymphoide	R1	LE MANUEL DE PRELEVEMENT EST REVU TOUS LES 6 MOIS, JUSTE PRESCRIPTION EST REDIGEE AVEC CLINICIENS				0		
			MAIN D'OUVRE	ERREUR ENREGISTREMENT AGENT ACB	ERREUR SAISE NATURE NOM DATE DE NAISSANCE PRESCRIPTEUR DATE ET HEURE PRELEVEMENT	5	3	10	VERIFICATION SAISE MANUELLE PAR TECHNICIEN PREANA SPE ET BIOLOGISTE LORS DE LA VALIDATION BIOLOGIQUE	VERIFICATION VISUELLE	SLL-SCACB-PLUS-MT-012 Prise en charge des échantillons pour l'hématologie spécialisée, SLL-SHEM-PLUS-PT-009 Réception des prélèvements au préanalytique spécialisé, SLL-SHEM-PLUS-MT-029 Validation Biologique des Résultats de Biologie Moléculaire	R1	Aucun correctif de SLL-1999 et P142 2016 (action P1) sensibilisation agents ACB à la saise manuelle (P1) + MISE EN CODE BARE SAISE DES PRESCRIPTEURS (P10) INSTRUCTION SUR LA VERIFICATION SAISES MANUELLES AU LCH (P15), CREATION DES PRESCRIPTIONS TOMMAT SCAN, INC. P21 vérification Saie Ordo pour prescriptions exécutives (action ACB)	X	3	3	9	Suivi des NC préanalytique dans objectifs Kallab	
	PRE ANALYTIQUE	RECEPTION PRELEVEMENT	MILIEU	CONDITIONS TRANSPORT ET ACHAMINEMENT NON RESPECTEES	PERTE QUALITE ET NOMBRE DE CELLULES	2	3	6	MANUEL PRELEVEMENT, VERIFICATION CONFORMITE RECEPTION DU PRELEVEMENT ET EMAGEMENT DES PERSONNES QUI AMENENT LES PRELEVEMENTS	DELAI ENTRE PRELEVEMENT ET RECEPTION CONFORME, PRESENCE DE CARROGLACE POUR PRELEVEMENTS CONGELÉS	SLL-B2P-PRE-PT-003 Manuel de prélèvement des échantillons biologiques - Site Saint-Louis, contrats de prestations.	R2	NOUVELLE FEUILLE DE DEMANDE AVEC HEURE DE PRELEVEMENT VERSUS HEURE ARRIVEE AU LABORATOIRE (P2)	EN COURS			0		
			METHODE	NON UTILISATION SACS DE TRANSPORT	DEGRADATION PRELEVEMENT	1	3	3	MANUEL PRELEVEMENT	VISUEL	SLL-B2P-PRE-PT-003 Manuel de prélèvement des échantillons biologiques - Site Saint-Louis, contrats de prestations, CONTRATS AVEC PRESCRIPTEURS ET LABORATOIRES EXTERNES							0	
			MATERIEL	PANNE INFORMATIQUE, CONTAMINATION DU PRELEVEMENT, PROBLEME DE CENTRIFICATION	MAUVAISE TRACABILITE, PERTE DE L'ECHANTILLON	1	3	3	GESTION DU SYSTEME INFORMATIQUE, GESTION DU MATERIEL	MESSAGES D'ERREUR	SLL-SHEM-PLUS-IT-007 Prise en charge des prélèvements au LCH en mode dégradé, SLL-SHEM-PLUS-DE-013 Liste de travail en mode dégradé au préanalytique spécialisé, SLL-B2P-METRO-PG-001 Equipement et Matériel							0	
			MATIERE	IDENTITE PROBLEME D'INVERSION, ERREUR TYPE DE CONTENANT	PERTE DU NOMBRE DE CELLULES OU DE LA TOTALITE DU PRELEVEMENT	1	3	3	BONNES PRATIQUES DU LABORATOIRE	VERIFICATION A CHAQUE ETAPE DE LA MANIPULATION	SLL-SHEM-PLUS-IT-011 Conduite à tenir pour éviter les interventions d'échantillons au pré-analytique, SLL-SHEM-PLUS-IT-001 Orientation d'un prélèvement dans le processus analytique du secteur d'hématologie moléculaire							0	
			MAIN D'OUVRE	PERSONNEL PAS COMPETENT	PERSONNEL MAL FORME PERTE DU PRELEVEMENT LORS DE LA MANIPULATION, INCIDENT OU ACCIDENT HYGIENE ET SECURITE	1	2	2	HABILITATION DU PERSONNEL AU POSTE, RESPECT DES REGLES D'HYGIENE ET SECURITE ET PRESENCE MATERIEL ADEQUAT (BOITES, GANTS, DASIS, PAIN...)...	NUMBRE INCIDENT ET ACCIDENT	REGISTRE HYGIENE ET SECURITE, DOCUMENT UNIQUE, FICHES DE DONNEES SECURITE, PROCEDURES D'EMERGENCY PRODUITS CHIMIQUES ET RISQUES CHIMIQUES, SLL-SHEM-BMHEM-IT-007 instruction pour l'habilitation aux postes de travail de laboratoire d'hématologie moléculaire							0	
	ANALYTIQUE	CONDITIONNEMENT - FICOLL	MILIEU	REACTIFS DEFECTUEUX OU PERMES, MAUVAISE ELIMINATION DECHETS	MAUVAISE CONSERVATION DES REACTIFS ET ELIMINATION DECHETS	1	2	2	GESTION REACTIFS ET DES DECHETS	PRESENCE DE REACTIFS PERMES DANS LE LCH ET DASIS NON EUMES	SLL-SHEM-PLUS-DE-015: Fiche produit et son tableau de traçabilité au LCH, SLL-SHEM-PLUS-IT-000 Instruction du tableau de traçabilité des réactifs et consommables au LCH							0	
			METHODE	MAUVAISE MASTRISE DE LA METHODE, PRELEVEMENT TRES FAIBLE	ERREUR CHOIX SEPARATION ENTRE LYSE ET FICOLL ET ERREUR CHOIX DU PAN	1	3	3	IQ PREANALYTIQUE	FAIBLE NOMBRE CELLULE PAR RAPPORT AU VOLUME ECHANTILLON	SLL-SHEM-PLUS-MT-009 ISOLEMENT DES CELLULES MONONUCLEEES (FICOLL), SLL-SHEM-PLUS-MT-002 Isolation des cellules mononucleées (Ficoll) PAN, SLL-SLTUM-PRE-IT-007 Validation des méthodes d'isolement des cellules mononucleées				X (selon par SUP)			0	
			MATERIEL	PROBLEME CENTRIFUGEUSE, REFRIGERAT EUR, MAUVAIS, CONTAMINATIONS	PERTE ECHANTILLON	2	3	6	PROCEDURE MAINTENANCE	MAINTENANCES NON ACQUITES DANS KALLAB	GESTION MAINTENANCES SUR KALLAB + SLL-SHEM-PRE-MT-008 Mode dégradé en cas de panne du Muse : Numération cellulaire avant congélation	R3	VERIFICATION TABLEAU MAINTENANCE (P1) + INSTRUCTION MODE DEGRADE DU MUSE + PROGRAMMES SUR CENTRI POUR EVITER ERREUR VITESSE	X	1	3	3	10 suivi dans O/Laboratoire, Hém atologie@VZIQ MAINTENANCES SUP	
			MATIERE	MAUVAIS CONTENANT	TUBE SE CASSE AU -80°C	1	3	3	GESTION STOCK	DONNEES FOURNISSEUR ET TESTS AVANT CHANGEMENT	FICHES PRODUITS ET FOURNISSEURS, SLL-SHEM-PLUS-IT-026 Instruction du tableau de traçabilité des réactifs et consommables au LCH							0	
			MAIN D'OUVRE	NON RESPECT DES PROCEDURES D'ENREGISTREMENT ET DE STOCKAGE	CLUOT SEC PERDU	2	3	6	BOITE DE RANGEMENT PAR PATHOLOGIE+TRACABILITE POSITION SUR FEUILLE DE DEMANDE ET DE TRAVAIL	LORS DE LA SORTIE DES CLUOTS	SLL-SHEM-PLUS-AIT-007 Stockage intermédiaire des échantillons cellulaires du préanalytique spécialisé	R4	MODIFICATION ORGANISATION DIMINUTION NOMBRE DE BOITE DE RANGEMENT + CREATION POSITION AUTOMATIQUE DANS GLIMS (P17)				0		
	POST ANALYTIQUE	TRACABILITE ET STOCKAGE TEMPORAIRE	MILIEU	PROBLEME DE TEMPERATURE PENDANT CONSERVATION	PERTE DES CLUOTS	1	1	1	SONDE OCCASOFT + CONGELATEUR DE SECOURS	ALARMS ET SUIVI OCCASOFT	SLL-B2P-METRO-PG-008: Suiivi métrologique				X (selon par SUP)			0	
			METHODE	PROBLEME SAISE MANUELLE	MAUVAISE DONNEES SAISE DANS GLIMS	1	1	1	TRACABUTE SUR FEUILLE DE DEMANDE	LORS VALIDATION BIOLOGIQUE	SLL-SHEM-PLUS-MT-007 Stockage intermédiaire des échantillons cellulaires du préanalytique spécialisé			INSTRUCTION SUR LA VERIFICATION SAISES MANUELLES AU LCH (P15)				0	
			MATERIEL	PANNE INFORMATIQUE, CONGELATEUR -80°C, SONDE + LOGICIEL OCCASOFT	PERTE DONNEES + CLUOTS SECS	1	2	2	MODE DEGRADE EN CAS PANNE INFORMATIQUE + CONGELATEUR DE SECOURS	ALARMS SONORES CONGELATEURS	SLL-SHEM-PLUS-DE-013 Liste de travail en mode dégradé au préanalytique spécialisé			CREATION MODE DEGRADE PANNE OCCASOFT OU SONDE				0	

E X T R A C T I O N A D N			MATIERE	ERREUR DANS LECTURE ETIQUETTE	EXAMEN FAIT SUR MAUVAIS PATIENT	1	3	3	HABILITATION EXTRACTION ADN		SLL-SHEM-BMHEM-IT-011: Récupération des échantillons pour extraction en Hématologie moléculaire, SLL-SHEM-BMHEM-DE-007: Formulaire Dosage et Equipement des ADN avec le QiQ							0			
			MAIN D'ŒUVRE	ERREUR CHOIX CUILOT	PERSONNEL MAL FORME ET NON COMPETENT	1	3	3	HABILITATION EXTRACTION ADN		SLL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'immunologie moléculaire							0			
	PRE ANALYTIQUE	SORTIE CUILOTS	MILIEU	CUILOT ALTERE	RUPTURE CHARNE FROID	1	3	3	CIQ	% RENDEMENT ADN	SLL-SHEM-PLUS-IT-041: Précautions d'utilisation de la carboglace		CREATION D'UN FORMULAIRE DE VALIDATION D'EXTRACTION ADN : % DE RENDEMENT (P19)					0			
			METHODE	ABSENCE DE CARBOGLACE	GESTION COMMANDE REACTIF NON MATHRISE DELAI ALLONGE DANS REALISATION DES EXAMENS	2	2	4	VISUEL	VERIFICATION RECEPTION	BONS DE COMMANDE				85	AUGMENTATION LIVRAISON A 3 FOS PAR SEMAINE	Ø	1	2	2	
			MATERIEL	ABSENCE MALETTE DE TRANSPORT	GESTION MATERIEL NON MATHRISE	1	2	2	MAIETTES DE TRANSPORT IDENTIFIEES DANS CHAQUE SECTEUR			SLL-B2P-EHS-PG-005:Transport des échantillons							0		
			MATIERE	RISQUE INVERSION IMPORTANT	DERIVE BONNES PRATIQUES DU LABORATOIRE	2	2	4	UTILISATION PORTION NUMEROTE ET ANNOTATION NUMERO SUR FEUILLES DE TRAVAIL ET EPENDODIF	ANTERIORITES			SLL-SHEM-PLUS-IT-038: Extraction ADN avec Kit Qiagen		MISE EN PLACE EXTRACTION SUR TUBE PRIMAIRE SANS TOTAL EDTA (P18)					0	
			MAIN D'ŒUVRE	PERSONNEL MAL FORME	PERTE OU PRELEVEMENT	1	3	3	CUILOT SECOURS	CIQ EXTRACTION			SLL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'immunologie moléculaire						0		
	ANALYTIQUE	EXTRACTION KIT QIAGEN TECHNIQUE MANUELLE	MILIEU	MAUVAISE UTILISATION ET CONSERVATION REACTIF	AUCUN ADN RECUPERE	1	3	3	CIQ SERIE EXTRACTION	CIQ EXTRACTION			SLL-SHEM-PLUS-IT-038: Extraction ADN avec Kit Qiagen		CREATION D'UN FORMULAIRE DE VALIDATION D'EXTRACTION ADN : % DE RENDEMENT (P19)					0	
			METHODE	LIMITES METHODE 3,5 MILLIONS S/LA MILLIONS	QUANTITE ADN INSUFFISANT	1	3	3	DOSAGE ADN	DOSAGE ADN			SLL-SHEM-BMHEM-MT-002: Dosage des acides nucléiques; Manuel utilisation du Nanodrop 2000; SLL-SHEM-BMHEM-GL-001: Formulaire qualité des dosages acides nucléiques							0	
			MATERIEL	PROBLEME DU BAIN-MARIE, MAUVAISE RECONSTITUTION REACTIFS	PERTE OU PRELEVEMENT	1	3	3	PAS ADN AU DOSAGE, CUILOT SECOURS	DOSAGE SUR NANODROP			SLL-SHEM-BMHEM-MT-002: Dosage des acides nucléiques; Manuel utilisation du Nanodrop 2000; SLL-SHEM-BMHEM-GL-001: Formulaire qualité des dosages acides nucléiques							0	
		MATIERE	ERREUR OU ABSENCE IDENTITE CUILOT ADN	NON RESPECT PROCEDURE ETIQUETAGE ADN	1	3	3	UTILISATION ETIQUETTES CREER A PARTIR LISTE DE TRAVAIL (COPIE/COLLER)				SLL-SHEM-BMHEM-IT-004: Impression des étiquettes BMADY pour stockage des cuilots							0		
		MAIN D'ŒUVRE	ERREUR RANGEMENT ADN	ADN NON RETROUVABLE	1	2	2	BOITE NUMERO UNIQUE	N° POSITION DANS SL+FEUILLE DE TRAVAIL+GLIMS+PRESCRIPTION			SLL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'immunologie moléculaire		INSTRUCTION STOCKAGE ADN (P20)					0		
		POST ANALYTIQUE	STOCKAGE ADN	MILIEU	CONDITION CONSERVATION NON RESPECTEES	1	2	2	CUILOT DE SECOURS			SLL-SHEM-PLUS-IT-013: Complétion feuilletés							0		
				METHODE	PERTE OU MAUVAIS NUMERO POSITION BOITE AFFICHE DANS LE BUREAU	1	1	1	TRACABILITE N° POSITION ADN FORMULAIRE + DANS GLIMS	ABSENCE DE POSITION OU PLACE DÉJÀ ATTRIBUEE					INSTRUCTION STOCKAGE ADN (P20)				0		
				MATERIEL	PANNE CONGELATEUR STOCKAGE ADN	AUCUNE ALARME ET PAS SONDE SUR CONGELATEUR	1	1	1	RELEV DES TEMPERATURES MANUELLEMENT PAR AGENT LOGISTIQUE	RELEV INCORRECT	SLL-B2P-METRO-PG-008: Suivi métrologique							0		
P C R C L O N A L I T E			MATIERE	ERREUR TABLEUR EXCEL	MAUVAIS CALCUL REACTIF	1	2	2	CIQ PCR, VERROUILLAGE TABLEAU EXCEL	NOMBRE PATIENT EN ATTENTE D'UN RESULTAT ET NOMBRE DE PCR TOTAL		SLL-SHEM-BMHEM-DE-006: Formulaire préparation PCR dans la clonalité lymphoïde							0		
			MAIN D'ŒUVRE	OUBLI OU ERREUR SAISE DANS TABLEAU EXCEL	PCR NON REALISEE	1	2	2	REVUE DES INCOMPLETS DANS SL	* ENTRE NOMBRE DES INCOMPLETS ET DOSSERS EN COURS			SLL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'immunologie moléculaire		INSTRUCTION REVUE DES INCOMPLETS DANS GLIMS (P21) + CREATION FORMULAIRE HABILITATION (P22)				0		
	PRE ANALYTIQUE	PREPARATION PLANS PCR	MILIEU	PAS DE CIQ DISPONIBLE	MAUVAISE GESTION CIQ	1	3	3	FABRICATION CIQ SPECIFIQUES ET MISE EN PRODUCTION EN CAPSULE	REVISION STOCK TOUTS LES MOIS					ENCAPSULAGE CIQ SPECIFIQUE + IT GESTION DES CIQ EN BM (P23)	EVALUATION FOURNISSEUR IMAGINE	1	2	2		
			METHODE	PROCEDURE NON A JOUR	ERREUR TECHNIQUE	1	2	2	CIQ PCR + revue des ciq tous les 24 mois	MAUVAIS CIQ			SLL-SHEM-BMHEM-DE-006: Formulaire préparation PCR dans la clonalité lymphoïde		AJOUT CRITERE : totalité docs attaché pour habilitation					0	
			MATERIEL	PANNE INFORMATIQUE	IMPOSSIBILITE DE PREPARER LES PCR	1	2	2	VERSION PAPIER	VISUEL			PLAN PLAQUES VERSION PAPIER						0		
			MATIERE	IDENTIFICATION PLAQUES	PLAQUE MISE A L'ENVERS	1	3	3	MARQUEUR	VERIFICATION POSITION PUIITS			SLL-SHEM-BMHEM-DE-006: Formulaire préparation PCR dans la clonalité lymphoïde						0		
			MAIN D'ŒUVRE	ERREUR OU INVERSION PUIITS, ERREUR CHOIX PROGRAMME	ERREUR TECHNIQUE	1	3	3	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL	RESULTATS CIQ PCR (SPECIFIQUES ET NEG)			SLL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'immunologie moléculaire						0		
	ANALYTIQUE	REALISATION PCR	MILIEU	PCR NON SPECIFIQUE, LIMITES METHODES PCR NON MATHRISEES, PAS DE MARCHÉ AVANT DÉFAILLANCE	REACTIF DEFECTUEUX OU MAUVAISE PREPARATION CIQ	1	2	2	GESTION PRODUITS + AMORCES + BIBLIQ GIBMHM	RESULTATS CIQ PCR (SPECIFIQUES ET NEG)			Amorces au LCL, SLL-SHEM-PLUS-IT-012: instruction recherche du locus IGH dans l'examen clonalité lymphoïde; SLL-SHEM-BMHEM-IT-013							0	
			METHODE	PCR NON SPECIFIQUE, LIMITES METHODES PCR NON MATHRISEES, PAS DE MARCHÉ AVANT DÉFAILLANCE	INTERFERENCES AVEC EDTA + CONTAMINATION	1	3	3	INSTRUCTION TRAVAIL + BIBLIOGRAPHE + GESTION AMORCES	MAUVAIS RESULTAT CIQ SPECIFIQUE, CONTAMINATION CIQ NEG (PDO)-NTC					HABILITATION PERSONNEL ACCES PCEE POST PCR + MISE EN PLACE COOE ACCES PORTE		1	3	3		
			MATERIEL	THERMOCYCLEURS, PORTES DES FLAMES DE PLAQUE	MAUVAISE TEMPERATURE, EVAPORATION	2	2	4	GESTION MATERIEL	CALENDRIER MAINTENANCES SUR KALLAB			SLL-B2P-METRO-PG-001: Equipement et Matériel			87	ACTION CORRECTIVE 01-05-1802 SENSIBILISATION TECHNIEN AU RESPECT MAINTENANCES + MANUEL UTILISATION THERMOCYCLEURS (P24)	X	1	2	2
			MATIERE	MAUVAISE IDENTIFICATION PLAQUE	ERREUR SENS PLAQUE	1	2	2	HARMONISATION DES PRATIQUES				SLL-SHEM-BMHEM-DE-006: Formulaire préparation PCR dans la clonalité lymphoïde						0		
			MAIN D'ŒUVRE	ERREUR PUIITS PLAQUE, PROGRAMMATION SEQUENCIEUR	INVERSION PATIENT OU MAUVAIS FRAGMENT ANALYSE	1	3	3	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL				SLL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'immunologie moléculaire		CREATION FORMULAIRE HABILITATION (P22)					0	
	POST ANALYTIQUE	FRAGMENTS	MILIEU	CONDITIONS CONSERVATION DES REACTIFS ET ECHANTILLONS	PERTE DES PRODUITS PCR REACTIFS NON UTILISABLES	1	2	2	SONDE REFRIGERATEUR STOCKAGE	OCEASOFT			SLL-B2P-METRO-PG-008: Suivi métrologique						0		
			METHODE	LIMITES METHODE NON MATHRISEES	PATIENTS RENDUS FAUSSEMENT NEG	1	3	3	RETOUR REUNION GIBMHM	NOTE EQ + NOMBRE RECLAMATIONS					RESULTATS EQ	CIQ SEQUENCER (P25)				0	
			MATERIEL	DEFALLANCE SEQUENCIEUR, PLAQUE CHAUFFANTE	GESTION MATERIEL NON MATHRISE	1	2	2	GESTION MATERIEL	PANNE, MESSAGE D'ERREUR			SLL-B2P-METRO-PG-001: Equipement et Matériel		MANUEL UTILISATION SEQUENCIEUR + PLAN MAINTENANCE A DEFINIR (P26)					0	

A N A L Y S E E T R E N D U F R A G M E N T S			MATIERE	IDENTITE DES PCS	ERREUR RENDU RESULTAT	1	3	3	ORDRE ALPHABETIQUE, ORDRE ALPHABETIQUE UTILISE	VERIFICATION ANTERIEURE ET RENSEIGNEMENTS CLINIQUES	SL-SHEM-PLUS-IT-041: Vérification de la saisie manuelle au LCH					0		
			MAIN D'ELABRE	MAUVAISE MAITRISE DU LOGICIEL GENEMAPER	ERREUR OU PERTE DES DONNEES	1	2	2	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL		SL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'hématologie moléculaire	CREATION FORMULAIRE HABILITATION (P22)					0	
		PRE ANALYTIQUE	RECUPERATION DONNEES	MILIEU	PERTE DES DONNEES	PAS SAUVEGARDE DONNEES	1	2	2	SAUVEGARDE SUR DISQUE DUR EXTERNE		SL-B2P-POLE-PG-011: Sauvegardes et archivage des données					0	
				METHODE	LIMITES DU LOGICIEL NON MAITRISEES		1	2	2	MANUEL FOURNISSEUR			MANUEL UTILISATION DU LOGICIEL GENEMAPER (P26)					0
				MATERIEL	PANNE GENEMAPER	NON RECUPERATION DONNEES	1	2	2	SAUVEGARDE SUR RESEAU		SL-B2P-POLE-PG-011: Sauvegardes et archivage des données						0
				MATIERE	ACHEMINEMENT DES DONNEES NON CONFORME	NON VERIFICATION TRANSFERT DONNEES INFORMATIQUE	1	3	3	Ø		SL-SHEM-PLUS-DE-035: Formulaire de vérification d'un logiciel informatique au LCH, SL-SHEM-INF-IT-002: Vérification des logiciels informatiques au LCH	VERIFICATION TRANSFERT DES DONNEES INFORMATIQUES (P27)					0
				MAIN D'ELABRE	MAUVAISE FORMATION SUR ANALYSES PCS ET LEUR TAILLE	RESULTAT ERRONE	1	3	3	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL	VERIFICATION BIOLOGIQUE	SL-SHEM-BMHEM-IT-007: instruction pour l'habilitation aux postes de travail du laboratoire d'hématologie moléculaire, SL-SHEM-PLUS-MT-019: Validation Biologique des Résultats de Biologie Moléculaire						0
		ANALYTIQUE	ANALYSE DES PCS	MILIEU	PROBLEME TAILLE DES PCS	RESULTAT ININTERPRETABLE	1	2	2	PLUSIEURS NIVEAUX CIQ: 25%, 10%, ET 1%	RESULTAT CIQ INCORRECT	SL-SHEM-BMHEM-IT-012: Instruction recherche du locus IGH dans l'examen clonalité lymphoïde, SL-SHEM-BMHEM-IT-013: Instruction recherche du locus ICL2 dans l'examen clonalité lymphoïde, SL-SHEM-BMHEM-IT-014: Instruction recherche du récepteur TCRB Biomed 2 NS dans l'examen clonalité lymphoïde, SL-SHEM-BMHEM-IT-015: Instruction recherche du récepteur TCRG Biomed 2 dans l'examen clonalité lymphoïde	INSTRUCTION ANALYSE DES PCS					0
				METHODE	MAUVAISE CONNAISSANCE DES INTERFERENCES	BRUIT DE FOND CONFONDU AVEC CLONE	1	3	3	CIQ	RESULTAT INCOHERENT		MANUEL UTILISATION DU LOGICIEL GENEMAPER (P26)					0
				MATERIEL	PANNE GENEMAPER	ANALYSE NON REALISABLE	1	2	2	SAUVEGARDE RESEAU		SL-B2P-ANA-PG-003: Modes dégradés						0
				MATIERE	MAUVAIS RESULTAT AGRAFE AU DOSSIER PATIENT	RESULTAT ERRONE	1	3	3	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL	VERIFICATION BIOLOGIQUE	SL-SHEM-PLUS-IT-040: Vérification de la saisie manuelle au LCH	INSTRUCTION SUR LA VERIFICATION SASIES MANUELLES AU LCH					0
				MAIN D'ELABRE	ERREUR SASIE MANUELLE DANS GLIMS	RESULTAT ERRONE	1	3	3	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL	VERIFICATION SASIE MANUELLE	SL-SHEM-PLUS-PT-004: Habilitation des Biologistes, SL-SHEM-PLUS-MT-015: Validation Biologique des Résultats de Biologie Moléculaire	INSTRUCTION SUR LA VERIFICATION SASIES MANUELLES AU LCH					0
		POST ANALYTIQUE	RENDU ET VALIDATION RESULTATS	MILIEU	PAS CONSERVATION DONNEES	PERTE RESULTATS A LONG TERME	1	2	2	SAUVEGARDE RESEAU LOCAL + SAUVEGARDE PAPIER		SL-B2P-POLE-PG-011: Sauvegardes et archivage des données						0
				METHODE	MAUVAISE MAITRISE DES MODIFICATIONS DE CR	CR AVEC RESULTATS CONTRADICTOIRES DANS DOSSIER PATIENT	1	3	3	FORMATION/ HABILITATION PERSONNEL		SL-SHEM-PLUS-IT-017: Modification d'un compte rendu d'examen						0
				MATERIEL	PROBLEME INFORMATIQUE	IMPOSSIBILITE DE RENDRE RESULTAT	1	2	2	MODE DEGRADE		SL-B2P-INF-DM-003: Déclenchement des modes dégradés en cas de dysfonctionnement de GLIMS ou de STAGE						0
LEGENDE:																		
(*) les couleurs dans colonne: actions préventives/correctives :																		
en cours ou à réaliser																		
en application																		

4.3. Evaluation et hiérarchisation des risques

Selon le paragraphe 4.1. de la PG Identifier et maîtriser les risques du laboratoire B2P (Annexe 4), l'échelle de l'indice de criticité C est comprise entre 1 et 25. La table de calcul de criticité d'un risque (Figure 2 : Criticité d'un risque, de la PG), hiérarchise cet indice de criticité C. Il peut être faible (valeur de 1 à < 4), modéré (valeur de 4 à < 10) ou élevé (valeur \geq 10). La table de correspondance entre la valeur de l'indice de criticité C et la mise en place des actions correctives et/ou préventives (Tableau 3 : Criticité et nécessité de mettre en place des actions correctives et/ou préventives, de la PG) définit le délai de mise en œuvre des actions correctives/préventives en fonction de la valeur de l'indice de criticité C.

Notre tableau AMDEC a donc révélé **7 risques** (de R1 à R7) nécessitant des actions, c'est-à-dire ayant une valeur de l'indice de criticité C supérieure ou égale à 4. Parmi ces 7 risques, 6 sont de criticité modérée et 1 risque de criticité élevée. Les actions à mener afin de maîtriser ces risques ont été hiérarchisées selon leur valeur C initiale. Afin de suivre ces actions, j'ai créé un plan d'action: PAQ 2016 (Annexe 10).

4.4. Identification des risques et mise en place des actions correctives

4.4.1. Risque identifié R1: ERREUR ENREGISTREMENT DANS GLIMS PAR LES AGENTS ACB (Accueil Central de Biologie)

Il a été pris en charge dès sa détection car sa valeur de C initiale était de criticité élevée (C=15). Une réunion a été organisée avec les référents qualité structure du Laboratoire Central d'Hématologie (LCH), le Mardi 15 Mars 2016 afin de mettre en place des actions:

1. Action immédiate : Contacter le cadre de l'ACB et organiser une réunion avec le personnel du secteur ACB afin de réaliser une sensibilisation sur l'importance des saisies manuelles et de relever les difficultés menant aux erreurs. Cette action avait pour but dans un premier temps de diminuer significativement la fréquence (F) qui était de 5 (au moins une erreur par semaine) puis dans un second temps de relever les causes de ces erreurs.
2. Action non immédiate : Mise en relation avec le service informatique et les

référents informatiques pour la création d'une feuille de demande numérisable pour l'utilisation de ScanBac. Puis, utilisation de Scan Ordo (la dématérialisation des ordonnances) selon La convention nationale parue au JO du 06/05/2012 (articles 27 et 37 § 2)⁷ pour les prescriptions des prélèvements extérieurs.

- Les étapes de l'action immédiate :

- Envoi d'un mail au cadre responsable du secteur de l'ACB pour exposer le problème et organiser une réunion avec l'ensemble du personnel de l'ACB : **action réalisée.**
- Rédaction d'un document rappelant les exigences pour l'enregistrement des examens dans GLIMS (Annexe 11): **action réalisée.**
- Réunion du 29 Mars 2016 avec l'ensemble du personnel de l'ACB : **action réalisée.**
- Suite à cette réunion, renforcement du PAQ selon les suggestions du personnel : **action réalisée.**
- Mise en place d'un indicateur qualité, pourcentage de non-conformités pré-analytiques : **action réalisée.**

- Les étapes de l'action non immédiate :

- Envoi d'un mail à la responsable informatique GHU SLS/LRB/FW du SIL et au référent informatique LCH afin de soumettre la mise en place de Scan Bac pour les demandes d'examen de biologie moléculaire : **action réalisée.**
- Création de la maquette de la nouvelle feuille de demande compatible avec notre SIL : **action réalisée** (Annexe 12).
- Mise en place de Scan Bac pour cette feuille de demande : **action en cours de réalisation.**
- Mise en place de Scan Ordo pour les prescriptions extérieures au GHU : **action en cours de réalisation.**
- Diffusion de la nouvelle feuille de demande au service de reproduction pour diffusion dans les services cliniques : **action à réaliser.**

- Actions mises en place suite à la réunion du 29 Mars 2016 :

- Création de nouveaux items de non-conformités avec le CCS Patient afin d'uniformiser le choix dans GLIMS et qu'il soit pertinent avec les besoins du

secteur de biologie moléculaire: **action en cours de réalisation.**

- Création de codes-barres pour faciliter la saisie dans GLIMS des institutions et des prescripteurs des demandes extérieures au GHU SLS/LRB/FW (Annexe 13): **action réalisée.**

4.4.2. Risque identifié R2 : CONDITIONS TRANSPORT ET ACHEMINEMENT NON RESPECTEES

Suite à ce risque, la fréquence de revue du manuel de prélèvement est passé d'annuellement à semestriellement (en juin et en décembre) sur notre structure afin que les conditions d'acheminements soient toujours à jour : **action réalisée.**

Les contrats avec les services prescripteurs extérieurs ont été modifiés afin de préciser que les prélèvements nécessitant un prétraitement doivent arriver avant 15h30 le vendredi ou veille de fête : **action réalisée.**

Grace à la création de la nouvelle feuille de demande (action pour le risque R1), l'heure d'arrivée au laboratoire pourra être enregistrée dans GLIMS automatiquement et extraite pour être suivie comme nouvel indicateur qualité: délai d'acheminement des prélèvements : **action à réaliser.**

4.4.3. Risque identifié R3 : PROBLEME CENTRIFUGEUSE, REFRIGERATEUR, AUTOMATE MUSE, CONTAMINATIONS

L'analyse des NC nous a révélé un défaut dans la gestion des maintenances du matériel au LCH.

Les actions menées :

-Plusieurs réunions qualité sur les différents secteurs ont permis de nommer des référents matériels, ayant en charge le respect des délais et de la mise en œuvre des maintenances du matériel du LCH.

-Mise en place d'un indicateur qualité pour le suivi des enregistrements des maintenances dans KALILAB : % de maintenances effectuées hors délais.

-Rédaction d'une instruction de travail : mode dégradé en cas de panne du compteur cellulaire MUSE.

4.4.4. Risque identifié R4: NON RESPECT DES PROCEDURES D'ENREGISTREMENT ET DE STOCKAGE DES ECHANTILLONS APRES PRETRAITEMENT

Malgré l'instruction SLL-SLHEM-PLUS-MT-007: Stockage intermédiaire des échantillons cellulaires du préanalytique spécialisé, le tableau AMDEC nous a révélé que le stockage dans les congélateurs -80°C des échantillons n'était pas complètement maîtrisé. Lors d'une réunion qualité, il s'est avéré que le risque résulte de la retranscription manuelle successive de la position de stockage de l'échantillon (sur la feuille de travail puis sur la feuille de demande avant d'être reporté dans le logiciel Tumorotek®). Le 9 juin 2016, une nouvelle organisation a été élaboré par la biologiste du secteur afin de diminuer le nombre de boîtes de rangement : une boîte ADN et une boîte ARN au lieu d'une boîte par pathologie (LAL, LAM, LMC, Clonalité et Chimérisme). Les techniciens ont également suggéré que la position de l'échantillon soit généré automatiquement dans GLIMS à la création de la demande du prétraitement (Ficoll ou Lyse), afin de faciliter le rangement, la traçabilité et la récupération des échantillons: **actions non réalisées.**

4.4.5. Risque identifié R5 ABSENCE DE CARBOGLACE

L'augmentation de l'activité a entraîné une ouverture plus fréquente du container à carboglace et donc une fonte plus rapide. Pour pallier à ce risque d'absence de carboglace, le nombre de livraison est passé de deux à trois par semaine : **action réalisée.**

4.4.6. Risque identifié R6 RISQUE INVERSION IMPORTANT DES ECHANTILLONS LORS DE LA MANIPULATION TECHNIQUE

Lors de l'extraction d'ADN, le transfert successif de l'échantillon dans de nouveaux tubes collecteurs et l'absence de l'identité complète du prélèvement (identification par un numéro) augmente le risque d'inversion des échantillons. La méthode est susceptible d'être remplacée au profit d'une méthode d'extraction d'ADN sur sang total EDTA, déjà utilisée pour les examens de chimérisme. Cette dernière est en cours de vérification (méthode automatisée sur Qiacube en porté A avec le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini de Qiagen (Annexe 14): **action en cours de réalisation.**

4.4.7. Risque identifié R7 DEFAILLANCE DES THERMOCYCLEURS, POROSITE DES FILMS DE PLAQUE PCR

Lors de l'utilisation des thermocycleurs nous avons constaté une évaporation trop importante des produits de PCR et donc une perte de l'échantillon et un risque important de contamination. Afin de diminuer cette perte, nous essayons actuellement plusieurs films de plaque de fournisseurs différents : **action en cours de réalisation**.

4.5. Résultats : Réduction des risques

L'indice de criticité initiale a été réévalué après la mise en place des actions correctives/préventives. L'indice de criticité appelé maintenant résiduel est calculé selon la formule suivante :

C résiduel = cotation fréquence F résiduelle x cotation gravité G résiduelle

La fréquence résiduelle est déterminée par l'extraction des NC postérieures à la mise en place des actions correctives (Annexe 9).

4.5.1. Risque identifié R1 ERREUR ENREGISTREMENT DANS GLIMS PAR LES AGENTS ACB

Depuis la réunion de sensibilisation, le nombre de NC a sensiblement diminué de fait d'une meilleure implication des agents ACB lors de l'enregistrement des prélèvements.

Pour mettre en évidence cette diminution des erreurs de saisie, j'ai mis en place un indicateur qualité à l'aide du logiciel KALILAB. Tous les mois, je suis le nombre de NC « Saisie de dossier » par rapport au nombre total de NC sur le LCH. La figure 4 nous montre qu'à partir de la réunion de sensibilisation du 29 Mars 2016, le pourcentage de NC « Saisie de dossier » a nettement diminué. Il est passé de 52% en Mars à 30% en Avril et 10% en Mai.

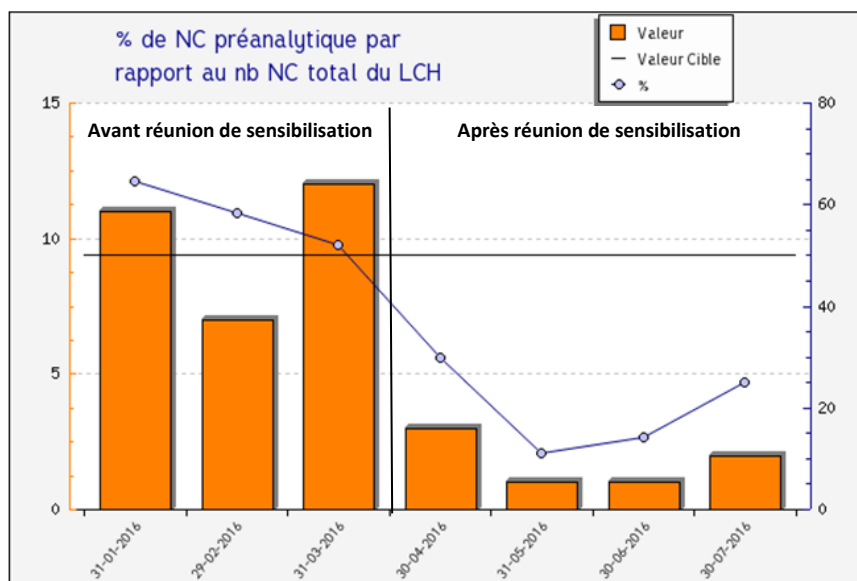


Figure 4: Indicateur Qualité % de NC « Saisie de dossier » par rapport au nombre total de NC au LCH

Au vu des premiers résultats, fin Avril 2016 j'ai informé le cadre de l'ACB ainsi que celui de notre structure. La décision a été prise d'attendre début juin pour présenter les résultats aux agents ACB afin que la tendance d'amélioration soit confirmée.

Cette confirmation faite fin Mai 2016, j'ai donc présenté les résultats en réunion qualité le 10 Juin 2016 où j'ai également fait le point sur l'avancée des actions encore en cours :

- création de codes-barres
- création de la nouvelle feuille de demande
- uniformisation des items NC dans GLIMS

L'analyse des NC du mois de juin et juillet confirme la difficulté des agents à saisir le code des prescripteurs et des institutions. En effet, la saisie des codes n'est pas soumise à une vérification immédiate et ces derniers sont longs et constitués de lettres et chiffres (exemple : HOP80054HEM). Au mois de juin, j'ai rédigé le document SLL-SLHEM-PLUS-IT-029 Codes GLIMS pour enregistrer les demandes d'examens externes en biologie moléculaire hématologie au LCH (Annexe 13) avec l'aide du Dr Jean-Michel Cayuela. Ce document est actuellement en cours de vérification et sera diffusé prochainement.

J'ai également constaté qu'aucune instruction n'avait été rédigée sur la structure pour la vérification des saisies manuelles au LCH. Sa rédaction a été réalisée et le document est en cours de vérification (Annexe 15).

En ce qui concerne la création de la nouvelle feuille de demande, la maquette est prête et a été présentée en réunion à l'ensemble du personnel au mois de juin 2016. Des tests d'éligibilité avec notre système de Scan Bac sont actuellement en cours.

Le projet d'uniformisation des items NC dans Glims est en cours d'élaboration par le CCS Patient car l'utilisation de Glims sur l'ensemble des 15 structures du pôle B2P date du mois de Mai 2015 (le site de Lariboisière n'utilisait pas encore GLIMS).

L'indice de criticité est passé de 15 à 9 et devrait encore diminuer grâce aux actions à venir. L'indicateur qualité mis en place suite à cette analyse de risque a donc été conservé et associé dans KALILAB au processus P1 - Pré-analytique/réception des échantillons (Annexe 6)

4.5.2. Risque identifié R2 : CONDITIONS TRANSPORT ET ACHEMINEMENT NON RESPECTEES

La revue du manuel de prélèvement étant trop récente (juin 2016) et les actions encore en cours de réalisation:

- a) revue des contrats de prestations
- b) mise en place de la nouvelle feuille de demande

Nous ne pouvons pas encore évaluer l'efficacité de celles-ci et leur incidence sur l'indice de criticité résiduel.

4.5.3. Risque identifié R3 : PROBLEME CENTRIFUGEUSE, REFRIGERATEUR, AUTOMATE MUSE, CONTAMINATIONS

La sensibilisation auprès des techniciens sur la réalisation et le suivi des maintenances en les responsabilisant chacun sur un matériel a permis d'avoir moins de panne et des interventions SAV plus rapide. Un indicateur qualité provisoire

(Figure 5) a été mis en place une fois les maintenances paramétrées dans le logiciel KALILAB. Cet indicateur est basé sur le % de maintenances effectuées hors délai par rapport au nombre total de maintenances à effectuer. Cet indicateur n'est pas suivi dans KALILAB car il sera supprimé lorsque l'ensemble du personnel du LCH acquittera sans oubli les maintenances programmées. La figure 5 montre qu'avant la sensibilisation du personnel (Mars 2016) plus de 30% des maintenances étaient effectuées hors délais depuis la sensibilisation, nous sommes à moins de 20%.

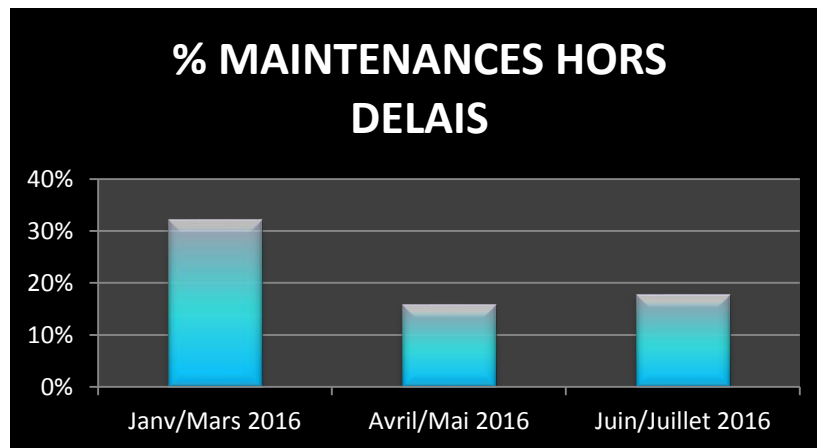


Figure 5: Indicateur Qualité en % des maintenances réalisées hors délais par rapport à la totalité des maintenances effectuées sur le LCH

Cet indicateur est présenté régulièrement en réunion qualité. Cette action nous a permis de diminuer l'indice de criticité à une valeur de 3.

4.5.4. Risque identifié R4: NON RESPECT DES PROCEDURES D'ENREGISTREMENT ET DE STOCKAGE DES ECHANTILLONS APRES PRETRAITEMENT

A ce jour, aucune action a été finalisée, nous ne pouvons pour le moment ni réévaluer l'indice de criticité ni créer d'indicateur qualité.

4.5.5. Risque identifié R5 ABSENCE DE CARBOGLACE

L'augmentation du nombre de livraison de carboglace par semaine a eu l'effet escompté, la fréquence F est passée de 2 à 1. L'indice de criticité résiduel est actuellement égale à 2, son minimum.

4.5.6. Risque identifié R6 RISQUE INVERSION IMPORTANT DES ECHANTILLONS LORS DE LA MANIPULATION TECHNIQUE

Le choix de modifier la méthode d'extraction sur tubes primaires de sang total est plus sécurisant et permet un gain de temps significatif. Cependant, les premiers résultats nous révèlent qu'il est difficile d'obtenir par cette méthode une concentration à 135 ng/µL d'ADN, nécessaire à la réalisation des PCR dans l'examen de la clonalité lymphoïde. Le biologiste responsable du secteur est informé de ce problème et poursuit cette démarche en contactant de nouveaux fournisseurs.

4.5.7. Risque identifié R7 DEFAILLANCE DES THERMOCYCLEURS, POROSITE DES FILMS DE PLAQUE PCR

Les actions menées pour le risque R3 ont permis de mieux maîtriser les maintenances et le suivi du matériel en général sur le LCH et parmi ce matériel les thermocycleurs du secteur de biologie moléculaire. Les techniciens ayant pris conscience du bénéfice de maintenir et de suivre la gestion du matériel au quotidien, le nombre de panne des thermocycleurs a diminué. Par conséquent, l'indice de criticité résiduel est passé de 4 à 2.

Concernant, les évaporations des produits l'action est toujours en cours pour déterminer les causes.

4.6. Le suivi des risques : Revue de la stratégie des risques

Ce tableau AMDEC a mis en évidence la présence de risques de criticité mineure ne nécessitant pas d'action particulière selon la PG (Annexe 4). Cependant, certaines exigences de la Norme NF EN ISO 15189: 2012² et du SH REF 02⁸ ne sont pas entièrement maîtrisées sur cet examen. En effet, il manque des moyens de maîtrise pour certaines étapes analytiques (documents, CIQ, vérification de transfert de données informatique ...). J'ai donc proposé plusieurs actions préventives, qui sont en cours de réalisation. Par exemple, la mise en place d'un CIQ pour l'étape analytique d'extraction ADN, basé sur le rendement d'ADN extrait par rapport au nombre de cellules dans l'échantillon et d'un CIQ pour l'utilisation du séquenceur (CIQ fournisseur).

Dans la Lettre Qualité n°9 de juillet 2016 (Annexe 16), du GHU SLS/LRB/FW « spécial certification v2014 », est présenté le niveau de maîtrise des risques par l'HAS (figure 6). Avec Nathalie SCHNEPF, RAQ du GHU SLS/LRB/FW, nous avons décidé d'intégrer cette grille afin de hiérarchiser les risques en fonction de leur maîtrise et non plus seulement par rapport à la valeur de l'indice de criticité. Je l'ai donc appliqué au cas exposé dans ce mémoire.

✓ *Evaluation du niveau de maîtrise*

Elle s'appuie sur la conjonction de deux actions successives.

La première vise, pour chaque risque identifié, à décrire le dispositif de maîtrise, de réduction et/ou de suppression du risque au travers de différents actions. Cette description se fonde sur la mesure de l'efficacité des actions de maîtrise, réduction, suppression du risque (état d'avancement) grâce au suivi d'indicateurs et de résultats à périodicité définie (déterminée en fonction de la criticité).

La deuxième permet à l'établissement d'évaluer son niveau de maîtrise. La HAS propose à ce titre une grille d'évaluation de la maîtrise de la thématique.

Niveau	Description synthétique
Niveau 1	On sait faire face, bonne maîtrise : plans avec exercices et formations, veille, contrôle, amélioration continue
Niveau 2	On a tout prévu : plans d'action en place avec indicateurs
Niveau 3	On a organisé : organisation en place sans évaluation
Niveau 4	On est en alerte : quelques actions mais insuffisantes - veille mais sans actions
Niveau 5	On découvre le risque : aucune action en place - études en cours - actions inefficaces ...

Figure 6 : Grille des niveaux de maîtrise des risques identifiés.

Grâce à cette grille et au tableau AMDEC réalisé, les risques identifiés dans le tableau AMDEC (de R1 à R7) ont pu être hiérarchisés différemment. La figure 7 présente la hiérarchisation des risques selon le tableau AMDEC et selon la nouvelle méthode proposée par l'HAS :

Indice de criticité (Tableau AMDEC)					
F \ G					
	1	2	3	4	5
1	1	2 R5 R7	3 R3	4	5
2	2	4 R6	6 R2 R4	8	10
3	3	6	9 R1	12	15
4	4	8	12	16	20
5	5	10	15	20	25

NIVEAU DE MAITRISE DES RISQUES					
C \ N					
	1	2	3	4	5
1		R7			
2	R5				
3	R3				
4				R6	
5					
6				R2 R4	
7					
8					
9	R1				
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					

Figure 7: Hiérarchisation des risques selon leur indice de criticité résiduel d'après le tableau AMDEC vs hiérarchisation des risques selon leur valeur de l'indice de criticité et leur niveau de maîtrise.

En comparant les deux méthodes de hiérarchisation des risques identifiés on observe un ordre de prise en charge différent :

Ordre selon tableau AMDEC

- Risque R1
- Risque R2 et R4
- Risque R6
- Risque R3
- Risque R5 et R7

Ordre selon niveau de maîtrise (préconisé par l' HAS)

- Risques R2 et R4
- Risque R6

Cette nouvelle hiérarchisation de prise en charge des risques permet de les hiérarchiser en fonction de l'avancement des actions mises en place. Par exemple, d'après le tableau AMDEC, le risque R1 est toujours prioritaire alors que selon la méthode qui tient compte du niveau de maîtrise, le risque R1 n'est plus aussi important car des actions sont en cours.

Le tableau III récapitule les risques. Il permet de résumer le travail effectué et de faire un point rapide sur notre niveau de maîtrise de l'examen clonalité lymphoïde.

RISQUE IDENTIFIE	LIBELLE DU RISQUE	FREQUENCE Valeurs de 1 à 5	GRAVITE Valeurs de 1 à 5	CRITICITE	DISPOSITIF DE MAITRISE EN PLACE	NIVEAU DE MAITRISE Valeurs de 1 à 5	CONCLUSION
R1	ERREUR ENREGISTREMENT AGENT ACB	5	3	15	Action corrective 03-16-1999 et PAQ 2016 (action P1) : sensibilisation agents ACB à la saisie manuelle (P1) + MISE EN CODE BARRE SAISIE DES PRESCRIPTEURS (P16)+ INSTRUCTION SUR LA VERIFICATION SAISIES MANUELLES AU LCH (P15)+ CREATION DES PRESCRIPTIONS FORMAT SCAN ORDO (P2)	1	encore dernière action à mettre en place
R2	CONDITIONS TRANSPORT ET ACHEMINEMENT NON RESPECTEES	2	3	6	NOUVELLE FEUILLE DE DEMANDE AVEC HEURE DE PRELEVEMENT VERSUS HEURE ARRIVEE AU LABORATOIRE (P2)	4	action en cours d'élaboration
R3	PROBLEME CENTRIFUGEUSE, REFRIGERATEUR, MUSE, CONTAMINATIONS	2	3	6	VERIFICATION TABLEAU MAINTENANCE (P3) + INSTRUCTION MODE DEGRADE DU MUSE+ PROGRAMMES SUR CENTRI POUR EVITER ERREUR VITESSE	1	toutes les actions sont en place = efficacité révélée, risque maîtrisé
R4	NON RESPECT DES PROCEDURES D'ENREGISTREMENT ET DE STOCKAGE	2	3	6	MODIFICATION ORGANISATION DIMINUTION NOMBRE DE BOITE DE RANGEMENT + CREATION POSITION AUTOMATIQUE DANS GLIMS (P17)	4	action en cours d'élaboration
R5	ABSENCE DE CARBOGLACE	2	2	4	AUGMENTATION LIVRAISON A 3 FOIS PAR SEMAINE	1	action efficace
R6	RISQUE INVERSION IMPORTANT	2	2	4	MISE EN PLACE EXTRATION SUR TUBE PRIMAIRE SANG TOTAL EDTA (P18)	4	action en cours d'élaboration : tests en cours
R7	DEFAILLANCE THERMOCYCLEURS, POROSITE DES FILMS DE PLAQUE	2	2	4	ACTION CORRECTIVE 01-16-1802 SENSIBILISATION TECHNICIEN AU RESPECT MAINTENANCES + MANUEL UTILISATION THERMOCYCLEURS (P24)	1	encore dernière action à mettre en place

Tableau III: Tableau récapitulatif des risques identifiés pour l'examen de la clonalité lymphoïde

L'avantage de cette approche est donc de mieux cibler les priorités et de consolider l'amélioration continue (chapitre 4.12 de la Norme NF EN ISO 15189² et SH REF 02⁸).

5. CONCLUSION

La maîtrise des risques « a posteriori » a pu mettre en évidence des risques non négligeables sur un examen de biologie moléculaire réalisé depuis de très nombreuses années sur le laboratoire. Cet examen maîtrisé et dont les résultats des EEQ sont excellents recèle des risques qui auraient pu amener dans les années à venir des écarts lors de la visite du COFRAC. La maîtrise des risques permet de mieux appréhender, de mieux connaître la réalisation des examens effectués dans notre laboratoire et d'impliquer durablement l'ensemble du personnel dans une démarche d'amélioration continue. Ce projet fut ma première responsabilité en tant que référent qualité structure, il m'a permis à la fois de réaliser un travail transversal et de structure en rédigeant le paragraphe sur la maîtrise des risques de la PG Validation et vérification des méthodes en biologie médicale et de me l'approprier en le réalisant dans ma propre structure. Pour le réaliser, j'ai dû mettre en place divers outils qui m'ont été enseignés durant cette année : tableau AMDEC, suivi d'IQ, création de logigramme... et de mieux appréhender l'utilisation de Kalilab.

La méthode de travail qui en résulte sera étendue et affectée à l'ensemble des activités du LCH.

Sur le plan personnel, l'année qui vient de s'écouler a été très enrichissante. D'abord en tant que technicienne de laboratoire, puis en tant que référente qualité structure j'ai pu apprendre énormément auprès de personnes très compétentes dans leur domaine. Aujourd'hui, je suis convaincue que la qualité est l'affaire de tous et que seul le travail d'équipe portera ses fruits.


6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

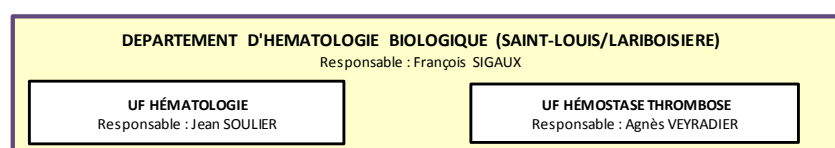
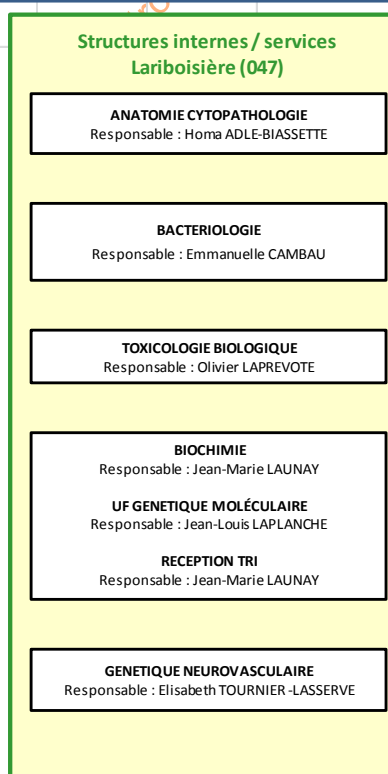
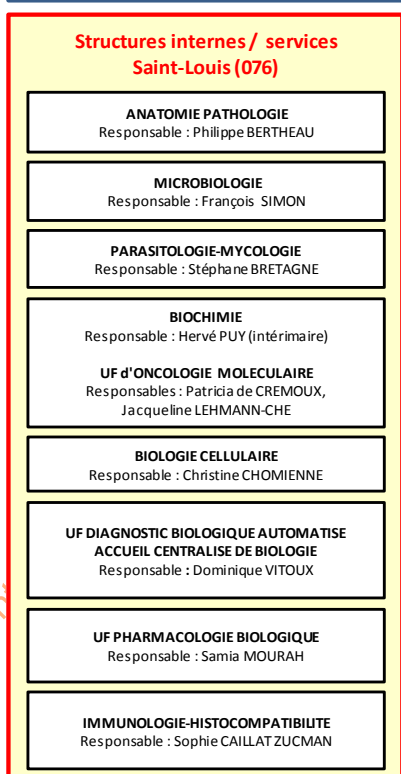
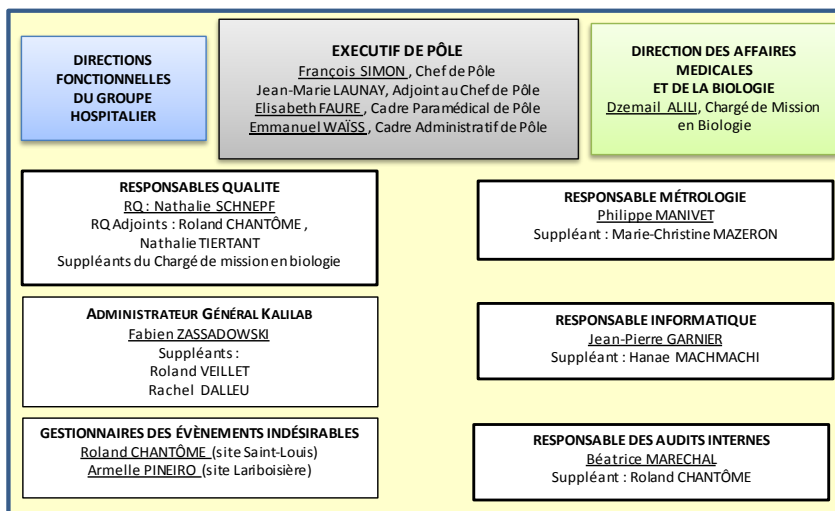
1. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. Ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010, NOR: SASX0927179R – Journal Officiel de la République Française, 15/01/2010.
2. Norme NF EN ISO 15189 : 2012 - Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence, AFNOR– Décembre 2012.
3. SH GTA 04 Révision 01, Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes de biologie médicale, Révision 01 – COFRAC – Date de publication : 09/04/2015.
4. SH FORM 43 Révision 01– FICHE TYPE – Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale, Révision 01 – COFRAC– Date de publication : 09/04/2015.
5. Vassault A. Maîtrise des risques dans un Laboratoire de Biologie Médicale. DU Assurance Qualité au Laboratoire De Biologie Médicale (Paris 6), Session 2015-2016, module théorique 3 (11-12 janvier 2016).
6. Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de génétique somatique des hémopathies malignes– Flandrin-Gresta P, Cornillet P, Hayette S, Gachard N, Tondeur S, Mauté C, Cayuela JM Pour le Groupe des biologistes moléculaires des hémopathies malignes (GBMHM) – Annales de Biologie Clinique de 2015 ; 73(5) : 595-630 doi:10.1684/abc.2015.1067.
7. La convention nationale parue au JO du 06/05/2012 (articles 27 et 37 § 2). Articles 27 et 37.2 de l'arrêté du 4 mai 2012 portant approbation de la convention nationale organisant les rapports entre les pharmaciens titulaires d'officine et l'assurance maladie, NOR : ETSS1220861A – Journal Officiel de la République Française, 06/05/2012.
8. SH REF 02 Révision 05 – Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189, Révision 05 – COFRAC – Date de publication : 10/06/2016

7. ANNEXES

Annexe 01	p36
Annexe 02	p37
Annexe 03	p38
Annexe 04	p39
Annexe 05	p52
Annexe 06	p56
Annexe 07	p57
Annexe 08	p61
Annexe 09	p62
Annexe 10	p63
Annexe 11	p64
Annexe 12	p65
Annexe 13	p67
Annexe 14	p69
Annexe 15	p88
Annexe 16	p89

Annexe 2

	Organigramme fonctionnel du Laboratoire de biologie médicale du pôle B2P (Biologie- Physiologie – Pathologie) Pôle 108	Mise à jour 18/01/2016
---	---	---------------------------



Ce document appartient au laboratoire du pôle B2P (GH Lariboisière- Saint-Louis-Fernand Widal). Il ne peut être ni reproduit, ni imprimé, ni modifié, ni communiqué à des tiers sans son autorisation. Seule la version électronique du document référencé dans le logiciel Kalilab est maîtrisée et constitue la version électronique de référence.

Annexe 3

Planning d'Audits internes du LBM B2P : mai 2016 à mai 2017

DATE de l'AUDIT	REFERENTIEL(S)	EVALUATION			
		Type d'évaluation	Auditeurs	Champ d'audit	Durée jour(s)
3 et 4 Mai 2016	- Norme COFRAC NF EN ISO 15189 et Recueil d'exigences spécifiques - SH REF 02 -SH REF 08	Audit interne externalisé	Auditeur externe LBM Biologiste CH Poissy (DU auditeur en biologie médicale - Paris V)	Audit Management + Technique Gestion de la portée flexible Génétique neuro vasculaire, Lariboisière	2 jours
Du 15 Juin 2016 au 04 novembre 2016	- Norme COFRAC NF EN ISO 15189 et Recueil d'exigences spécifiques - SH REF 02	Audits internes	Auditeurs internes LBM	Processus support /Processus informatique (S6)/ Maintenances équipements et logiciels. Toutes les structures du LBM	4 heures
Janvier 2017 à mai 2017	- Norme COFRAC NF EN ISO 15189 et Recueil d'exigences spécifiques - SH REF 02 - SH REF 08	Audits internes et/ou audits internes externalisés	Auditeurs internes LBM et / ou société CQS	Audit du poste de travail (technique + management) des structures SLF/ Hématologie/SLS, SLV/ Hématologie/ LRB, SLB/Anapath /SLS, SLN/ Histocompatibilité/SLS, SLQ/ Anapath/ LRB, SLT/ Biochimie / LRB, SLU /centre de tri /LRB Audit de la portée flexible des structures SLF/ Hématologie/SLS, SLV/ Hématologie/ LRB et SLT/ Biochimie / LRB. Cf plan d'action de l'écart n°16 d'Avril 2016 (fiche SLA-05-16-094)	1 journée
04 JUIN 2016	Norme COFRAC NF EN ISO 15189 et Recueil d'exigences spécifiques - SH REF 02 - SH REF 08	Audit interne externalisé	Auditeurs externes LBM (équipe d'auditeurs de l'HEGP)	Audit du poste de travail : « mutation JAK2 V617F » Biologie Cellulaire, Saint-Louis	½ journée

Ce document appartient au laboratoire du pôle B2P (GH Lariboisière- Saint-Louis-Fernand Widal). Il ne peut être ni reproduit, ni imprimé, ni modifié, ni communiqué à des tiers sans son autorisation. Seule la version électronique du document référencé dans le logiciel KaliLab est maîtrisée et constitue la version électronique de référence.

	<h3>Identifier et maîtriser les risques du laboratoire B2P</h3>	Page 1 sur 13
---	---	---------------

1. OBJET DE LA PROCÉDURE

La présente procédure décrit les dispositions prises par le laboratoire B2P (LBM B2P) pour assurer l'identification et la maîtrise des risques inhérents à chacun de ses processus. Elle définit les responsabilités au sein du laboratoire en termes de contrôles nécessaires à l'évaluation de défaillances potentielles pouvant avoir un impact sur la qualité des résultats des examens de biologie médicale.

2. DOMAINE D'APPLICATION

Cette procédure s'applique :

- au biologiste-responsable du LBM B2P ;
- au responsable qualité et responsables qualité adjoints ;
- aux responsables informatique et métrologie du laboratoire ;
- aux responsables des structures (chefs de services) ;
- aux référents qualité, informatique, métrologie des structures ;
- aux pilotes de processus et de sous-processus ;
- aux référents hygiène des structures ;
- aux cadres des structures,
- aux biologistes,
- au responsable des audits internes et aux auditeurs internes.

3. DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE ET DOCUMENTS ASSOCIÉS

3.1. Documents de référence

NORME NF EN ISO 15189 : 2012 et son SH REF 02 associé

SH GTA 01 –rév.01 « Guide technique d'accréditation en biologie médicale »

SH GTA 04 – rév.01 « Guide technique d'accréditation de vérification (portée a) / validation (portée b) des méthodes en biologie médicale »

3.2. Documents associés

Les documents associés à cette procédure sont liés informatiquement dans KaliLab et sont visibles dans l'onglet « Informations supplémentaires », rubrique « Documents joints » (version 15.00 du logiciel).

4. DÉFINITIONS

Accident : événement ou suite d'événements néfastes, entraînant des dommages notamment corporels, parfois mortels.

Détection : évaluation de la probabilité que les contrôles détecteront la cause d'une défaillance ou la défaillance elle-même.

Effet : conséquence défavorable que les personnes pourraient subir

Événement indésirable : changement non souhaité affectant le déroulement d'un processus

Incident : événement dégradant n'entraînant pas de dommages corporels, mais susceptible d'être considérés comme précurseur d'accident

Non-conformité : non-satisfaction à une exigence spécifiée.

Occurrence : évaluation de l'apparition d'une défaillance particulière.

Sévérité (gravité) : évaluation de l'importance de l'effet de la défaillance potentielle.

5. EXIGENCES REGLEMENTAIRES ET NORMATIVES

5.1. Norme NF EN ISO 15189 : 2012

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.

5.2. Document SH GTA 01

4.14.6 Gestion des risques

Pour respecter les exigences normatives et en particulier celles du § 4.14.6 de la norme NF EN ISO 15189, le laboratoire doit tout mettre en œuvre pour réduire et/ou éliminer les risques potentiels identifiés. La gestion des risques de chaque processus comporte plusieurs étapes :

- l'identification des risques potentiels
- l'estimation du risque (gravité et fréquence)
- la maîtrise du risque

Les risques potentiels dans un laboratoire de biologie médicale sont par exemple de fournir des résultats trop tardifs, inexacts ou accompagnés d'une interprétation erronée pouvant avoir un impact sur le diagnostic ou le traitement médical.

L'identification des risques peut être effectuée à partir de l'étude de l'étendue des non-conformités et des réclamations. Les risques potentiels peuvent être identifiés soit à partir des analyses de tendance (contrôles qualité, suivi métrologique, ...), soit à partir de l'étude minutieuse des processus permettant l'identification des étapes sensibles lors de leur réalisation (norme ISO/TS 22367 « Laboratoires médicaux -- Réduction d'erreurs par gestion du risque et amélioration continue »).

L'estimation du risque permet de hiérarchiser / prioriser les actions de maîtrise à mettre en place. Le laboratoire sera donc amené à établir une échelle de criticité tenant compte de la fréquence et de la gravité des événements indésirables afin de les maîtriser (méthode d'analyse de type AMDEC, HACCP, ...). Suite aux actions, le laboratoire peut être amené, si nécessaire, à modifier les processus ou procédures associées. Les actions mises en place sont tracées (sous forme d'actions préventives, plans d'action ...).

La gestion des risques est un élément d'entrée de la revue de direction.

5.3. Document SH GTA 01

8 GESTION DES RISQUES

La maîtrise des risques dans le cadre de la vérification / validation de méthodes consistera à identifier les critères de qualité de la méthode et les étapes critiques de la phase analytique à maîtriser. La méthode des 5M pourra être utilisée en envisageant tous les points critiques concernant les locaux et conditions environnementales (agencement, température, ...), les réactifs (préparation, variations lot à lot et stabilité), les équipements (respect des modes opératoires et instructions fournisseur, maintenance, étalonnage, raccordement métrologique), le personnel (formation, évaluation des compétences), la méthode (critères de performance : fidélité, justesse, incertitudes, interférences...), sans négliger les critères de qualité des échantillons analysés.

6. RISQUES ET GESTION DES RISQUES EN LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE

6.1. Qu'est-ce qu'un risque ?

Un risque est une situation non souhaitée ayant des conséquences négatives résultant de la survenue d'un ou plusieurs événements dont l'occurrence est incertaine (ANAES). Il s'agit d'un événement entravant la mission qui consiste à assurer des soins de qualité aux personnes en toute sécurité. Dans un laboratoire de biologie médicale, le risque potentiel est de fournir des résultats erronés, trop tardifs, inexacts ou accompagnés d'une interprétation inappropriée pouvant avoir un impact sur le diagnostic ou le traitement médical.

6.2. Qui est concerné ?

- Les patients, prescripteurs et autres clients du LBM ;
- Le personnel du LBM;
- L'environnement.

6.3. Quels sont les risques encourus ?

Il existe deux grands types de risques : les risques réglementés et les risques non réglementés.

6.3.1. Les risques « réglementés »

Les risques réglementés sont liés à l'incendie, à la construction, au risque infectieux, chimique, radioactif, aux dispositifs, etc...

Ces risques sont gérés par les établissements dans le cadre d'une sécurité réglementaire organisée (ex : CLIN, vigilances...). Il s'agit d'une étape légale indispensable. Une gestion optimale de ces risques réglementés n'entraîne pas pour autant l'absence de risque car ils ne représentent que 4% des risques d'un l'établissement.

Les vigilances sanitaires permettent de surveiller les risques d'incidents ou d'effets indésirables liés aux produits de santé après leur mise sur le marché. Elles concourent à assurer une veille sanitaire par un processus continu de recueil, d'enregistrement, d'identification, de traitement, d'évaluation et d'investigation des événements indésirables liés à l'utilisation des produits de santé afin d'optimiser leur sécurité d'emploi.

La loi pose notamment le principe général de déclaration par les professionnels et les établissements de santé des différents types d'événements indésirables. Déclarer les effets indésirables et les incidents constatés permet d'appréhender au plus vite le profil de sécurité d'un produit, et de renforcer la sécurité sanitaire des patients, et d'améliorer les pratiques de gestion du risque.

Le laboratoire peut être confronté aux vigilances suivantes :

- **Identitovigilance** : système de surveillance et de gestion des risques et erreurs liés à l'identification des patients ;
- **Infectiovigilance** : ensemble des mesures spécifiques de surveillance, de prévention et de maîtrise des infections nosocomiales ;
- **Matérovigilance** : elle a pour objet la surveillance des incidents ou des risques d'incidents résultant de l'utilisation des dispositifs médicaux. On entend par dispositif médical tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels intervenant dans son fonctionnement, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins médicales et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmaceutiques ou immunologiques ni par métabolisme, mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens ;

- **Radioprotection** : elle désigne l'ensemble des mesures destinées à prévenir ou à réduire les effets des rayons ionisants afin de protéger les populations et les travailleurs qui y sont exposés. Ces mesures ne se limitent pas à la protection des personnes, elles tiennent aussi en compte l'environnement dans lequel elles évoluent ;
- **Réactovigilance** : elle consiste en la surveillance et l'évaluation des incidents et risques d'incidents résultant de l'utilisation d'un dispositif médical de diagnostic in vitro (DMDIV) ;
- **Toxicovigilance** : elle a pour objet la surveillance des effets toxiques pour l'homme d'un produit, d'une substance ou d'une pollution aux fins de mener des actions d'alerte, de prévention, de formation et d'information.

Sur le GH Saint-Louis / Lariboisière / Fernand Widal, une liste de vigilants a été établie pour réagir au plus vite à tout évènement indésirable grave concernant les vigilances (voir document associé à cette procédure générale).

6.3.2. Les risques « non réglementés »

Oubli, maladresse, qualification incertaine, erreur, accident (chute), recopiage, transcription verbale, malveillance, non encadrement des juniors, absence de protocole, procédure non respectée, défaut de consentement, suivi défectueux, charge de travail, réactifs périmés...

Ces risques ont un impact sur la qualité des résultats : variations pré-analytiques, per-analytiques, post-analytiques

6.4. Gestion des risques

6.4.1 Généralités

La gestion des risques consiste à maîtriser les risques avérés et prévenir les risques potentiels. Elle vise à réduire les risques de survenue d'événements indésirables ou d'accidents concernant les patients ou le personnel. Elle permet à l'établissement de continuer à fonctionner.

L'évaluation et la maîtrise des risques fait partie intégrante des responsabilités d'un directeur de laboratoire. Par exemple, l'analyse des risques d'erreurs concernant les résultats d'examen de biologie médicale fournis, potentiellement délétères pour la prise en charge des patients, doit avoir été conduite et les mesures nécessaires à leur prévention mises en œuvre.

Pour prévenir les risques en laboratoire de biologie médicale, deux approches sont possibles :

- La prévention primaire qui est faite **a priori** (ou proactive) : elle permet de se demander ce qui pourrait mal se passer et d'anticiper au maximum la survenue d'événements indésirables ;
- La prévention secondaire, faite **a posteriori** (ou réactive) : elle permet, en présence d'événements indésirables qui sont survenus, de s'interroger sur ce qu'il s'est passé.

Les deux approches sont à combiner car il est important d'analyser le passé (approche *a posteriori*), mais aussi d'identifier des risques potentiels (approche *a priori*).

6.4.2 Les différentes étapes de la gestion des risques

La gestion des risques dans un laboratoire de biologie médicale comporte plusieurs étapes représentées dans la figure 1.

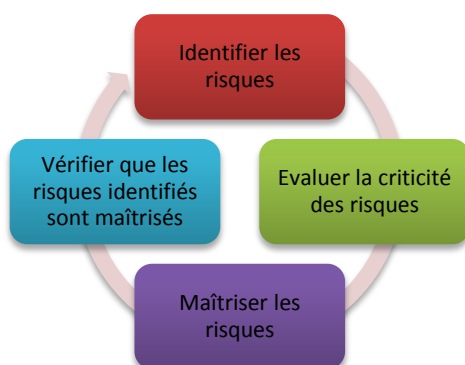


Figure 1 : Les 4 étapes de la gestion des risques.

L'efficacité de la prévention doit être évaluée par l'inventaire périodique des risques résiduels, voire de nouveaux risques à prendre en compte, et les stratégies de prévention régulièrement réadaptés à l'évolution de ces données (application du principe d'amélioration continue au domaine de la prévention des risques).

6.5. Identification des risques dans un laboratoire de biologie médicale

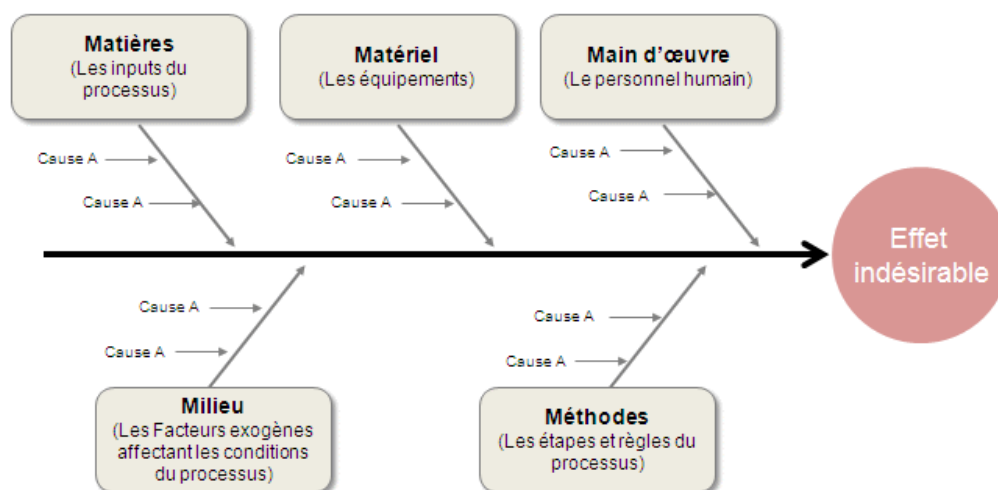
Les risques et leurs origines peuvent être identifiés par la méthode des 5M, puis leur criticité est évaluée par la méthode AMDEC.

Les risques potentiels peuvent être décrits à l'aide du graphe d'ISHIKAWA (méthode des 5 M) :

- **Main d'œuvre** : erreur humaine, personne incompétente ou pas suffisamment formée, personne non habilitée ;
- **Méthode** : inexistante, documents pas adaptés, responsabilités mal définies (la façon de faire, orale et écrite, procédure, instruction...) ;
- **Matériel** : déréglé, endommagé, non adapté, maintenances non effectuées (équipement, machine, petit matériaux, systèmes d'information,...) ;
- **Matière** : non conforme, manquant, pas adapté (consommable, échantillon biologique,...) ;
- **Milieu** : dégradé, non adapté (environnement physique et humain, conditions de travail).

On peut ajouter un 6ème « M » à l'analyse pour Management

Diagramme d'Ishikawa



- Evaluer la criticité des risques

L'évaluation des risques passe par la détermination d'un indice de criticité.

L'indice de **Criticité** d'un risque (C) est le produit de sa **Fréquence** (F) et de sa **Gravité** (G) :

$$C = F \times G.$$

- Maîtriser les risques

L'indice de criticité ainsi obtenu permet de hiérarchiser et de prioriser les risques pour lesquels il est nécessaire de mettre en place un plan d'actions.

- Vérifier que les risques identifiés sont maîtrisés.

L'indice de criticité ainsi obtenu permettra de hiérarchiser les risques et de prioriser les plans d'actions en découlant.

En cas d'évaluation a priori, la fréquence est remplacée par la **Probabilité d'Occurrence**. Pour simplifier, nous appellerons aussi cette Probabilité d'occurrence (F).

L'efficacité de la prévention doit être évaluée par l'inventaire périodique des risques résiduels, voire de nouveaux risques à prendre en compte, et les stratégies de prévention régulièrement réadaptés à l'évolution de ces données (application du principe d'amélioration continue au domaine de la prévention des risques).

7. GESTION DES RISQUES ET VIGILANCES AU LABORATOIRE B2P

L'étude des risques au laboratoire s'inscrit dans le cadre de la démarche qualité exigée par la norme NF EN ISO 15189 : 2012 (voir § 5 de cette procédure). Elle permet de ne rien négliger, d'anticiper d'éventuelles défaillances qui pourraient conduire à une incapacité partielle voire totale de produire un résultat d'examen fiable et de qualité. Pour répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15189, l'analyse des risques doit se faire à plusieurs niveaux :

- A l'échelle du laboratoire. Pour chaque processus de la cartographie des processus du LBM B2P, les risques doivent ainsi être identifiés, leur criticité évaluée et pour les risques les plus critiques, des actions de maîtrise doivent être proposées et suivies.
- A l'échelle des structures où les risques doivent également être identifiés, par exemple par l'analyse des non-conformités. La gestion des risques du processus P2-Analytique fait désormais partie intégrante des dossiers de vérification / validation de méthodes (voir § 5.3 et 8).

7.1. Identification des risques de chaque processus

De nombreuses situations permettent d'identifier les risques a priori ou à posteriori. Quelques exemples (listes non exhaustives) sont donnés ci-dessous.

7.1.1. Situations / sources permettant d'identifier un risque a priori

L'identification des risques est faite avant que ceux-ci n'aient eu lieu. Cette évaluation peut provenir de sources diverses :

- Ecart Cofrac obtenu par un autre LBM ;
- Congrès ;
- Réunion interne ou externe au LBM B2P ;
- Formation interne ou externe au LBM B2P ;
- Etude minutieuse d'un processus ;
- Suggestions du personnel ;
- Autres.

7.1.2. Situations / sources permettant d'identifier un risque à posteriori

Elles sont multiples :

- Non-conformités ;
- Réclamations et événements indésirables ;
- Audits internes et externes ;
- Document Unique des risques professionnels ;
- Accidents du travail ;
- Indicateurs qualité ;
- Enquêtes de satisfaction ;
- Autres.

7.2. Evaluation de la criticité des risques et mise en place d'actions correctives et/ou préventives

Pour chaque risque, il convient d'évaluer :

- La fréquence ou probabilité d'occurrence (Tableau 1) ;
- La gravité (Tableau 2) ;

Une cotation de 1 à 5 est attribuée à chaque paramètre.

Fréquence	Signification	Cotation
Très rare	Moins de 1 fois par an	1
Rare	1 à 3 fois par an	2
Peu fréquente	Au moins 1 fois par trimestre (4 à 12 fois par an)	3
Fréquente	Au moins 1 fois par mois (12 à 50 fois par an)	4
Très fréquente	Au moins 1 fois par semaine (> 50 fois par an)	5

Tableau 1 : détermination de la fréquence d'un risque

Gravité	Signification	Cotation
Mineure	Sans impact sur la prise en charge du patient ou sur le rendu des résultats. Sans effet sur la performance, les processus, la poursuite de l'activité ou la sécurité. Incident du travail	1
Significative	Conséquences modérées sur la prise en charge du patient ou sur le rendu des résultats (retard,...), mais sans conséquence grave pour le patient. Effet ne remettant pas en cause le fonctionnement du processus. Atteinte superficielle, sentiment d'insécurité. Dégradations mineures Accident du travail sans arrêt	2
Grave	Conséquences significatives sur la prise en charge, surveillance renforcée, erreur sur le rendu de résultat Arrêt temporaire de l'activité avec solution de remplacement Arrêt de travail \leq 21jours	3
Critique	Conséquences graves, pronostic vital du patient engagé, risque de séquelles Dégradation permanente de l'activité avec impact sur les performances et la sécurité Dégradation de matériel de valeur Arrêt de travail $>$ 21jours	4
Très critique (ou catastrophique)	Décès, séquelles graves irréversibles Arrêt de l'activité sans solution de remplacement Dégradation majeure ne permettant pas de réaliser l'activité Arrêt du travail entraînant le décès ou des séquelles graves irréversibles	5

Tableau 2 : détermination de la gravité d'un risque.

La criticité C du risque est alors égale à :

C = cotation fréquence F x cotation gravité G

Selon sa valeur, cette criticité peut être faible (1 à < 4), modérée (4 à < 10) ou élevée (≥ 10) (Figure 3).

G \ F	1	2	3	4	5
1	1	2	3	4	5
2	2	4	6	8	10
3	3	6	9	12	15
4	4	8	12	16	20
5	5	10	15	20	25

Figure 2 : Criticité d'un risque.

Selon sa valeur, la criticité d'un risque peut être faible (en vert), modérée (en orange) ou élevée (en rouge).

Pour les risques applicables à plusieurs structures, il convient d'estimer l'indice de criticité du risque dans chaque structure concernée et de considérer que la criticité correspond à l'indice de criticité le plus élevé de l'ensemble de ces structures.

7.3. Analyser la nécessité de mettre en place des actions de maîtrise

Tout risque présentant une cotation $C \geq 10$ ou une gravité $G = 5$ doit obligatoirement faire l'objet d'une action curative immédiate pour les risques a posteriori et de la mise en œuvre d'un plan d'action (actions correctives et/ou préventives) dans les délais les plus brefs (Tableau 3).

Gravité et criticité	Nécessité de mettre en place des actions de maîtrise (actions curatives / correctives / préventives) et délai de cette mise en place
Gravité 1 à 4 et criticité faible ($1 < 4$)	Risque acceptable ne nécessitant aucune action particulière.
Gravité 1 à 4 et criticité modérée ($4 < 10$)	Risque indésirable. En fonction du risque identifié, une action / un plan d'action peut être souhaitable, mais la mise en place de cette ces actions n'est pas urgente (dans les 6 mois).
Gravité égale à 5 ou criticité élevée (≥ 10)	Risque inacceptable nécessitant obligatoirement la mise en œuvre d'une action ou d'un plan d'action de façon urgente (actions curatives immédiates pour les risques a postériori, puis correctives dont la mise en œuvre ne doit pas excéder 3 mois).

Tableau 3 : Criticité et nécessité de mettre en place des actions correctives et/ou préventives

7.4. Vérifier que les actions mises en place ont été efficaces

A la fin du délai du plan d'action pour les risques à criticité modérée ou élevée, ou au moins une fois par an pour tous les risques, quelque-soit la criticité initiale, il convient de faire un nouveau calcul de l'indice de criticité. Ce bilan doit être fait pendant la revue annuelle de processus, en amont de la revue de direction. Utiliser pour cela le support d'évaluation annuelle de la Gestion des Risques.

Ce bilan doit comporter les informations suivantes : date du bilan, état de la criticité du risque lors de ce bilan et conclusion sur la maîtrise du risque : « **oui** » si le risque est maîtrisé, « **non** » si le risque n'est pas maîtrisé, « **Partielle** » si la maîtrise est partielle, « **Obsolète** » si le risque a disparu. Pour un suivi plus facile, les cases « Criticité » sont colorées en vert quand la criticité est faible ($1 < 4$), en orange quand elle est modérée ($4 < 10$) ou en rouge quand elle est élevée (≥ 10).




Ensuite, à l'aide du tableau n°4, conclure sur la maîtrise du risque.

Les pilotes de processus/sous-processus initient et guident la description des risques inhérents à leur processus mais il est du devoir de chaque membre du personnel de leur faire part d'un risque qu'il aurait identifié lors d'une situation / source particulière.

C lors du bilan annuel de GDR	Faible	Modérée	Elevée
C à l'identification	Faible	Modérée	Elevée
Faible	Risque maîtrisé	Risque non maîtrisé	Risque non maîtrisé
Modérée	Risque maîtrisé	Risque non maîtrisé	Risque non maîtrisé
Elevée	Risque maîtrisé	Risque dont la maîtrise est partielle	Risque non maîtrisé

Tableau 4 : Maîtrise du risque

Légende :


	Risque maîtrisé
	Risque dont la maîtrise est partielle
	Risque non maîtrisé

**8. ASSURER LA TRACABILITE DE LA GESTION DES RISQUES DU
 LABORATOIRE B2P DANS LE LOGICIEL KALILAB**

Les risques identifiés seront répertoriés dans une fiche d'identification des risques (une fiche par risque) qui est amenée à évoluer très régulièrement, **au minimum 1 fois par an**. Pour permettre les mises à jour régulières de ces risques, on utilisera le module des fiches qualité dans KaliLab, permettant d'identifier les différents risques rencontrés et d'y associer les plans d'actions correspondants si nécessaires.

Annexe 5 :

Paragraphe 1.1.2 : Analyse des risques de la procédure générale SLL-B2P-ANA-PG-005
Validation et vérification des méthodes en biologie médicale

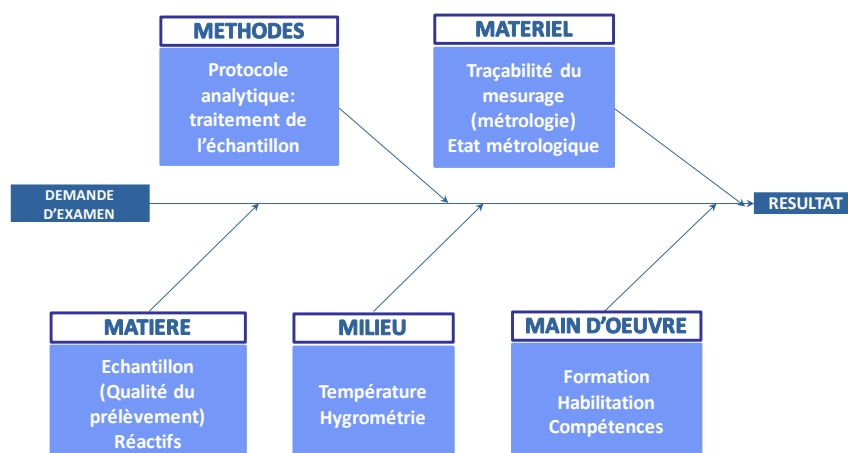
	Validation et vérification des méthodes en biologie médicale	Page 3 sur 8
---	---	--------------

1.1.1 Processus analytique

Ensemble des méthodes permettant l'obtention des résultats d'examens aboutissant au diagnostic biologique. Les examens de biologie médicale peuvent être des processus **simples** ou des processus **complexes** constitués par l'enchaînement de plusieurs méthodes ou étapes.

1.1.2 Analyse des risques

L'analyse des risques s'appuie principalement sur la méthode des 5 M. Elle est réalisée au début du processus de validation, sous la responsabilité du biologiste et doit être archivée dans le dossier de preuve de la validation de la méthode. L'amélioration continue doit être faite également sur l'évaluation des risques, donc l'efficacité de la maîtrise des risques doit être évaluée et adapter régulièrement selon l'apparition ou la disparition de nouveaux risques.



Les risques doivent être évalués par une échelle de criticité (Indice de Criticité = C), selon la procédure générale **SLL-B2P-QUAL-PG-005 Identifier et maîtriser les risques du laboratoire B2P** :

L'indice de Criticité d'un risque (C) est le produit de sa Fréquence (F) et de sa Gravité (G) :

$$C = F \times G$$

Cependant, l'analyse de risque étant réalisée « **a priori** », la fréquence F est donc égale à 1, d'où l'échelle de criticité pour remplir la maîtrise de risque du **SH-FORM 43** est : **C = G** soit une échelle de **1 à 5**.

RAPPEL de la cotation de la gravité :

Gravité	Signification	Cotation
Mineure	Sans impact sur la prise en charge du patient ou sur le rendu des résultats. Sans effet sur la performance, les processus, la poursuite de l'activité ou la sécurité. Incident du travail	1
Significative	Conséquences modérées sur la prise en charge du patient ou sur le rendu des résultats (retard,...), mais sans conséquence grave pour le patient. Effet ne remettant pas en cause le fonctionnement du processus. Atteinte superficielle, sentiment d'insécurité. Dégradations mineures Accident du travail sans arrêt	2
Grave	Conséquences significatives sur la prise en charge, surveillance renforcée, erreur sur le rendu de résultat Arrêt temporaire de l'activité avec solution de remplacement Arrêt de travail ≤ 21jours	3
Critique	Conséquences graves, pronostic vital du patient engagé, risque de séquelles Dégradation permanente de l'activité avec impact sur les performances et la sécurité Dégradation de matériel de valeur Arrêt de travail > 21jours	4
Très critique (ou catastrophique)	Décès, séquelles graves irréversibles Arrêt de l'activité sans solution de remplacement Dégradation majeure ne permettant pas de réaliser l'activité Arrêt du travail entraînant le décès ou des séquelles graves irréversibles	5

Si l'analyse de risque est réalisée « **a posteriori** », il est préférable de réaliser un tableau AMDEC qui tient compte de la fréquence plutôt que le tableau pré-rempli du SH-FORM 43.

PROCESSUS	SM	DEFAILLANCE	MODE DE DEFAILLANCE	INITIALE			MOYENS DE MAITRISE EXISTANTS	MODE DE DETECTION	DOCUMENTS ASSOCIES	ACTIONS CORRECTIVES/PREVENTIVES	INDICATEUR QUALITE	RESIDUELLE		
				F	G	C						F2	G2	C2
P R E A N A L Y T I Q U E		PROBLEME IDENTITE	ABSENCE OU MAUVAISE IDENTIFICATION PRELEVEMENT	1	5	5	IDENTITTO VIGILANCE	VERIFICATION IDENTITE	INSTRUCTION PRELEVEMENT	DEMANDE IDENTITE PATIENT + ETIQUETTES	NOMBRE TUBE BIEN ETIQUETE	1	2	2
		MAUVAIS CONTENANT	MAUVAIS ANTICOAGULANT EXAMEN NON REALISABLE	1	2	2	CATALOGUE DES EXAMENS							0
	MATIERE	PROBLEME PRETRAITEMENT	ERREUR TECHNIQUE	1	2	2	DOCUMENTS		INSTRUCTION TRAVAIL					0
		PROBLEME ACCUEIL PATIENT	PATIENT MECONTANT	5	1	5	PROCEDURE D'ACCUEIL	NOMBRE RECLAMATION	QUESTIONNAIRE SATISFACTION	MODIFICATION INTERVALLE PRISE DE RENDEZ-VOUS	% CLIENT SATISFAIT	1	1	1
		PROBLEME CONDITIONS DE PRELEVEMENT	MAUVAISE ORDRE DES TUBES OU ABSENCE DE PURGE			0	MANUEL DE PRELEVEMENT	RESULTATS						0
		CONDITIONS ACHEMINEMENT NON RESPECTEES	PERTE ECHANTILLONS			0	VERIFICATION DE LA CONFORMITE A LA RECEPTION							0
		NON RESPECT DES PROCEDURES D'ENREGISTREMENT				0								0
		PERSONNEL NON FORME				0								0
	MAIN D'ŒUVRE	PERSONNEL NON HABILE				0								0
		MATRICE DES COMPETENCES INCOMPLETE				0								0
		MANQUE PERSONNEL				0								0
		MAUVAISES CONDITIONS CONSERVATION DES ECHANTILLONS				0								0
	MILIEU	MAUVAISE CONDITION DE CONSERVATION REACTIF PRE-TRAITEMENT				0								0
		MOYENS NON ADAPTES				0								0
		LIMITES NON CONNUES				0								0
	METHODE	MAUVAIS CHOIX				0								0
		ORIENTATION ERRONEE				0								0
		PANNE INFORMATIQUE				0								0
		PANNE PNEUMATIQUE				0								0
	MATERIEL	PANNE FRIGO/CONGELO STOCKAGE TEMPORAIRE AVANT TRAITEMENT				0								0
	PROBLEME ETIQUETTES				0								0	
A N A L Y T I Q U E		PROBLEME IDENTITE				0								0
		PRETRAITEMENT				0								0
	MATIERE	INTERFERENCES NON CONNUES				0								0
		VOLUME INSUFFISANT				0								0
		PROBLEME CENTRIFUGATION				0								0
		PERTE DES BONNES PRATIQUES				0								0
		ACCIDENT CHIMIQUE				0								0
	MAIN D'ŒUVRE	AES				0								0
		MAUVAISES CONDITIONS DE TRAVAIL				0								0
		PROBLEME ORGANISATIONEL				0								0
		MAUVAISE CONSERVATION REACTIF				0								0
		ECHANTILLONS DEGRADES				0								0
	MILIEU	MAUVAISE DILUTION				0								0
		LIMITES DE DETECTION NON CONNUE				0	EEQ/CIQ							0
		INTERFERENCES NON CONNUES				0								0
	METHODE	LINEARITE NON ADAPTEE				0								0
		CAUSES INCERTITUDE DE MESURE				0	EEQ/CIQ							0
		REACTIFS PERIMES OU MAL STOCKES				0								0
		MAUVAISE RECONSTITUTION				0								0
	MATERIEL	CONTAMINATION				0								0
	PROBLEME /PANNE MATERIEL				0								0	
	MAUVAISE SURVEILLANCE DES DERIVES				0	EEQ							0	
P O S T A N A L Y T I Q U E		ERREUR IDENTITE				0								0
		RETARD RENDU RESULTATS				0								0
	MATIERE	RESULTATS NON ENVOYES				0								0
						0								0
		ERREUR SAISIE				0								0
		MODIFICATION COMPTE-RENDU NON MAITRISEE				0								0
	MAIN D'ŒUVRE	COMPTE RENDU MAUVAIS DESTINATAIRE				0								0
		MAUVAISE INTERPRETATION				0								0
		PROBLEME ARCHIVAGE DONNEES				0								0
	MILIEU	PROBLEME DE CONSERVATION ECHANTILLONS				0								0
	PAS VERIFICATION SAISIE MANUELLE				0								0	
METHODE	MAUVAIS CIQ	VALUTATION FAITE AVEC ABSENCE DE CIQ OU CIQ HORS BORNES				0							0	
	PROBLEME TRANSMISSION				0								0	
MATERIEL	PANNE INFORMATIQUE				0								0	
	PANNE CONGELO/FRIGO STOCKAGE				0								0	

Figure 1 : Exemple de tableau AMDEC

Dans Kalilab à partir de la V15 : La maîtrise de risque a été ajoutée à la validation de méthodes

Avancement de l'évaluation de la méthode

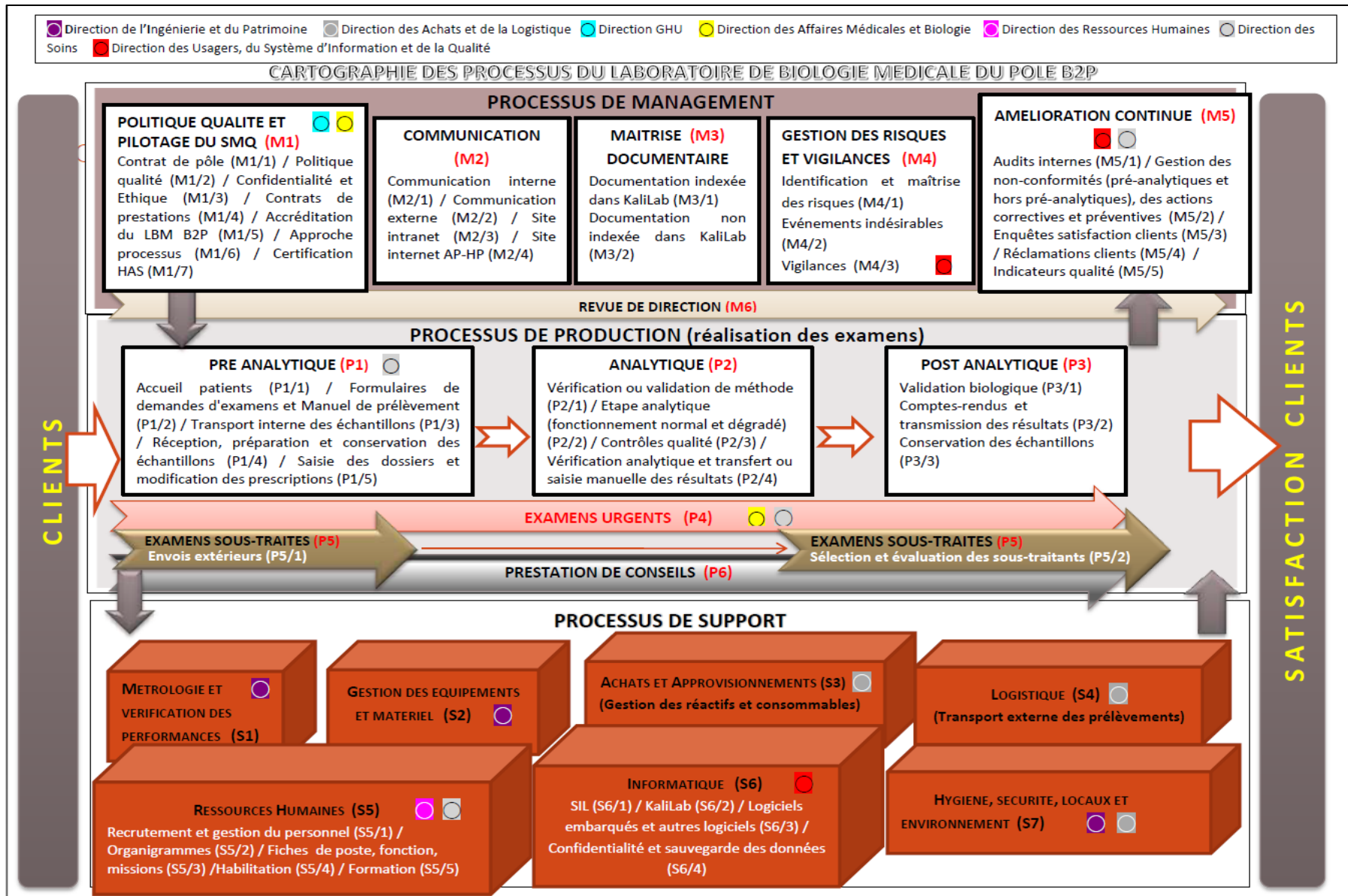
La case à cocher permet d'activer ou non le suivi de l'étape


Récapitulatif	
Général	<input type="checkbox"/>
Description de la méthode	<input type="checkbox"/>
Mise en œuvre	<input type="checkbox"/>
Maitrise des risques	<input type="checkbox"/>
Evaluation des performances	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Répétabilité	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Fidélité intermédiaire	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Variabilité inter-opérateurs	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Justesse	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Exactitude	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Sensibilité et spécificité analytique	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Incertitudes	<input type="checkbox"/>

Le formulaire est pré-rempli il faut donc remplir l'indice de criticité (= Gravité de 1 à 5) et d'y ajouter les documents permettant la maîtrise du risque. Par contre, il est **impératif** de l'ajuster pour chaque paramètre (par exemple : les interférences sont différentes pour le dosage d'un potassium et d'une bilirubine). Pour cela on peut **modifier** ou **supprimer un risque** mais il est possible aussi d'en **ajouter** :

MAITRISE DES RISQUES						
5M	POINTS CRITIQUES	ECHELLE DE CRITICITÉ	ELÉMENTS À MAITRISE	MOYENS DE MAITRISE		
Matière (échantillons)	Identité	<input type="text"/>	Formation et information du personnel	Joindre des fichiers Joindre des documents	Procédure d'identification	<input type="checkbox"/>
	Préparation du patient	<input type="text"/>	Information des patients et préleveurs	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instructions de prélèvement	<input type="checkbox"/>
	Type de contenants	<input type="text"/>	Formation des préleveurs	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instructions de prélèvement	<input type="checkbox"/>
	Nature et volume de préanalyses	<input type="text"/>	Contrôle à réception	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instructions de prélèvement	<input type="checkbox"/>
	Délai et température avant traitement analytique	<input type="text"/>	Gestion logistique (navettes, agents de transport)	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instructions de prélèvement	<input type="checkbox"/>
	Prétraitement : centrifugation, ...	<input type="text"/>	Conditions de centrifugation, ...	Joindre des fichiers Joindre des documents	Critères de centrifugation	<input type="checkbox"/>
	Interférences	<input type="text"/>	Formation des préleveurs	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instruction de formation du personnel	<input type="checkbox"/>
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	<input type="text"/>	Métrologie/suivi des enceintes	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instructions de conservation	<input type="checkbox"/>
	Conditions de conservation et d'attente des résultats (t°, ...)	<input type="text"/>	Métrologie/suivi des enceintes	Joindre des fichiers Joindre des documents	Instructions de conservation	<input type="checkbox"/>

Annexe 6



	<p>MISE EN EVIDENCE DE LA CLONALITE D'UNE POPULATION LYMPHOÏDE</p>	<p>Page 1 sur 4</p>
---	--	---------------------

1 OBJET DU MODE OPERATOIRE :

Ce mode opératoire décrit le processus analytique de l'examen de la Clonalité Lymphoïde au LCH.

2 DOMAINE D'APPLICATION ET PERSONNES CONCERNÉES :

2.1 Domaine d'application :

Cette procédure concerne le laboratoire d'hématologie de Saint Louis (SLF) plus particulièrement le secteur de d'hématologie moléculaire.

2.2 Personnes concernées :

Tout le personnel habilité au poste : Clonalité lymphoïde soit, des biologistes, des techniciens et des ingénieurs d'hématologie moléculaire.

3 DOCUMENTS DE RÉFÉRENCES :

- NORME NF ISO 15189 version 2012 et son SH REF 02 associé.
- Van Dongen Leukemia_2003_17_2257

4 DÉFINITIONS ET ABRÉVIATIONS :

4.1 Définitions :

- Processus : ensemble d'activités corrélées ou interactives qui transforme des éléments d'entrée en éléments de sortie.
- Clonalité lymphoïde : Recherche de la présence ou non d'un clone dominant au sein d'une réponse oligoclonale réactionnelle qui peut témoigner de l'existence d'une population clonale anormal.

4.2 Abréviations :

- ADN : Acide désoxyribonucléique
- LCH : Laboratoire central d'hématologie
- IGK : Locus de la chaîne légère Kappa d'une immunoglobuline. Localisation chromosomique : 2P11.2
- IGH : Locus des chaînes lourdes d'une immunoglobuline. Localisation chromosomique : 14q32.33
- IGL : Locus de la chaîne légère Lambda d'une immunoglobuline. Localisation chromosomique : 22Q11.2
- TCR : Récepteur des lymphocytes T
- BCL2-JH : Réarrangement du gène BCL2 et du segment JH de la chaîne lourde des immunoglobulines dans les hémopathies lymphoïdes.

5 PRINCIPE DE LA MÉTHODE :

Mise en évidence du caractère clonal d'une population lymphoïde est basée sur l'amplification par PCR d'un marqueur génétique propre à chaque cellule lymphoïde, à savoir la région jonctionnelle correspondant au réarrangement génomique des gènes codant pour les récepteurs à l'antigène de cellules B et T (IGH, IGK, IGL, TCRG, TCRA/D, TCRB) ainsi que des réarrangements IGH-BCL2.

Examens	Indication
TCRG	Clonalité T, systématique
TCRB	Clonalité T sur prescription expresse
TCRA/D	Non réalisé
IGH	Clonalité B, systématique
IGK	Clonalité B, systématique
IGL	Clonalité B sur prescription expresse
IGH-BCL2	Clonalité B sur prescription expresse
Contrôle amplificabilité	Biopsies (fixée AFA ou congelées)

Les situations médicales dans lesquelles les examens de la clonalité T et B sont indiquées sont revues dans le document SLL-SLHEM-BMHEM-IT-010 Juste prescription clonalité lymphoïde

6 PRÉCAUTIONS DE SECURITÉ :

Le port des gants et de la blouse est obligatoire. La marche en avant doit être impérativement respectée pour éviter toute contamination des zones dites « propres ».

7 MATÉRIELS ET RÉACTIFS NÉCESSAIRES :

- Matériel : Thermocycleurs, Séquenceur, Logiciel Genmaper.
- Réactifs : Amorces, consommables et des CIQ internes.
- Echantillons :

Prélèvements	Conditionnement	échantillon de travail
15 à 20 mL de sang EDTA	Centrifugation sur Ficoll 1,077	Culot sec à 5-10 M
1 à 2 mL de moelle EDTA	Centrifugation sur Ficoll 1,077	Culot sec à 5-10 M
Biopsies	congelées N2L ou fixation AFA*	En fonction de la section 15 à 20 coupes de 10 à 20 µm d'épaisseur
Biopsies à l'aiguille	congelées N2L ou fixation AFA*	Tout ou partie
Punch de peau (10)	congelées N2L ou fixation AFA*	Tout ou partie

*congélation recommandée

NB1. Les réarrangements recherchés sont des marqueurs spécifiques et restreints à la population lymphoïde d'intérêt. Il faut donc réaliser les examens sur du matériel dont la nature histologique et notamment le degré d'infiltration lymphocytaire est définie par un examen morphologique après coloration au MGG (lames de cytopspin) ou au HE (coupes de biopsies congelées).

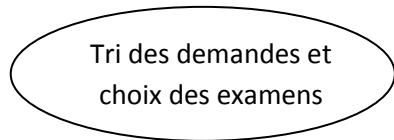
NB2. Circuit de l'échantillon. Les prélèvements de moelle osseuse, de sang, les cytoponctions ganglionnaires, et également les liquides d'aspiration bronchique ou céphalorachidiens arrivent au laboratoire d'hématologie où ils sont pré-traités et stocké temporairement, les biopsies ganglionnaires et de peaux sont congelées et stockées dans la Tumorothèque au laboratoire d'anatomie-pathologie. La récupération des prélèvements se fait donc au moins une fois par semaine au Laboratoire d'hématologie et au service d'Anatomie-pathologie, selon les documents SLL-SLHEM-PLUS-IT-016 Traitement des biopsies à leur réception et SLL-SLHEM-PLUS-IT-038 : Extraction ADN avec Kit Qiagen.

8 LOCAUX :

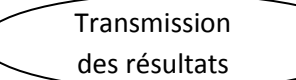
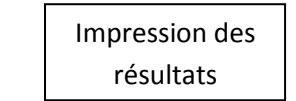
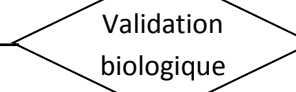
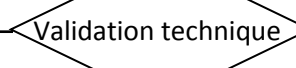
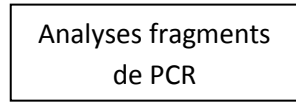
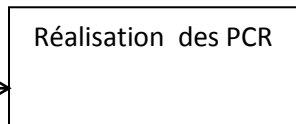
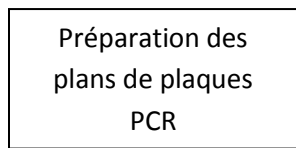
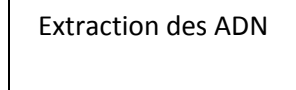
Les échantillons sont pré-traités et stockés temporairement au laboratoire central au secteur pré-analytique spécialisé. La suite de la manipulation est réalisée au deuxième étage du bâtiment Hayem en respectant la marche avant.

9 DESCRIPTION DU MODE OPÉRATOIRE :

Interne
Technicien(ne)



Technicien(ne)



Biologiste

Secrétaire

- SLL-SLHEM-PLUS-IT-001 : Orientation d'un prélèvement dans le processus analytique du secteur d'hématologie moléculaire
- SLL-SLHEM-PLUS-IT-003 : Récupération des feuilles de demandes d'analyses de biologie moléculaire au secteur Préanalytique sp
- SLL-SLHEM-PLUS-IT-016 Traitement des biopsies à leur réception
- SLL-SLHEM-PLUS-IT-002 : Enregistrement des analyses de biologie moléculaire
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-009 : Création liste d'extraction en hématologie moléculaire
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-011 : Récupération des échantillons pour extraction en hématologie moléculaire
- SLL-SLHEM-PLUS-IT-038 : Extraction ADN avec Kit Qiagen
- SLL-SLHEM-BMHM-MT-002 : Dosage des acides nucléiques: Manuel utilisation du Nanodrop 2000
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-004 : Impression des étiquettes BRADY pour stockage des culots
- Instructions relatives à la conservation des ADN dans le laboratoire d'hématologie moléculaire**
- SLL-SLHEM-BMHM-DE-006 : Formulaire préparation PCR dans la clonalité lymphoïde
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-013 : Instruction recherche du locus BCL2
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-014 : Instruction recherche du récepteur TCRB Biomed 2 IVS
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-008 : Instruction recherche du locus IGH SLL-SLHEM-BMHM-IT-015 : Instruction recherche du récepteur TCRG Biomed 2 SLL-SLHEM-BMHM-IT-012 : Instruction recherche du locus IGK
- Manuel utilisation du Séquenceur HITACHI AB Applied Technologies 3130X**
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-013 : Instruction recherche du locus BCL2
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-014 : Instruction recherche du récepteur TCRB Biomed 2 IVS
- SLL-SLHEM-BMHM-IT-008 : Instruction recherche du locus IGH SLL-SLHEM-BMHM-IT-015 : Instruction recherche du récepteur TCRG Biomed 2 SLL-SLHEM-
- SLL-B2P-POST-PG-004 : Validation biologique
- SLL-SLHEM-PLUS-MT-019 : Validation Biologique des Résultats de Biologie
- SLL-SLHEM-POST-IT-001: Impression et Transmission des résultats au laboratoire central d'hématologie
- SLL-SLHEM-POST-MT-001 : Transmission de résultats par téléphone
- SLL-SLHEM-POST-DE-001 : Formulaire de demande de transmission d'un compte-rendu d'examen par FAX

Annexe 8



SLS-HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE
1, avenue Claude Vellefaux
75475 PARIS Cédex 10
Tél :
Fax :

Statistiques des indicateurs qualité

Site [SLF]													
Non Conformités	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
Pré-analytique	3	13	13	6	2	2	2	-	6	6	19	16	88
Accueil	-	-	1	1	1	-	-	-	1	-	1	3	8
Matériel	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	1	5
Prélèvement externe	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	3
Prélèvement interne	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramassage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Réception, préparation, tri	-	1	-	4	-	1	-	-	1	3	10	4	24
Revue de contrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saisie dossier	2	12	10	1	1	1	2	-	3	2	5	7	46
Sous-traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Analytique	2	5	1	4	1	-	4	-	2	1	11	2	33
Biologie délocalisée	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Contrôle qualité	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Délais réalisation	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Fournisseur EEQ CIQ	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	3
Matériel	1	3	-	-	1	-	-	-	1	-	5	1	12
Mise en oeuvre technique	-	1	-	2	-	-	2	-	-	-	3	-	8
Produits	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	4
Sous traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Validation analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Post-analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2
Biothèque	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion des règlements	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Matériel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Rapport résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saisie résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sous traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Transmission résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Validation biologique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Divers	-	-	-	1	-	-	-	1	3	-	5	1	11
Achats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Evaluation des fournisseurs	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Gestion des formations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion de stocks	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion documentaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion du personnel	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Hygiène et sécurité	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Logistique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Matériel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Métrologie	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	2
Prestation de maintenance	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Relevé de mesures	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Services support	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sous traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Suivi des audits	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Système informatique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
Système qualité	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2015	5	18	14	11	3	2	6	1	11	8	36	19	134
Evénements Indésirables													
Soins et Patient	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Secteurs Medico-Techniques	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Admission - Hôtellerie et Logistique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2015	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Réclam. par type													
Pré-analytique	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Post-analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Divers	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2015	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	2
Réclam. par origine													
Personnel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prescripteur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Préleveur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sous-traitant	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fournisseur	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Correspondant	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2015	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	2
Réclam. justifiée													
Oui	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	2
Non	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Non renseigné	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2015	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	2

Annexe 9



SLS-HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE
1, avenue Claude Vellefaux
75475 PARIS Cédex 10
Tél :
Fax :

Statistiques des indicateurs qualité

Site [SLF]													
Non Conformités	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
Pré-analytique	11	7	12	3	1	2	4	-	-	-	-	-	40
Accueil	3	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Matériel	1	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	4
Prélèvement externe	3	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	5
Prélèvement interne	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Ramassage	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Réception, préparation, tri	-	1	2	1	-	1	2	-	-	-	-	-	7
Revue de contrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saisie dossier	4	1	3	1	1	1	-	-	-	-	-	-	11
Sous-traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Analytique	3	4	3	5	4	1	1	-	-	-	-	-	21
Biologie délocalisée	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Contrôle qualité	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Délais réalisation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fournisseur EEQ CIQ	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Matériel	1	2	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	7
Mise en oeuvre technique	1	1	-	2	2	-	1	-	-	-	-	-	7
Produits	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	3
Sous traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Validation analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Post-analytique	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Biothèque	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion des règlements	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Matériel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rapport résultat	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Saisie résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sous traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Transmission résultat	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Validation biologique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Divers	3	-	6	2	3	4	3	-	-	-	-	-	21
Achats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Evaluation des fournisseurs	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Gestion des formations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion de stocks	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Gestion documentaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gestion du personnel	-	-	1	-	2	3	2	-	-	-	-	-	8
Hygiène et sécurité	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
Logistique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Matériel	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Métrologie	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Prestation de maintenance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Relevé de mesures	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Services support	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sous traitance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Suivi des audits	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Système informatique	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Système qualité	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	2
Autre	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
TOTAL 2016	17	12	23	10	8	7	8	-	-	-	-	-	85
Evènements Indésirables	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
Soins et Patient	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Secteurs Medico-Techniques	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Admission - Hôtellerie et Logistique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Réclam. par type	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
Pré-analytique	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3
Analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Post-analytique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Divers	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2016	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3
Réclam. par origine	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
Personnel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prescripteur	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3
Préleveur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sous-traitant	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fournisseur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Correspondant	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2016	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3
Réclam. justifiée	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
Oui	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3
Non	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Non renseigné	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL 2016	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3

Annexe 10

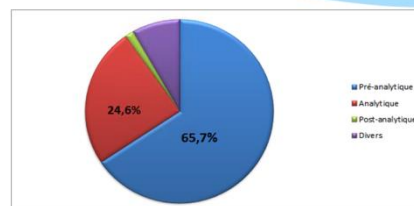
ETAT D'AVANCEMENT PLAN D'ACTION 2016:		41%		NOMBRE ETAPES HORS DELAI:		0							
Chapitre EQD 13/189	Processus / Sous-processus	n° Action	Déclinaison / Action	Acteurs	Responsabilité / Action	Service / Labo	Echéance / Date	Evolution / Date	Etat d'avancement	Evénements	Statut et Commentaires	Progrès / Révision / Révisé / Traité	Conclusion
4.9 Identification et maîtrise des non-conformités	MS/4 Gestion des NC	P1	Réunion qualité bilan NC 2015 du 15/03/2016 : RE-2016-03-147	Sensibilisation et correction des saisies manuelles par agent ACB après accord du responsable M.Roland Veillet	Laurent Leroy(cadre LCH),Roland Veillet(cadre ACB),Dalleu Rachel(RQS)	TOUS	30/06/2016	18/03/2016	100%	Envoyer un mail à Roland Veillet, Réunion entre ACB et SLF le 29/03/2016, Création d'un PDF pour réunion avec Roland Veillet un jeudi, Réunion et sensibilisation auprès des agents ACB le 14/04/2016	Ré-évaluation IQ Juin 2016 ok + Réunion retour aux agents ACB ok	0	IQ conservé sur SLF
4.9 Identification et maîtrise des non-conformités	MS/4 Gestion des NC	P2	Réunion qualité bilan NC 2015 du 15/03/2016 : RE-2016-03-147	Action à long terme: ScanBar pour examens spécialisés + uniformisation des items NC Glims hémato et bioch par CCS patient	Laurent Leroy (ref. Informatique + RQS),Lionel Jobicot(ref. Informatique),Pascale Puech(chargé mission informatique GH),CCS Patient	PREANA SPE	31/12/2016	29/03/2016	25%	Mail à Pascale Puech le 26/03/2016, uniformisation des NC accueil par le CCS Patient, création de la nouvelle feuille de demande BM scannable, diffusion nouvelle feuille de demande aux services prescripteur			
4.9 Identification et maîtrise des non-conformités	MS/4 Gestion des NC	P3	Réunion qualité bilan NC 2015 du 15/03/2016 : RE-2016-03-147	Vérification de l'acquittement des maintenances	Cayuela(biologiste+RQS), Laurent Leroy(cadre)	TOUS	30/04/2016	01/04/2016	100%	Rappel par JMC aux techniciens jour après jour selon calendrier dans Kalilab, point sur le tableau de bords des maintenances ok pour préana et extraction ARN le 14/04/2016	Ré-évaluation IQ Juin 2016	0	IQ conservé sur SLF
4.8.4.12	MS/4 Gestion des NC	P4	Audit 18/03/2016 sur NC	Procédure générale: Gestion des NC à faire attester par la totalité du personnel (reste 15/36)	Ref. Qualité structure	TOUS	30/04/2016	30/04/2016	100%	le 26/03/2016 encore 10 personnes à attester- 7 personnes le 31/04/2016 email envoyé à Laurent pour rappel à faire, encore 3 personnes le 27/05/2016 après plusieurs appels mail et oral	Vérification dans Kalilab de l'attestation de la PG: SLF-RQP-CJAL-RC-001	0	ok le 31/05/2016
4.8.4.12	MS/4 Gestion des NC	P5	Audit 18/03/2016 sur NC	Revoir toutes les NC depuis 01/11/2015 pour faire les suivis et conclusions	Ref. Qualité structure	TOUS	01/04/2016	21/03/2016	100%	Reprendre toutes les NC du 01/11/2015 au 31/12/2016	Vérification dans moteur de recherche que 0 NC entre 01/11/15 et 21/03/2016 clôturer sans conclusion	0	ok le 22/03/2016
4.8.4.12	MS/4 Gestion des NC	P6	Audit 18/03/2016 sur NC	Réaliser des réunions hebdo pour suivi des NC	Ref. Qualité structure	TOUS	31/05/2016	à partir du 21/03/2016	100%	Avoir réaliser plusieurs réunions entre le 21/03/16 et 18/04/2016 le lundi à 10h30 chaque semaine OK DU 21/03 AU 30/06	Réunions régulières: Ré-évaluation en Juin 2016: vérification des NC avec conclusion	0	habitude conservée car très utile pour faire un point qualité 1 fois par semaine
5.1	S5/4 Habilitations	P7	S2 19 et 20 Avril 2016: écart n°5	Revoir procédure et Formulaire Habilitations des biologistes du LCH	Biologistes et référents qualité structure	TOUS	30/05/2016 et 30/06/2016	22/04/2016	100%	Réunion entre biologistes et réf. qualité pour définir les critères habilitations des biologistes cyto, modification du doc SLF-SHEM-PLUS-IT-009 Informations à l'usage des nouveaux arrivants au LCH et du doc SLF-SHEM-CADRE-DE-001 Fiche d'intégration du personnel, modifier la SLF-SHEM-PLUS-IT-004 Habilitation biologistes + suppression du doc SLF-SHEM-PLUS-DE-006 Formulaire d'enregistrement de l'habilitation d'un biologiste, création d'un formulaire habilitation à la validation biologique d'une NFS dans Kalilab, remplir et enregistrer formulaire dans Kalilab pour Stéphanie Mathis habilitation ok, attestation de lecture des documents par les biologistes, formulaire rempli pour les autres biologistes arrivés en 2015.		0	ok le 30/06/2016
5.1	S5/4 Habilitations	P8	S2 19 et 20 Avril 2016: écart n°6 (critique)	Revoir procédure nouveaux arrivants, re-sensibilisation des biologistes et cadres mise en conformité Gestime	Biologistes et référents qualité structure	TOUS	30/09/2016	22/04/2016	100%	Réunion le 22/04/2016, Revoir document SLF-SHEM-PLUS-IT-009 Informations à l'usage des nouveaux arrivants en hématologie+ fiche intégration SLF-SHEM-CADRE-DE-001, modification du formulaire d'habilitation à la validation technique des NFS SLF-SHEM-PLUS-DE-012, attestation des documents par 2 nouveaux techniciens		0	ok le 31/05/2016
5.5	P2/1 Vérification ou validation de méthode	P9	S2 19 et 20 Avril 2016: écart n°14	Revoir doc Règles MPL pour les plaquettes sur citrate + test si calcul bien appliqué	Biologistes et référents qualité structure	HEMATOLOGIE CELLULAIRE SPECIALISEE	15/07/2016	22/04/2016	100%	Réunion le 22/04/2016, vérification que le calcul est effectué, modification des SLF-SHEM-CYSP-IT-002 Algorithmes paramétrés dans MPL, demande de création d'un commentaire/numérotation de plaquettes sur Citrate (code mnémotechnique + PLUGIT) le commentaire suivant "Résultat calculé tenant compte du facteur de dilution (1/20ème) lié à l'anticoagulant", création et vérification du commentaire automatique dans Glims, faire corrélation sur dossiers patient en retrospectif, modifier le doc algorithmes MPL et le commentaire dans Glims avec corrélation trouvée.	Faire un contrôle que le commentaire est présent sur plusieurs dossiers	0	ok le 30/06/2016
5.6	P2/3 Contrôles qualité	P10	S2 19 et 20 Avril 2016: écart n°19	Modification bornage CIQ NFS sur les XE	biologistes cyto et DBA + ingénieur DBA	HEMATOLOGIE CELLULAIRE SPECIALISEE + DBA	30/06/2016	22/04/2016	100%	Réunion 22/04/2016, création d'une instruction et d'un tableau Excel pour la pertinence des modifs, détermination des nouvelles bornes + modif sur le logiciel MPL + vérifications		0	ok le 30/06/2016
5.10.3	S6/Informatique	P11	S2 19 et 20 Avril 2016: écart n°18 (critique)	Vérification VALAB	biologiste cytologie et biochimie Saint Louis et Larib	Hémo et Bioch Saint Louis et Larib	30/07/2016	03/05/2016	80%	test sur biochimie + hémoate SLS + hémo LRB, Formation par fournisseur Valab, Harmonisation procédure de vérif de Valab entre Saint Louis et Larib, Programmation maintenance périodique dans Kalilab: modification de la PG			
5.3.1.5	S2/Gestion des Equipements et matériels	P12	S2 19 et 20 Avril 2016: écart n°10	Etude impact suite panne ou CIQ mauvais	biologistes et techniciens DBA et biologistes cytologie	SLH-SLF	15/07/2016	18/05/2016	100%	Création d'un tableau Excel afin d'enregistrer et tracer les patients repassés et entrée acceptabilité avec RIGOS, information réunion qualité + modif de la PG		0	ok le 30/06/2016
5.6.4	(P2/1) / Etape analytique (fonctionnement normal et dégradé)	P13	Réunion du 17/06/2016 sur retour panne du lundi 13/06/16	Création instruction externalisation des NFS en cas de panne des 2 XE	référents qualité structure (RQS) + biologistes cyto SLS et LRB	SLH+SLF+SLV			0%	Rédaction -> diffusion du document			
5.6.4	(P2/1) / Etape analytique (fonctionnement normal et dégradé)	P14	Réunion du 17/06/2016 sur retour panne du lundi 13/06/17	Comparaison des automates NFS du site Saint-Louis et du site Lariboisière	RQS + biologistes cyto SLS et LRB	SLH+SLF+SLV			0%	comparaison des 30 derniers résultats d'EQ NFS de SLF et SLV			
5.10	(P2/4) SP - Vérification analytique et transfert ou saisie manuelle des résultats	P15	AMDEC clonalité lymphoïde	rédaction de l'instruction: Vérification de la saisie manuelle au LCH	RQS	SLF	01/09/2016	19/07/2016	25%	Rédaction -> diffusion du document + application de l'exigence	Vérification des feuilles de demande et feuille de travail passées		
4.12	(P-M) MS - Amélioration continue, (P1/4) Réception des échantillons	P16	AMDEC clonalité lymphoïde+ Réunion du 29/03/2016 avec agents ACB : sensibilisation saisie manuelle (revue RE-2016-03-296 et RE-2016-06-005)	Rédaction de l'instruction: Codes GLIMS pour enregistrer les demandes d'exames externes en biologie moléculaire hématologie au LCH	RQS+biologistes +secrétaires médicales	SLF/SU	01/09/2016	11/07/2016	25%	Rédaction -> diffusion du document + application de l'instruction	plus d'erreur de saisie institution/prescripteur		
4.12	(P-M) MS - Amélioration continue, (P1/5) Préparation et conservation des échantillons	P17	AMDEC clonalité lymphoïde	Diminution des pertes de culots secs au préanalytique spécialisé	Biologiste+techniciens préana+ref. Informatique structure	SLF	31/12/2016		0%	Modification de l'organisation: diminution du nombre de boîte de stockage temporaire préana + création position automatique dans GLIMS.			
4.12	(P-M) MS - Amélioration continue, (P2/1) SP - Etape analytique, vérification ou validation de méthode	P18	AMDEC clonalité lymphoïde	Diminution de l'indice de criticité et simplification méthode extraction ADN: Modification méthode extraction ADN pour l'examen clonalité lymphoïde : extraction sur tube primaire sang total EDTA	biologiste secteur BM + techniciens habilités extraction ADN+RQS	SLF	31/12/2016		10%	Vérification méthode portée A, (Manuel du kit QIAamp® DSP DNA Blood Mini)			
5.6	(P2/3) SP - Contrôle qualité	P19	AMDEC clonalité lymphoïde	Création d'un CIQ pour étape analytique Extraction ADN	biologiste BM + techniciens habilités extraction ADN+RQS	SLF	31/12/2016		0%	Discussion réunion qualité BM + Création formulaire + Mise en place du CIQ	toutes séries extraction ADN comporte un CIQ		
5.7	(P3/3) Conservation des échantillons	P20	AMDEC clonalité lymphoïde	Rédaction instruction Stockage ADN	biologiste BM + techniciens habilités extraction ADN+RQS	SLF	31/12/2016		0%	Rédaction -> diffusion du document			
5.7	(P-3) P3 - Post-analytique	P21	AMDEC clonalité lymphoïde	Rédaction instruction Revue des incomplet dans	réfèrent informatique structure +	SLF	31/12/2016		0%	Rédaction -> diffusion du document + application de l'instruction			

RAPPEL SUR LES ENREGISTREMENTS DES EXAMENS SPECIALISES DANS GLIMS

29 Mars 2016

Rachel Dalleu

BILAN DES NON CONFORMITES EN 2015 AU LCH



Dans les 65,7 % NC pré-analytique, 46% sont des problèmes de saisie de dossier

PRELEVEMENTS PRECIEUX

Secteur spécialisé = Diagnostic maladies graves donc prélèvements très précieux

→ TRES IMPORTANT = **NON REPRELEVABLE** car le traitement est déjà administré ou le patient parti du site

→ Prélèvement **TRES DOULOUREUX**

RISQUES ET IMPACT

* D'où, l'importance d'être très rigoureux et concentré sur l'étape de l'enregistrement du dossier patient

* Risques et impacts:

- Analyse non réalisable
- Erreur de diagnostic sur le patient
- Délai de rendu allongé

→ **Perte de chance pour le patient**

ENREGISTREMENT DES NON-CONFORMITES DANS GLIMS

En attendant uniformisation des items NC dans Glims entre S_DBA_SLS et S_HEMA:

→ Mettre item le plus proche du cas rencontré

ou

→ Noté sur la feuille de prescription « NC Glims à faire »

Vérification de son enregistrement

→ Nature du prélèvement

→ Le prescripteur

→ Le nom et nom de jeune fille

→ Le prénom

→ La date de naissance

Au moment de coller l'étiquette vérifier la concordance entre celle-ci et la feuille de demande d'examen

Rappel prise en charge d'un prélèvement

➤ Vérification de la concordance entre la feuille de demande et les tubes reçus :

→ Condition acheminement: délai et T°C respectés

→ Même nom + nom de jeune fille prénom et date de naissance

→ Bon anticoagulant

➤ Enregistrement en priorité par Scan Bac



de votre attention

Annexe 12

ETIQUETTE UH ETABLISSEMENT SERVICE PRESCRIPTEUR	ETIQUETTE Code APH MEDECIN ou Nom : Prénom : Code APH :	ETIQUETTE Code APH PRELEVEUR ou Nom : Prénom : Code APH :
---	---	---

PÔLE B2P - HÔPITAL SAINT-LOUIS Hématologie Biologique Pr J.SOULIER	SECTEUR HEMATOLOGIE MOLECULAIRE Dr JM. CAYUELA Dr E. CLAPPIER TEL: 01 42 43 41 74
---	---

Téléphone du Prescripteur :

DATE du prélèvement : / /

H du prélèvement : H H de réception : H
Réserve au laboratoire

ETIQUETTE
LABO

Nature du prélèvement : (Remplir une feuille par prélèvement)

Sang (EDTA)
 Moelle (EDTA)
 Ganglion
 Biopsie cutanée
 Autre (préciser)

EXAMENS MOLECULAIRES D'UNE LEUCEMIE AIGUE LYMPHOBLASTIQUE (LAL)

Diagnostic
 Rechute
 En attente de confirmation
 Suivi de la maladie résiduelle
 Préciser si Ph+
 Protocole et stade de traitement :

EXAMENS MOLECULAIRES D'UNE LEUCEMIE AIGUE MYELOIDE (LAM)

Diagnostic
 Rechute
 En attente de confirmation
 Suivi de la maladie résiduelle
 Protocole et stade de traitement :

EXAMENS MOLECULAIRES D'UN SYNDROME MYELOYDYSPLASIQUE (SMD) / D'UNE LEUCEMIE MYELOMONOCYTAIRE CHRONIQUE (LMC)

Recherche de mutations
 Cryoconservation
 Contexte clinique et thérapeutique :

EXAMENS MOLECULAIRES D'UN SYNDROME MYELOPROLIFERATIF (SMP)

Transcrit BCR-ABL1 au diagnostic
 Suivi de la maladie résiduelle BCR-ABL1
 Préciser ITK et la durée du traitement :
 Recherche de mutation TKD d'ABL1
 Transcrit FIP1L1-PDGFR
 Pour les syndromes hyperéosinophiliques et les mastocytoses contacter JM. Cayuela
 Pour les autres syndromes myéloprolifératifs BCR-ABL1 négatifs contacter B. Cassinat

EXAMENS MOLECULAIRES D'UN SYNDROME LYMPHOPROLIFERATIF

Clonalité lymphoïde :
 B
 et / ou
 T
 Réarrangement IGH-BCL2
 Expression de la cycline D1
 Contexte clinique et thérapeutique :
 Transcrit de fusion NPM-ALK

EXAMEN DU CHIMERISME HEMATOPOIETIQUE

Prélèvement pré-greffe :
 Receveur
 Nom, Prénom ou N° du donneur :

 Donneur
 Nom, Prénom du receveur :

Prélèvement post-greffe :
 Analyse avec tri CD3+
 Analyse urgente
 Contexte (stade post-greffe, protocole, suspicion de rechute ou de rejet, DLI, etc) :

Cadre réservé au laboratoire : pré-analytique et congélation

Prélèvement reçu (nombre de tubes, volume, remarque) :

Ficoll
 Lyse
 Tri CD3+
 ADN
 ARN

Congélation : culots secs
 à millions de cellules
 Rangement boîtes :

 DMSO
 à millions de cellules

N° ADN :
 Concentration :

CADRE RESERVE AU LABORATOIRE

Prélèvements Vert : Gris : Mauve : Jaune : Monovette : Ponction :

Identification d'une non-conformité critique :

Cocher la case NC Critique sous le code à barres et Indiquer la nature de la non conformité ci dessous:

- Pvt(s) manquant(s)
 Pvt(s) non étiqueté(s)
 Identité (discordance prélèvement / feuille)
 Absence de prescription
 Nature de Pvt(s) non conf.
 Pvt(s) accidenté(s)
 Feuille non étiquetée

Tracabilité du traitement
de la demande

Identification d'une non-conformité non critique :

Cocher la case du type de non conformité non Critique sous le code à barres




- NC Critique
 Non critique
 Prescription
 Acheminement
 Echantillon

RESERVE AU LABORATOIRE

Large empty area for notes or additional information, bounded by a dashed line.

Annexe 13 :

Extrait de l'instruction de travail SLL-SLHEM-PLUS-IT-029 Codes GLIMS pour enregistrer les demandes d'examens externes en biologie moléculaire hématologie au LCH

	CODES GLIMS POUR ENREGISTRER LES DEMANDES D'EXAMENS EXTERNES D'HEMATOLOGIE MOLECULAIRE	Page 1 sur 12
---	---	---------------

1 OBJET DE LA FICHE D'INSTRUCTION :

Préciser les codes GLIMS à utiliser pour enregistrer les « prescripteurs » et les « structures », garantissant un retour des résultats conformes aux dispositions convenues avec nos correspondants, relatives aux demandes d'examens provenant de services extérieurs à l'hôpital Saint-Louis.

2 DOMAINE D'APPLICATION ET PERSONNES CONCERNÉES :

2.1 Domaine d'application :

Cette instruction concerne les demandes d'examens réalisées dans le secteur d'hématologie moléculaire de l'hôpital Saint-Louis, responsable JM cayuela. email jean-michel.cayuela@sls.aphp.fr. tél. : 24028/24174.

2.2 Personnes concernées :

Toutes personnes en charge de l'enregistrement dans GLIMS des demandes d'examens du secteur d'hématologie moléculaire : ACB ou LCH

3 DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE ET DOCUMENTS ASSOCIÉS :

3.1 Documents de référence :

- NORME NF ISO 15189 et SH REF 02 associé ;










3.2 Documents associés :

- NA

4 DÉFINITIONS ET ABRÉVIATIONS :

- NA

5 DESCRIPTION DE L'INSTRUCTION:

INSTITUTIONS	CODES Mnémoniques	Codes-Barres institutions	ADRESSES	NOMS PRESCRIPTEURS	CODES MEDECINS	Codes-Barres prescripteurs
AMIENS CHU SUD	HOP80054HEM	 * H O P 8 0 0 5 4 H E M *	CHU Amiens Sud Hématologie Clinique	Dr Claisse Dr Marolleau	Non paramétré MAROJE	 * M A R O J E *
ANGERS	HOP49033A HOP499331D	 * H O P 4 9 0 3 3 A *  * H O P 4 9 9 3 3 1 D *	CHU ANGERS Centre de gestion des laboratoires	Dr ODILE BLANCHET Dr VALERIE UGO	UGOVA01	 * U G O V A 0 1 *
ANNECY	HOP74374A1	 * H O P 7 4 3 7 4 A 1 *	Hématologie Clinique niveau A3	Dr CONY MAKHOUL	MAKHCO	 * M A K H C O *
BORDEAUX CHU	HOP33604A	 * H O P 3 3 6 0 4 A *	Hôpital Haut Lévéque Service d'Hématologie Clinique	Dr GABRIEL ETIENNE	ETIEGA	 * E T I E G A *

Juin 2012

Manuel du kit QIAamp® DSP DNA Blood Mini



Version 2



Pour utilisation en diagnostic in vitro



61104



1071108FR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tél. : +49-2103-29-0

R2



1071108FR



Technologies d'échantillons et d'analyses QIAGEN

QIAGEN est le premier fournisseur de technologies novatrices de traitement des échantillons et des analyses pour l'isolation et la détection du contenu de n'importe quel échantillon biologique. Nos produits et services de pointe, de qualité élevée, garantissent un succès total, du prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'obtention des résultats.

QIAGEN fait office de référence pour :

- la purification de l'ADN, de l'ARN et des protéines ;
- l'analyse des acides nucléiques et des protéines ;
- la recherche des microARN et l'ARNi ;
- l'automatisation des technologies de traitement des échantillons et des analyses.

Notre mission consiste à permettre à nos clients d'atteindre des résultats remarquables et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visitez le site www.qiagen.com.

Sommaire

Utilisation prévue	4
Résumé et explication	4
Lyse des cellules sanguines	5
Fixation de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini	5
Purification automatisée	6
Matériel fourni	8
Contenu du kit	8
Matériel nécessaire non fourni	9
Informations de sécurité	10
Conservation et manipulation des réactifs	12
Manipulation et conservation des échantillons	13
Remarques importantes	15
Remarques préliminaires importantes	15
Préparation des réactifs et tampons	15
Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini	16
Élution de l'ADN génomique	17
Rendement et qualité de l'ADN génomique	17
Configuration du système à vide QIAvac 24 Plus	18
Protocoles	
■ Isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'un système à vide	20
■ Isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'une microcentrifugeuse	24
Contrôle qualité	27
Caractéristiques de performance	27
Performance des analyses en aval	28
Symboles	33
Références	34
Coordonnées	35
Pour commander	36

Utilisation prévue

Le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini est un système ayant recours à la technologie des membranes de silice (QIAamp) pour l'isolation et la purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons biologiques.

Ce produit est destiné aux professionnels, tels que les techniciens et les médecins, formés aux techniques de la biologie moléculaire.

Le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini est destiné à une utilisation en diagnostic in vitro.

Résumé et explication

Le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini a recours à une technologie bien établie qui permet d'isoler et de purifier rapidement et en toute simplicité l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total.

Les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, développées pour le traitement simultané de plusieurs échantillons de sang, permettent d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Les procédures sont compatibles avec des échantillons de sang total et de sang frais ou congelé traités à l'EDTA ou au citrate.

Les procédures simples de centrifugation et d'aspiration sous vide QIAamp DSP sont adaptées au traitement simultané de plusieurs échantillons. Certaines procédures de centrifugation QIAamp peuvent être entièrement automatisées sur le QIAcube® pour une amélioration de la normalisation et de la facilité d'utilisation (voir la page 6).

Il n'est pas nécessaire de séparer les leucocytes au préalable. Les procédures n'impliquent pas d'extraction au phénol/chloroforme ni de précipitation par l'éthanol. De plus, l'interaction avec l'utilisateur est minime, ce qui permet de manipuler les échantillons potentiellement infectieux en toute sécurité. Les procédures sont conçues pour limiter la contamination croisée d'un échantillon à l'autre. L'ADN purifié est prêt à l'emploi pour l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) ou d'autres applications. Il peut également être conservé à une température comprise entre -25 °C et -15 °C pour une utilisation ultérieure.

Principes de la procédure

Chaque procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini comprend 4 étapes :

- la lyse des cellules dans l'échantillon de sang
- la fixation de l'ADN génomique du lysat cellulaire à la membrane d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini
- le lavage de la membrane
- l'élution de l'ADN génomique à partir de la membrane

Ce manuel contient les protocoles pour deux procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini : la procédure de centrifugation réalisée à l'aide d'une centrifugeuse et la procédure d'aspiration sous vide menée à bien à l'aide d'un système à vide (voir le schéma, page 7).

Lyse des cellules sanguines

Les échantillons sont lysés dans des conditions dénaturantes, à température élevée. La lyse est réalisée en présence de Protéase QIAGEN (QP) et de tampon de lyse (AL).

Fixation de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini

Afin d'optimiser la fixation de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, de l'éthanol est d'abord ajouté au lysat. Chaque lysat est ensuite transféré sur une colonne de centrifugation QIAamp Mini. L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet d'une dépression ou de la force centrifuge.

Purification automatisée

La purification de l'ADN au moyen du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini peut être entièrement automatisée sur le QIAcube. Cet automate innovant utilise une technologie de pointe pour le traitement des colonnes de centrifugation QIAGEN, ce qui permet d'intégrer en douceur la préparation automatisée à faible débit des échantillons au flux de travail du laboratoire. La procédure de préparation des échantillons avec le QIAcube suit les mêmes étapes que la procédure manuelle (à savoir : lyse, fixation, lavage et élution), ce qui permet de continuer à utiliser le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini pour la purification de l'ADN de haute qualité.

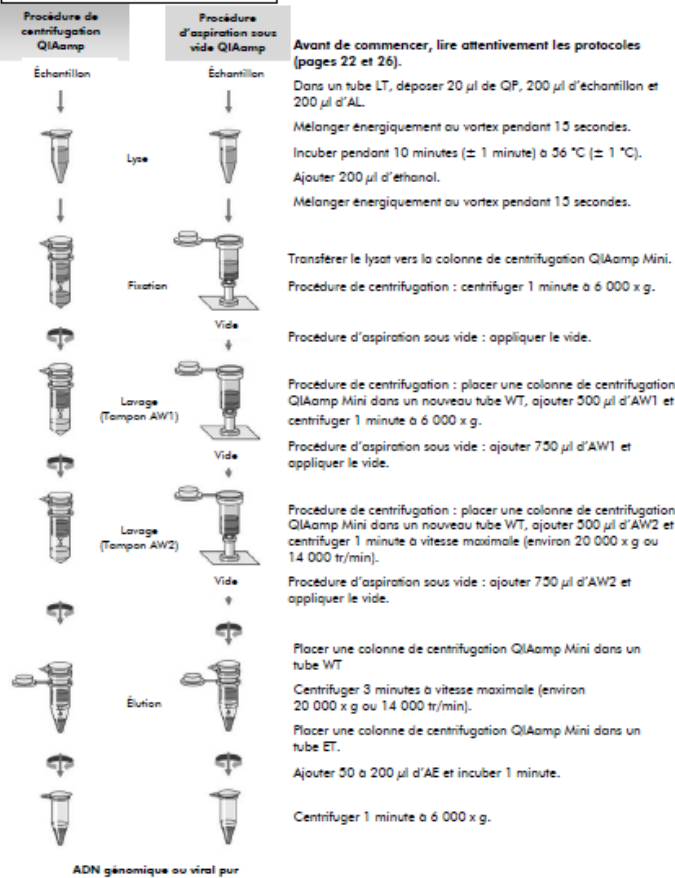
Pour en savoir plus sur la procédure automatisée, voir la fiche du protocole correspondant, disponible à l'adresse www.qiagen.com/MyQIAcube. Les fiches de protocole mises à jour peuvent être téléchargées gratuitement ou être obtenues après du Service technique QIAGEN (voir la page 35).

En cas d'automatisation du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sur l'appareil QIAcube, ce dernier risque de procéder à moins de 50 échantillons pour des raisons de volumes morts, d'évaporation et de consommation supplémentaire de réactif par le pipetage automatisé. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons en cas d'utilisation manuelle du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.



Figure 1. QIAcube.

Procédures de centrifugation et d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini



Matériel fourni

Contenu du kit

Kit QIAamp DSP DNA Blood Mini			
Référence			61104
Nombre de préparations			50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Colonnes de centrifugation QIAamp Mini avec tubes de lavage) (WT) (2 ml)	COL	50
ET	Elution Tubes (Tubes d'éluion) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (Raccords pour vide)	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes (Tubes de lyse) (1,5 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes (Tubes de lavage) (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL	Lysis Buffer (Tampon de lyse) [†]	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (concentré) (Tampon de lavage 1 [concentré])	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (concentré) (Tampon de lavage 2 [concentré])	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AE	Elution Buffer [†] (Tampon d'éluion)	ELU BUF	25 ml
PS	Protease Solvent [†] (Solvant de protéase)	QPROT SOLV	2 ml
QP	QIAGEN Protease [†] (Protéase QIAGEN)	QPROT	1 flacon
CD		MOB	1
Manuel		H B	1

* En cas d'automatisation du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sur l'appareil QIAcube, ce dernier risque de procéder à moins de 50 échantillons pour des raisons de volumes morts, d'évaporation et de consommation supplémentaire de réactif par le pipetage automatisé. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons en cas d'utilisation manuelle du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

¹ Contient du chlorure de guanidine. Incompatible avec les désinfectants contenant de l'eau de Javel. Pour plus d'informations, voir la page 11.

² Contient de l'azide de sodium comme conservateur.

³ Le volume de resuspension est de 1,2 ml. Voir « Préparation de la Protéase QIAGEN » à la page 15.

Matériel nécessaire non fourni

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Pour les procédures de centrifugation et d'aspiration sous vide

- Éthanol (96 à 100 %)
- Pipettes* et cônes (il est fortement recommandé d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols afin d'éviter toute contamination croisée)
- Gants jetables
- Bloc chauffant* pour la lyse des échantillons à 56 °C (il est recommandé d'utiliser le Thermomixer comfort Eppendorf® avec bloc chauffant pour les microtubes à essais[†] de 1,5 ml)
- Microcentrifugeuse*
- Éprouvette (50 ml)
- Agitateur-mélangeur vortex

Pour la procédure d'aspiration sous vide uniquement

- Système à vide QIAvac 24 Plus (QIAvac 24 Plus, réf. 19413 ; système de connexion QIAvac, réf. 19419 et pompe à vide, réf. 84020) ou système à vide équivalent général de laboratoire

* Afin de s'assurer du bon traitement des échantillons au cours des procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, il est fortement recommandé de calibrer tous les instruments (par exemple les pipettes et les blocs chauffants) selon les recommandations du fabricant.

[†] Cette liste de fournisseurs n'est pas exhaustive et ne mentionne pas de nombreux fournisseurs de fournitures biologiques figurant parmi les plus importants.

Informations de sécurité

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN sont disponibles et peuvent être consultées et imprimées en ligne au format PDF (pratique et compact) à l'adresse www.qiagen.com/support/MSDS.aspx.

ATTENTION : NE PAS verser de solution à base d'eau de Javel ou d'acide directement sur les déchets issus de la préparation d'échantillons.

Le tampon de lyse (AL) et le tampon de lavage 1 (AW1) contiennent du chlorhydrate de guanidine susceptible de former des composés hautement réactifs au contact de l'eau de Javel. En cas de déversement de liquide contenant ces tampons, nettoyer avec un détergent de laboratoire adapté et de l'eau. Si le liquide renversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer l'endroit contaminé d'abord avec un détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v). Si les flacons des tampons sont abîmés ou fuient, porter des gants et des lunettes de sécurité au moment de les jeter afin d'éviter tout risque de blessure.

QIAGEN n'a pas testé la présence de matières infectieuses résiduelles dans les déchets liquides générés par les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini. Une contamination des déchets liquides par des matières infectieuses résiduelles est peu probable, mais ne peut pas être complètement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés infectieux et être traités et éliminés selon les réglementations de sécurité locales.

Les mentions de risque et de sécurité suivantes s'appliquent aux composants du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

Tampon de lyse (AL) et tampon de lavage 1 (AW1)



Contient du chlorhydrate de guanidine : nocif, irritant. Mentions de risque et de sécurité : * R22-36/38, S13-26-36-46.

Protéase QIAGEN (QP)



Contient de la subtilisine : agent sensibilisant, irritant. Mentions de risque et de sécurité : * R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

Service d'urgences 24h/24

Des informations médicales d'urgence en anglais, en français et en allemand peuvent être obtenues 24 heures sur 24 auprès du :

Centre d'information Antipoison, Mayence, Allemagne

Tél. : +49-6131-19240

* R22 : Nocif en cas d'ingestion ; R36/38 : Irritant pour les yeux et la peau ; R37/38 : Irritant pour les voies respiratoires et la peau ; R41 : Risque de lésions oculaires graves ; R42 : Peut entraîner une sensibilisation par inhalation ; S13 : Conserver à l'écart des aliments et boissons, y compris ceux pour animaux ; S22 : Ne pas respirer les poussières ; S24 : Éviter le contact avec la peau ; S26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste ; S36 : Porter un vêtement de protection approprié ; S36/37/39 : Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage ; S46 : En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

Conservation et manipulation des réactifs

Les colonnes de centrifugation QIAamp Mini doivent être conservées à une température comprise entre 2 et 8 °C dès leur arrivée et peuvent être utilisées jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur la boîte du kit.

Tous les tampons peuvent être conservés à température ambiante (15 à 25 °C) jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur la boîte du kit.

La Protéase QIAGEN (QP) lyophilisée peut être conservée à température ambiante (15 à 25 °C) jusqu'à la date limite d'utilisation du kit sans altération de ses performances. La Protéase QIAGEN reconstituée est stable pendant une période maximale d'un an en cas de conservation à une température comprise entre 2 et 8 °C, mais uniquement jusqu'à la date limite d'utilisation du kit.

Le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué et le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué sont stables pendant une période maximale d'un an en cas de conservation à température ambiante (15 à 25 °C), mais uniquement jusqu'à la date limite d'utilisation du kit.

Manipulation et conservation des échantillons

Les cryoprécipités formés au cours de la décongélation des échantillons congelés risquent d'obstruer la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Si des cryoprécipités sont visibles, éviter de les aspirer au cours de l'aspiration de l'échantillon. Les effets de la congélation/décongélation des échantillons de sang sur la purification de l'ADN avec le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini ont été déterminés (voir la Figure 2).

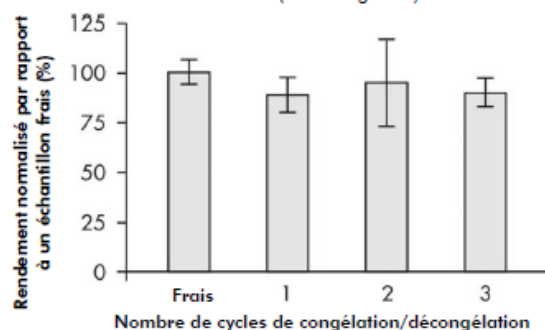


Figure 2. Effets de la congélation/décongélation des échantillons de sang. Du sang traité à l'EDTA a été congelé et décongelé jusqu'à 3 fois. L'ADN a ensuite été purifié à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Les rendements d'ADN calculés ont été normalisés par rapport au rendement d'un échantillon frais (100 %). Chaque barre de l'histogramme représente les résultats de 32 expériences effectuées en parallèle (moyenne \pm variation standard).

La quantité d'ADN purifié dans le cadre des procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini dépend de la teneur en globules blancs de chaque échantillon de sang. À l'aide de la procédure de centrifugation ou d'aspiration sous vide, l'ADN génomique est purifié à partir d'échantillons de 200 μ l de sang prélevé sur des donneurs sains. Plusieurs tubes primaires et anticoagulants peuvent être utilisés pour prélever les échantillons de sang destinés aux procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tableau 1).

Tableau 1. Rendements relatifs moyens de l'ADN des échantillons de sang prélevés à l'aide de divers tubes primaires et anticoagulants

Tube primaire	Fabricant	Référence	Volume nominal	Rendement moyen*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 μ g
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 μ g
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 μ g
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 μ g
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 μ g
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 μ g
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 μ g

L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de 200 μ l de sang prélevé sur des donneurs sains (4,0 x 10⁸ cellules par ml à 9,0 x 10⁸ cellules par ml).

* Pour chaque tube primaire, le rendement moyen a été déterminé à partir de 11 échantillons en triple.

Élimination des résidus de contaminants

Alors que l'ADN génomique reste fixé sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, les contaminants sont éliminés de manière efficace par lavage, d'abord par le tampon de lavage 1 (AW1), puis par le tampon de lavage 2 (AW2).

Élué de l'ADN génomique pur

L'ADN génomique est élué de la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini à l'aide de 50 à 200 μ l de tampon d'élué (AE). L'ADN élué est prêt à être utilisé dans le cadre de diverses analyses en aval, y compris différentes analyses de diagnostic in vitro en aval.

Remarques importantes

Remarques préliminaires importantes

- Après réception du kit, vérifier que les éléments du kit ne sont pas endommagés. Si les emballages blister ou les flacons de tampon sont endommagés, contacter le Support technique QIAGEN ou le distributeur local. Si du liquide a été renversé, se reporter aux « Informations de sécurité » (page 10). Ne pas utiliser de composants endommagés. Leur utilisation risque d'engendrer une détérioration des performances du kit.
- Toujours remplacer les cônes des pipettes entre chaque transfert de liquide. Afin de limiter les contaminations croisées, il est recommandé d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols.
- Toutes les étapes de centrifugation sont menées à bien à température ambiante (15 à 25 °C).
- Toujours utiliser des gants jetables et s'assurer régulièrement qu'ils ne sont pas contaminés par l'échantillon. Jeter les gants s'ils sont contaminés.
- N'ouvrir qu'un tube à la fois afin de limiter les risques de contamination croisée.
- Ne pas utiliser, avec le kit en cours d'utilisation, de composants issus de kits différents, à moins que le numéro du lot ne soit identique.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs du kit.
- Afin de limiter les risques d'infection par des matières potentiellement infectieuses, il est recommandé de travailler dans des conditions de flux laminaire jusqu'à ce que les échantillons soient lysés.
- Le kit doit uniquement être utilisé par du personnel formé aux pratiques d'un laboratoire de diagnostic in vitro.

Préparation des réactifs et tampons

■ Préparation de la Protéase QIAGEN

Ajouter 1,2 ml de solvant de protéase (PS) dans le flacon de protéase QIAGEN (QP) lyophilisée et mélanger avec précaution. Pour éviter que le mélange ne mousse, mélanger en retournant plusieurs fois le flacon. Vérifier que la Protéase QIAGEN (QP) est entièrement dissoute.

- ⓘ Ne pas ajouter la Protéase QIAGEN (QP) directement sur le tampon de lyse (AL).

■ Préparation du tampon de lavage 1

À l'aide d'une éprouvette, ajouter 25 ml d'éthanol (96 à 100 %) dans le flacon contenant 19 ml de tampon de lavage 1 (AW1) concentré. Conserver le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué à température ambiante (15 à 25 °C).

- ⓘ Avant de commencer la procédure, toujours mélanger le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué en retournant plusieurs fois le flacon.

■ Préparation du tampon de lavage 2

À l'aide d'une éprouvette, ajouter 30 ml d'éthanol (96 à 100 %) dans le flacon contenant 13 ml de tampon de lavage 2 (AW2) concentré. Conserver le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué à température ambiante (15 à 25 °C).

- ⓘ Avant de commencer la procédure, toujours mélanger le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué en retournant plusieurs fois le flacon.

■ Préparation du tampon d'éluion

Le kit comprend un flacon de tampon d'éluion (AE). Afin d'éviter toute contamination du tampon d'éluion (AE), il est fortement recommandé non seulement d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols pour le pipetage du tampon d'éluion (AE), mais également de refermer immédiatement le flacon.

- ⓘ Le tampon d'éluion (AE) contient de l'azide de sodium comme agent de conservation. Son absorbance est de 260 nm. Par conséquent, vérifier que le blanc contient la même concentration d'azide de sodium que l'éluat lors de la quantification de l'ADN dans l'éluat par mesure de l'absorbance à 260 nm, lors de la détermination de la pureté de l'ADN dans l'éluat par mesures de l'absorbance à 260 nm et 280 nm ou lors du balayage de l'absorbance dans la plage de 220 nm à 350 nm. Par exemple, en cas de préparation de l'éluat pour une mesure de l'absorbance en diluant 50 µl d'éluat dans 100 µl d'eau, il convient de préparer le blanc en diluant 50 µl de tampon d'éluion (AE) dans 100 µl d'eau. Pour les dilutions, utiliser de l'eau fraîche et distillée.

Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini

En raison de la sensibilité des technologies d'amplification des acides nucléiques, il est nécessaire de prendre les précautions suivantes lors de la manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini afin d'éviter toute contamination croisée entre les préparations d'échantillons :

- Transférer avec précaution l'échantillon ou la solution vers la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Déposer l'échantillon dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini à l'aide d'une pipette sans mouiller le bord de la colonne.
- Toujours remplacer les cônes des pipettes entre chaque transfert de liquide. Il est recommandé d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols.
- Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.
- Après toutes les étapes d'homogénéisation par impulsions au vortex, centrifuger brièvement les tubes de microcentrifugation afin d'éliminer les gouttes présentes à l'intérieur des capuchons.
- Ouvrir une seule colonne de centrifugation QIAamp Mini à la fois et prendre garde à ne pas générer d'aérosols.
- Porter des gants pendant toute la procédure. En cas de contact des gants avec l'échantillon, les changer immédiatement.

Élution de l'ADN génomique

Le volume d'ADN élué d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini peut être inférieur de 20 µl maximum par rapport au volume de tampon d'éluion (AE) déposé sur la colonne. Le volume d'éluat récupéré dépend de la nature de l'échantillon. Amener le tampon d'éluion (AE) à température ambiante (15 à 25 °C) avant de le déposer sur la colonne. L'ADN élué est récolté dans les tubes d'éluion (ET). En cas de conservation de l'ADN pour une période maximale de 4 semaines, il est recommandé de le conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C. Pour une conservation à long terme, il est conseillé de le conserver à -20 °C.

Rendement et qualité de l'ADN génomique

Le rendement et la qualité de l'ADN génomique isolé sont adaptés à de nombreux types de procédures de détection en aval dans le domaine du diagnostic moléculaire. Les analyses diagnostiques doivent être réalisées selon les instructions du fabricant.

Configuration du système à vide QIAvac 24 Plus

S'assurer de correctement configurer la colonne de centrifugation QIAamp Mini, le raccord pour vide (VC) et la vanne de dépression (voir la Figure 3).



Figure 3. Assemblage des composants du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini pour le traitement sous vide des échantillons.

1. Vanne de dépression (fournie avec le système à vide)
2. Raccord pour vide (VC)
3. Colonne de centrifugation QIAamp Mini

En cas d'application de la procédure d'aspiration sous vide avec le système à vide QIAvac 24 Plus, il est recommandé d'étiqueter les tubes de lyse (LT), les tubes d'éluion (ET) et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini selon le schéma de la Figure 4 (voir la page suivante), afin d'éviter de mélanger les échantillons. Cette image peut être photocopiée afin d'y noter le nom des échantillons. Il est recommandé d'utiliser un schéma similaire avec d'autres systèmes à vide ou dans le cadre de la procédure de centrifugation.

Date : _____
Opérateur : _____
ID du cycle : _____

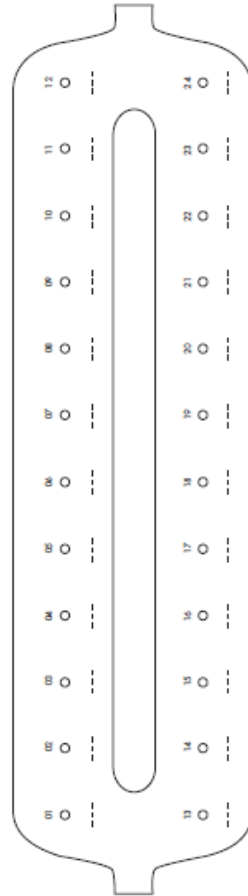


Figure 4. Schéma d'étiquetage des tubes de lyse (LT), des tubes d'élution (ET) et des colonnes de centrifugation QIAamp Mini utilisés sur le système à vide QIAvac 24 Plus.

Protocole : isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'un système à vide

Isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de 200 µl de sang total traités à l'EDTA ou au citrate, avec un système à vide tel que le système à vide QIAvac 24 Plus.

Remarques importantes avant de commencer

- La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Il est toutefois possible de traiter simultanément sur le système à vide QIAvac 24 Plus jusqu'à 24 échantillons.

À faire avant de commencer

- Amener les échantillons de sang à température ambiante (15 à 25 °C) et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- Si nécessaire, dissoudre les précipités présents dans le tampon de lyse (AL) par incubation à 56 °C.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1), le tampon de lavage 2 (AW2) et la Protéase QIAGEN (QP) ont bien été préparés selon les instructions de la section « Préparation des réactifs et tampons » aux pages 15 et 16.
- Amener le tampon d'élution (AE) à température ambiante (15 à 25 °C) pour l'étape 14.
- Préchauffer un bloc chauffant à 56 °C pour l'étape 4.
- Insérer un raccord pour vide (VC) dans chaque adaptateur Luer du système à vide pour limiter la contamination croisée.
- Les procédures de contrôle qualité QIAGEN impliquent une mise à l'essai pour chaque lot de kits. Par conséquent, il convient de ne pas mélanger les réactifs issus de différents lots de kits et de ne pas combiner les réactifs issus de différents lots de réactifs.
- Vérifier que le flacon à déchets du système à vide est vide et que tous les raccords sont bien connectés.
- Pour plus d'informations sur le fonctionnement du système à vide, plus particulièrement sur sa maintenance, se référer au manuel fourni avec le système.

Procédure

1. Transférer à la pipette 20 µl de Protéase QIAGEN (QP) dans un tube de lyse (LT).

i Avant de l'utiliser, vérifier la date d'expiration de la protéase reconstituée.

2. Ajouter 200 µl d'échantillon de sang dans le tube de lyse (LT).
3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et mélanger au moyen d'impulsions au vortex pendant 15 secondes.

Pour assurer une lyse efficace, il est essentiel de bien mélanger l'échantillon et le tampon de lyse afin d'obtenir une solution homogène.

i Puisque le tampon de lyse (AL) présente une forte viscosité, s'assurer d'ajouter le bon volume de tampon de lyse (AL) en le déposant avec précaution au moyen d'une pipette ou en utilisant une pipette adaptée.

i Ne pas ajouter la Protéase QIAGEN (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

4. Incuber pendant 10 minutes (± 1 minute) à 56 °C (± 1 °C).
5. Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.
6. Ajouter 200 µl d'éthanol (96 à 100 %) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et bien mélanger pendant 15 secondes ou plus au moyen d'impulsions au vortex.
7. Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.

8. Insérer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans le raccord pour vide (VC) du système à vide. S'assurer que la principale vanne de dépression (entre le système à vide et le collecteur de vide) et la vanne du capuchon à vis (sur le collecteur de vide) sont fermées. Mettre la pompe à vide sous tension.

Mettre au rebut le tube de lavage (WT) (2 ml) dans lequel la colonne de centrifugation QIAamp Mini est placée dans le blister.

Le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

9. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.

i Pour le traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois.

10. Ouvrir la principale vanne de dépression. Une fois le lysat passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la principale vanne de dépression et ouvrir la vanne du capuchon à vis du collecteur de vide afin de permettre l'évacuation du collecteur. Fermer la vanne du capuchon à vis une fois le vide du collecteur évacué.

Une fois la principale vanne de dépression fermée, le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

i Utiliser la vanne du capuchon à vis du collecteur de vide pour évacuer rapidement le vide.

i Pour traiter plusieurs colonnes de centrifugation QIAamp Mini à la fois, il est recommandé de fermer la vanne de dépression de chaque colonne une fois le lysat passé, afin de réduire le temps de cette étape.

i Si le lysat n'est pas entièrement passé à travers la membrane au bout de 10 minutes, placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT), fermer le capuchon et centrifuger 3 minutes à 6 000 x g (8 000 tr/min) ou jusqu'à ce que le lysat soit complètement passé à travers la membrane. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un autre nouveau tube de lavage (WT) et continuer avec l'étape 10 du protocole de la page 25.

i Si le lysat ne passe toujours pas à travers la membrane pendant la centrifugation, mettre l'échantillon au rebut et répéter l'isolation et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant avec l'étape 1 de la page 21.

11. Déposer 750 µl de tampon de lavage 1 (AW1) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette. Laisser le capuchon de la colonne ouvert et ouvrir la principale vanne de dépression. Une fois le tampon de lavage 1 (AW1) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la principale vanne de dépression et ouvrir la vanne du capuchon à vis afin de permettre l'évacuation du collecteur. Fermer la vanne du capuchon à vis une fois le vide du collecteur évacué.
12. Déposer 750 µl de tampon de lavage 2 (AW2) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini

avec le cône de la pipette. Laisser le capuchon de la colonne ouvert et ouvrir la principale vanne de dépression. Une fois le tampon de lavage 2 (AW2) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la principale vanne de dépression et ouvrir la vanne du capuchon à vis afin de permettre l'évacuation du collecteur. Fermer la vanne du capuchon à vis une fois le vide du collecteur évacué.

13. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, le retirer du système à vide et mettre le raccord pour vide (VC) au rebut. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et centrifuger 3 minutes à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min) pour sécher la membrane complètement.

i L'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'analyse en aval.

14. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'éluion (ET) et mettre le tube de lavage (WT) contenant le filtrat au rebut. Ouvrir le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer au centre de la membrane 50 à 200 µl de tampon d'éluion (AE). Fermer le capuchon et incubé à température ambiante (15 à 25 °C) pendant 1 minute. Centrifuger pendant 1 minute à 6 000 x g (8 000 tr/min) afin d'éluier l'ADN.

i Une fois la procédure terminée, suivre les instructions de maintenance pour le système à vide (pour plus d'informations, se référer au manuel fourni avec le système à vide).

Protocole : isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'une microcentrifugeuse

Isolation et purification de l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total traité à l'EDTA ou au citrate, avec une microcentrifugeuse.

Remarques importantes avant de commencer

- La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Il est toutefois possible de traiter simultanément plusieurs échantillons. Le nombre dépend de la capacité de la microcentrifugeuse utilisée.

À faire avant de commencer

- Amener les échantillons de sang à température ambiante (15 à 25 °C) et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- Si nécessaire, dissoudre les précipités présents dans le tampon de lyse (AL) par incubation à 56 °C.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1), le tampon de lavage 2 (AW2) et la Protéase QIAGEN (QP) ont bien été préparés selon les instructions de la section « Préparation des réactifs et tampons » aux pages 15 et 16.
- Amener le tampon d'éluion (AE) à température ambiante (15 à 25 °C) pour l'étape 15.
- Préchauffer un bloc chauffant à 56 °C pour l'étape 4.
- Les procédures de contrôle qualité QIAGEN impliquent une mise à l'essai pour chaque lot de kit. Par conséquent, il convient de ne pas mélanger les réactifs issus de différents lots de kits et de ne pas combiner les réactifs issus de différents lots de réactifs.

Procédure

1. Transférer à la pipette 20 µl de Protéase QIAGEN (QP) dans un tube de lyse (LT).

i Avant de l'utiliser, vérifier la date d'expiration de la protéase reconstituée.

2. Ajouter 200 µl d'échantillon de sang dans le tube de lyse (LT).
3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et mélanger au moyen d'impulsions au vortex pendant 15 secondes.

Pour assurer une lyse efficace, il est essentiel de bien mélanger l'échantillon et le tampon de lyse (AL) afin d'obtenir une solution homogène.

- i** Puisque le tampon de lyse (AL) présente une forte viscosité, s'assurer d'ajouter le bon volume de tampon de lyse (AL) en le déposant avec précaution au moyen d'une pipette ou en utilisant une pipette adaptée.
- i** Ne pas ajouter la Protéase QIAGEN (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).
- 4. Incuber pendant 10 minutes (\pm 1 minute) à 56 °C (\pm 1 °C).
- 5. Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.
- 6. Ajouter 200 μ l d'éthanol (96 à 100 %) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et bien mélanger pendant 15 secondes ou plus au moyen d'impulsions au vortex.
- 7. Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.
- 8. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.
- i** Pour le traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois.
- 9. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ 6 000 x g pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
- i** Si le lysat n'est pas complètement passé à travers la membrane après la centrifugation à 6 000 x g (8 000 tr/min), centrifuger encore 1 minute à vitesse maximale (jusqu'à 20 800 xg).
- i** Si le lysat ne passe toujours pas à travers la membrane pendant la centrifugation, mettre l'échantillon au rebut et répéter l'isolation et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant par l'étape 1 de la page 24.
- 10. Ouvrir la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et ajouter 500 μ l de tampon de lavage 1 (AW1) sans mouiller le bord de la colonne. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.

- 11. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ 6 000 x g pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
- 12. Ouvrir la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et ajouter 500 μ l de tampon de lavage 2 (AW2) sans mouiller le bord de la colonne. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.
- 13. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min) pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
- 14. Centrifuger pendant 3 minutes à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min) pour sécher la membrane complètement.
- i** L'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'analyse en aval.
- 15. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'élution (ET) et mettre le tube de lavage (WT) contenant le filtrat au rebut. Ouvrir le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer au centre de la membrane 50 à 200 μ l de tampon d'élution (AE). Fermer le capuchon et incubé à température ambiante (15 à 25 °C) pendant 1 minute. Centrifuger pendant 1 minute à environ 6 000 x g (8 000 tr/min) afin d'éluer l'ADN.

Contrôle qualité

En accord avec le système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini est testé par rapport aux spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

Limites

La performance du système a été établie à l'aide de sang total pour l'isolation de l'ADN génomique.

Il incombe aux utilisateurs de valider la performance du système pour toutes les procédures utilisées dans leur laboratoire non couvertes par les études de performance QIAGEN.

Afin de limiter les risques d'impact négatif sur les résultats diagnostiques, les contrôles adéquats doivent être utilisés pour les applications en aval. Pour une validation ultérieure, il est conseillé de suivre les directives de la Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques (ICH) exposées dans *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures : Text And Methodology*.

Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés conjointement à d'autres résultats cliniques ou de laboratoire.

Caractéristiques de performance

Rendement de l'ADN purifié

L'échelle linéaire du rendement de l'ADN avec la procédure d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini a été déterminée à partir de sang prélevé sur des donneurs sains, avec un nombre de globules blancs compris entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml (voir la Figure 5, page 28).

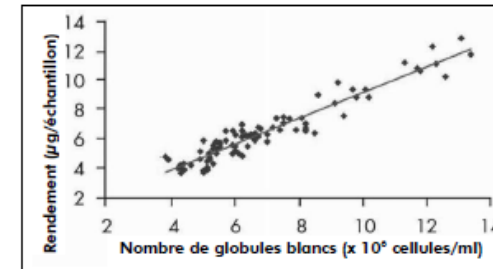


Figure 5. Échelle linéaire du rendement d'ADN avec la procédure d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini et 200 μl de volume d'éluat. Le nombre de globules blancs présents dans le sang prélevé sur des donneurs sains a été déterminé et était compris entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml. L'ADN des échantillons de sang a été purifié à l'aide de la procédure d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini avec un volume d'éluat de 200 μl . 87 échantillons ont été traités en triple.

Performance des analyses en aval

L'ADN génomique élué peut être utilisé dans différentes analyses en aval, y compris diverses analyses de diagnostic in vitro en aval (Tableaux 2 à 6). Les effets du volume d'éluat et du volume d'éluat utilisé dans le cadre d'une amplification en chaîne par polymérase (PCR) sur la performance de cette dernière ont été déterminés (voir le Tableau 7).

Tableau 2. Typage HLA à l'aide des analyses SSP Dynal® AllSet™ - HLA-A « Basse résolution », HLA-B « Basse résolution », DR « Basse résolution » et DQ « Basse résolution »

HLA locus A		HLA locus B		HLA locus DR		HLA locus DQ	
Génotype	N°	Génotype	N°	Génotype	N°	Génotype	N°
A2/A3	2	B51, B51/B13 ou B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 ou DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 ou B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Autre	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Autre	0			DR15	1	Autre	0
				DR1/DR7	1		
				Autre	0		

Du sang total a été prélevé sur des donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Grâce aux analyses SSP Dynal AllSet⁺ (Dynal Biotech), des allèles ont été identifiés au loci indiqué pour un nombre d'individus donné. N° : nombre d'individus.

Tableau 3. Génotypage du facteur V de Leiden à l'aide du kit de détection de mutation du facteur V de Leiden LightCycler®

Génotype	Nombre
Sauvage	17
FV G16191 A hétérozygote	13
FV G16191 A homozygote	0

Du sang total a été prélevé sur 30 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le statut allélique au niveau du locus FV G1691 A a été déterminé à l'aide du kit de détection de mutation du facteur V de Leiden LightCycler (Groupe Roche).

Tableau 4. Génotypage du facteur V de Leiden (FV) à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing® avec kit PSQ-96 SNP-Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA

Génotype	Nombre
Sauvage	17
FV G16191 A hétérozygote	13
FV G16191 A homozygote	0

Du sang total a été prélevé sur 30 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le statut allélique au locus FV G1691 A a été déterminé à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing avec kit PSQ-96 SNP-Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tableau 5. Génotypage de la prothrombine (PT) à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing avec kit PSQ-96 SNP-Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA

Génotype	Nombre
Sauvage	30
PT G20210A hétérozygote	0
PT G20210A homozygote	0

Du sang total a été prélevé sur 30 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le statut allélique au locus PT G20210A a été déterminé à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing avec kit PSQ-96 SNP Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tableau 6. Analyse des polymorphismes de l'ApoE T112C et C158T à l'aide d'une PCR en point final, avec séquençage de l'amplicon à l'aide du kit de séquençage du cycle de réaction BigDye™ v1.1 et d'une séparation sur le séquenceur ABI PRISM® 3100

Génotype	Nombre
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Autre	0

Du sang total a été prélevé sur 10 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. L'analyse des polymorphismes de l'ApoE T112C et C158T a été exécutée à l'aide d'une PCR en point final, avec séquençage de l'amplicon avec le kit de séquençage du cycle de réaction BigDye v1.1 et d'une séparation sur le séquenceur ABI PRISM 3100 (Life Technologies Corporation).

Tableau 7. Effets du volume d'éluat et du volume d'éluat utilisé dans le cadre de la PCR sur la performance de cette dernière

Volume d'éluat	Volume d'éluat par PCR de 50 µl*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100 %	100 %	97 %
200 µl	100 %	100 %	100 %

* Les valeurs indiquent le pourcentage de détection PCR et représentent 48 échantillons.

Stabilité de l'éluat

Les analyses de conservation de l'éluat réalisées avec le kit QIAamp DNA Blood Mini, kit de laboratoire général fondé sur la même technologie, ont démontré que l'ADN élué avec le tampon AE à partir de colonnes de centrifugation QIAamp Mini était stable 8 ans à 5 °C ou à -20 °C (Figure 6). Cependant, les études à long terme sur la stabilité de l'éluat menées à bien avec le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sont en cours.

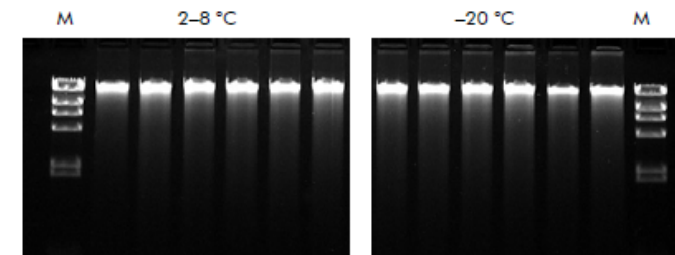


























Figure 6. Stabilité à long terme de l'ADN isolé et purifié à l'aide de colonnes de centrifugation QIAamp Mini. L'ADN a été purifié avec le kit QIAamp DNA Blood Mini, élué dans 200 µl de tampon AE et conservé 8 ans à une température comprise entre 2 et 8 °C ou à -20 °C. Les échantillons d'ADN ont été analysés sur un gel d'agarose coloré au bromure d'éthidium. **M** : marqueur.

Symboles

	Contient suffisamment de réactifs pour <N> préparations d'échantillons
	À utiliser avant
	Matériel médical destiné au diagnostic in vitro
	À l'arrivée
	Ouvrir à l'arrivée ; conserver les colonnes de centrifugation QIAamp Mini à une température comprise entre 2 et 8 °C
	Référence du catalogue
	Numéro de lot
	Référence du matériel
	Composants
	Contient
	Nombre
	Volume
	Limite de température
	Fabricant
	Noter la date du jour sur le flacon après avoir ajouté l'éthanol
	Ajouter

	Lyophilisé
	Reconstituer dans
	Éthanol
	Chlorhydrate de guanidine
	Subtilisine
	Mène à
	Lire le mode d'emploi
	Remarque importante

Références

QIAGEN tient à jour une vaste banque de données en ligne de publications scientifiques mentionnant les produits QIAGEN. Des critères de recherche permettent de trouver les articles à l'aide d'un mot-clé ou en spécifiant l'application, le domaine de recherche, le titre, etc.

Pour une bibliographie complète, visiter la Base de données bibliographique QIAGEN en ligne à l'adresse www.qiagen.com/RefDB/search.asp ou contacter les Services techniques de QIAGEN ou le distributeur local.

Coordonnées

Chez QIAGEN, nous sommes fiers de la qualité et de la disponibilité de notre support technique. Nos services techniques sont composés de scientifiques expérimentés bénéficiant d'un vaste savoir-faire pratique et théorique en ce qui concerne les technologies d'échantillons et d'analyses et l'utilisation des produits QIAGEN. N'hésitez pas à nous contacter si vous avez des questions ou rencontrez des difficultés concernant le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini ou les produits QIAGEN en général.

Les clients de QIAGEN constituent une importante source d'informations au sujet des utilisations avancées ou spécialisées de nos produits. Ces informations sont utiles à d'autres scientifiques, ainsi qu'aux chercheurs de QIAGEN. En conséquence, n'hésitez pas à prendre contact avec nous pour toute suggestion concernant les performances des produits ou de nouvelles applications et techniques.

Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique sur le site www.qiagen.com/Support ou appeler l'un des Départements du service technique de QIAGEN ou des distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, D-40724 Hilden, Allemagne

Pour commander

Produit	Description	Référence
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Pour 50 préparations d'ADN : Colonnes de centrifugation QIAamp Mini, raccords pour vide, Protéinase QIAGEN, réactifs, tampons et tubes de prélèvement	61104
Accessoires		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Collecteur de vide pour le traitement de 1 à 24 colonnes de centrifugation : Collecteur de vide QIAvac 24 Plus, prises Luer, raccords rapides	19413
Vacuum Pump*	Pompe à vide universelle	84020

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être sollicités auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

* À utiliser dans le cadre des protocoles d'aspiration sous vide.

Marques déposées : QIAAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, artu®, Pyrosequencing® (Groupe QIAAGEN) ; ABI PRISM®, QxDye™ (Life Technologies Corporation) ; BD™, Vacuette® (Becton, Dickinson and Company) ; Dia-On®, Vacuette® (Grainer Bio-Onco) ; Dyna®, AllSet™ (Dyna Biotech) ; Eppendorf® (Eppendorf AG) ; LightCycler® (Groupe Roche) ; Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Les noms enregistrés, les marques déposées etc., utilisés dans ce document, même si non mentionnés comme tels ne peuvent être considérés comme non protégés juridiquement.

Accord de licence limitée pour le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du produit accepte les conditions suivantes :

1. Le produit peut être utilisé seul conformément aux protocoles fournis, à ce manuel et avec les composants contenus dans le kit uniquement. QIAAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, ce manuel et d'autres protocoles disponibles à l'adresse www.qiagen.com. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par des utilisateurs QIAAGEN pour les utilisateurs QIAAGEN. Ces protocoles n'ont pas été testés de manière approfondie ni optimisés par QIAAGEN. QIAAGEN ne garantit pas non plus qu'ils n'enfreignent pas de droits de tiers.
2. Malgré les licences énoncées ci-dessus, QIAAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son(s) utilisation(s) ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAAGEN rejette notamment toutes autres licences, expresse ou tacite, autres que celles énoncées ci-dessus.
5. L'acheteur et l'utilisateur des kits consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les termes précédents. QIAAGEN peut faire appliquer des interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recevoir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir www.qiagen.com.

© 2012 QIAAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Australia = techservice-au@qiagen.com

Austria = techservice-at@qiagen.com

Belgium = techservice-bnl@qiagen.com

Brazil = suportetecnico.brazil@qiagen.com

China = techservice-cn@qiagen.com

Denmark = techservice-nordic@qiagen.com

Finland = techservice-nordic@qiagen.com

France = techservice-fr@qiagen.com

Germany = techservice-de@qiagen.com

Hong Kong = techservice-hk@qiagen.com

India = techservice-india@qiagen.com

Ireland = techservice-uk@qiagen.com

Italy = techservice-it@qiagen.com

Japan = techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) = techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg = techservice-bnl@qiagen.com

Mexico = techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands = techservice-bnl@qiagen.com

Norway = techservice-nordic@qiagen.com

Singapore = techservice-sg@qiagen.com

Sweden = techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland = techservice-ch@qiagen.com

UK = techservice-uk@qiagen.com



107110696_14233133

Sample & Assay Technologies

Annexe 15

	Vérification de la saisie manuelle au LCH	Page 1 sur 1
---	--	--------------

1 DESCRIPTION DE L'INSTRUCTION DE TRAVAIL :

Cette instruction décrit les modalités de vérification de toutes les saisies manuelles sur le LCH. Selon les exigences du chapitre 5.10 Gestion des informations de laboratoire du SH REF 02.

Elle concerne toutes les personnes susceptibles de réaliser des saisies manuelles dans le SIL : agent de réception ACB, secrétaires médicales, technicien(ne)s de laboratoire et biologistes.

- Les saisies manuelles de demande d'examens dans le SIL par les agents de réception ACB, par des secrétaires médicales, ou des technicien(n)s de laboratoires sont vérifiées immédiatement par les technicien(ne)s de laboratoire à la réception et la prise en charge des échantillons dans leur secteur. Toute erreur sera signalée par une NC et corrigée, selon l'instruction relative à la réception des prélèvements.
- Les saisies manuelles de résultats dans le SIL sont vérifiées par les biologistes responsables du secteur au moment de la validation biologique. Toute erreur sera également signalée par une NC et corrigée, selon l'instruction relative à la validation biologique.

Toutes ces vérifications sont tracées par un parafe de la personne responsable de la vérification : sur la feuille de demande pour les saisies de demande d'examens et sur les feuilles de travail pour les résultats d'examens.

N°9 JUILLET 2016

La lettre qualité

Saint-Louis, Lariboisière, Fernand-Widal

Spécial certification

ÉDITORIAL



Eve PARIER
Directrice du
Groupe Hospitalier

“ La prochaine certification, dont la visite aura lieu au cours de la première quinzaine d'octobre 2016, est fondée sur une méthode très structurée qui passe au crible l'ensemble des thématiques que nous traitons dans nos activités. Pour chacune de ces thématiques une analyse des risques est attendue ainsi qu'une identification des actions d'amélioration pour les risques les plus importants. Cette analyse et les propositions d'actions sont issues du travail de responsables de terrain et ont été colligées dans notre "compte qualité".

Depuis l'automne, les pilotes de processus et toutes les personnes qui se sont associées à la préparation du compte qualité ont effectué un travail conséquent. Je tiens à les remercier pour leur implication. Cette étape a permis d'identifier les risques encourus par nos patients et par extension par les professionnels qui en ont la responsabilité et les dispositifs de maîtrise en place. Nous devons maintenant être pragmatiques et réactifs. Les actions d'amélioration planifiées pour corriger les risques doivent rapidement être mises en œuvre par les personnes ressources. Pour nous préparer à la visite de certification, nous avons sollicité des experts visiteurs travaillant à l'AP-HP pour des "visites à blanc" sur certaines thématiques. Les 4 visites à blanc qui ont été réalisées sur le GH doivent aussi nous guider pour définir les axes de travail pour les mois à venir. L'appropriation des professionnels à la démarche qualité passe par une bonne information de tous les professionnels. Cette lettre qualité spéciale certification a été conçue en ce sens. Le but est que chaque professionnel s'approprie les actions d'amélioration, les évaluations (résultats des Indicateurs Qualité et Sécurité des Soins (IQSS) de son service et s'engage dans le chemin de l'amélioration des pratiques pour la sécurité de soins.



Rémy NIZARD
Président de la
Commission Médicale
d'Établissement Locale

“ En écho au propos de Eve Parier que je partage, j'ai envie d'être extrêmement pratique. Axons nos efforts en premier lieu sur les risques majeurs et mal maîtrisés. Ensuite nous connaissons les points cruciaux sur lesquels il n'y aura pas de transigeance possible des experts visiteurs, je citerai pour exemple la prescription médicamenteuse orale non régularisée. Par ailleurs, il y a des comportements individuels sur lesquels chacun peut facilement agir, je citerai les tenues pyjamas des blocs, réanimation, portées en dehors des zones contrôlées. Pour terminer sur une note positive, enrichissons-nous de ce qui est bien fait, partageons nos expériences. La culture qualité existe déjà dans de nombreux services de notre GH qui se sont engagés dans des démarches de patient traceur, d'itinéraire clinique, d'évaluation des pratiques professionnelles, des parcours patients. Poursuivons nos efforts pour le plus grand bénéfice de nos patients.



SOMMAIRE

Management de la qualité et des risques	2
Qualité de vie au travail	3
Gestion du risque infectieux	4
Droits des patients	5
Parcours patient	6
Prise en charge de la douleur	7
Prise en charge des patients en fin de vie	8
Dossier patient	9
Identification du patient à toutes les étapes de sa prise en charge	10
Management de la prise en charge médicamenteuse	11
Prise en charge des urgences et des soins non programmés	12
Système d'information	13
Management de la prise en charge du patient du bloc	14
Secteur à risques : endoscopie	15
Secteur à risques : prise en charge du patient en Imagerie Interventionnelle	16
Secteur à risques : Prise en charge du patient en salle de naissance	17
Secteur à risques : médecine nucléaire	18
Secteur à risques : prise en charge du patient en radiothérapie	19
Premier bilan au sein des CHU	20

LE COMPTE QUALITÉ : UNE BASE DE TRAVAIL ÉVOLUTIVE DU NOUVEAU CYCLE DE LA CERTIFICATION HAS.

La Lettre Qualité "spéciale certification" a pour objectif de présenter de manière synthétique et pédagogique les risques et actions d'amélioration proposées pour le compte qualité sur les 15 thématiques qui seront investiguées lors de la visite de certification. Ces données (risques et actions) ont été transmises le 1^{er} avril à la HAS, après validation du comité de pilotage qualité du GH.

L'intégralité des actions d'amélioration identifiées est également intégrée dans le Programme d'Amélioration de la Qualité et de la Sécurité des Soins (PAQSS) qui fait aussi l'objet d'un suivi.

Par ailleurs des thématiques facultatives qui ne sont pas exigées par la HAS dans le cadre du compte qualité, peuvent être inscrites au périmètre de la visite.

Pour chacune des thématiques un groupe de pilotage a été constitué: les pilotes de processus ont été désignés au cours de l'année 2015 auprès de la communauté médicale, soignante et administrative de l'établissement pour chacune des thématiques HAS.

Les groupes de pilotes se sont réunis

à plusieurs reprises depuis le mois de novembre 2015, accompagnés sur le plan méthodologique par des membres de la DUSIQ (Direction des Usagers, du Système d'Information et de la Qualité) afin d'analyser la thématique, d'identifier les principaux risques et de proposer des plans d'actions d'amélioration. Pour identifier les risques les plus importants, il a été procédé à leur priorisation avec le calcul d'un score de criticité, obtenu en croisant la gravité du risque et sa vraisemblance d'apparition. Les grilles HAS suivantes ont été utilisées:

Exemple d'échelle de gravité		Et, d'échelle de vraisemblance	
G1 Mineure	Conséquences mineures sans préjudice (ex : retard simple)	V1 Très improbable ou "jamais vu"	
G2 Significative	Incident avec préjudice temporaire (ex : retard avec désorganisation de la prise en charge)	V2 Très peu probable ou "tu une fois dans ma carrière"	
G3 Majeure	Incident avec impact (ex : report, prolongation anormale de l'hospitalisation, transfert non prévu en réanimation, perte de fonction transitoire)	V3 Peu probable ou "tu dans d'autres établissements"	
G4 Critique	Conséquences graves (ex : ré-intervention, préjudice ayant un retentissement sur la vie quotidienne, incapacité partielle permanente)	V4 Possible / Probable ou "survient dans l'établissement"	
G5 Catastrophique	Conséquences très graves (ex : invalidité permanente, séquelles graves, décès)	V5 Très probable à certain ou "vécu dans mon secteur d'activité"	

Pour chaque risque identifié, le dispositif de maîtrise en place a été décrit. Cette description a permis d'évaluer le niveau de maîtrise du risque, tel que défini dans la grille ci-dessous.

Niveau	Description synthétique
Niveau 1	On sait faire face, bonne maîtrise : plans avec exercices et formations, veille, contrôle, amélioration continue
Niveau 2	On a tout prévu : plans d'actions en place avec indicateurs
Niveau 3	On a organisé : organisation en place sans évaluation
Niveau 4	On est en alerte : quelques actions mais insuffisantes - veille mais sans actions
Niveau 5	On découvre le risque : aucune action en place - études en cours - actions inefficaces...

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé à son élaboration.

Franck Fouchère, directeur des Usagers, du Système d'Information et de la Qualité
Fabien Martinez, responsable Qualité, Risques, Usagers

