

Université Pierre et Marie Curie

Sorbonne Universités

MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE

**« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE
MEDICALE »**

ACCREDITATION EN MICROBIOLOGIE :

**Analyse de risques *a priori* de l'examen cytologique et de la mise
en culture des prélèvements génitaux**

FANTINATO Christine

Laboratoire SEVRE BIOLOGIE

1 rue du soleil levant

85290 MORTAGNE SUR SEVRE

Année 2015-2016

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 :

Fantinato Christine, pharmacien biologiste, co-responsable du secteur Microbiologie au laboratoire. En poste, depuis octobre 2012, au Laboratoire de Biologie Médicale SEVRE BIOLOGIE situé en Vendée et Loire Atlantique.

Sommaire

I. Introduction	5
II. Présentation générale	6
1. Présentation de la structure	6
2. Etat d'avancement du laboratoire en terme de qualité	7
III. Etats des lieux	8
1. Nature des examens	8
2. Etat des lieux de la documentation existante	9
3. Etat des lieux des contrôles de qualité existant	10
4. Etat des lieux des formations/habilitations/maintien des compétences du personnel	10
IV. Méthodologie mise en œuvre	12
1. Approche processus	12
2. Méthode des 5M	12
a. Maîtrise de la matière	13
b. Maîtrise du matériel	14
c. Maîtrise du milieu.....	15
d. Maîtrise de la méthode	16
e. Maîtrise de la main d'œuvre	17
f. Indices de criticité	18
V. Résultats	18
1. Gestion documentaire	19
a. Finalisation du document à destination des préleveurs externes et travail sur le manuel de prélèvement en ligne Ubilab	19
b. Vérification de la conformité des pratiques du laboratoire avec les recommandations du Rémic 2015.....	20
c. Enrichissement de la bibliothèque scientifique.....	21
2. Mise en place d'un CIQ pour les galeries mycoplasmes	22
3. Formation, habilitation, maintien des compétences du personnel	22
4. Formation continue du personnel	23
a. Evaluation des besoins du personnel technique	23
b. Formation continue du personnel technique	24
c. Evaluation de la formation	24
VI. Analyse des résultats et interprétation	25
VII. Conclusion	27
VIII. Bibliographie	28
IX. Annexes	30

I. Introduction

La biologie médicale est devenue, à la suite d'une évolution profonde de l'approche médicale et de la connaissance scientifique, un élément crucial du parcours de soins, déterminant pour le diagnostic et le suivi de la majorité des pathologies mais également pour la surveillance thérapeutique.

La loi de 2013, qui traduit l'ordonnance du 13 janvier 2010 de la réforme de la biologie médicale, a rendu obligatoire l'accréditation des laboratoires d'analyses médicales, selon la norme NF EN ISO 15189. Cette réforme concerne l'ensemble du personnel impliqué dans le processus (secrétaires, coursiers, techniciens, biologistes, qualitatifs).

La bactériologie est sans doute l'une des disciplines de biologie médicale ayant évolué le plus vite ces derniers temps et de ce fait l'une des plus difficiles à accréditer. En cause une automatisation partielle des techniques, laissant une large place aux techniques manuelles, mais également le manque d'information dans la littérature scientifique spécialisée (1,2,3).

L'objectif du travail réalisé est d'effectuer une analyse de risques *a priori* des examens cytologiques et de la mise en culture des examens bactériologiques de prélèvements génitaux. Nous commencerons notre étude par un état des lieux du laboratoire afin de mesurer notre état d'avancement en termes de documentation, contrôles qualités et formation/habilitation/maintien des compétences du personnel. Puis nous réaliserons l'analyse de risques qui nous conduira naturellement à faire le point sur les modalités de maîtrise de risques, certaines n'étant pas encore appliquées au sein du laboratoire.

Nous nous assurerons que chacune des étapes de l'examen cytologique et de la mise en culture des prélèvements génitaux répond bien aux exigences en matière de qualité, que ce soit au niveau pré analytique, analytique et post analytique. Nous nous attacherons à mettre en place les modalités de maîtrise manquantes en nous concentrant plus particulièrement sur trois points : la gestion documentaire, les contrôles de qualité et la formation/habilitation/maintien des compétences du personnel.

Nous avons choisi de nous restreindre aux points cités ci-dessus afin d'atteindre les objectifs fixés dans le temps imparti.

II. Présentation générale

1. Présentation de la structure

La SELARL Sèvre Biologie est issue du regroupement de quatre laboratoires : les laboratoires de Pouzauges, de Mortagne sur Sèvre et des Herbiers situés en Vendée et le laboratoire de Clisson situé en Loire Atlantique. Nous utilisons tous le même logiciel qualité (Kalilab) et le même logiciel de gestion des dossiers (Biowin). En mars 2014, un nouveau pôle technique a vu le jour à Mortagne sur Sèvre (*cf photo 1*). Avant la naissance de ce plateau technique chaque site réalisait ses propres analyses bactériologiques. De nombreux changements ont donc été nécessaires afin de centraliser la bactériologie sur le site de Mortagne et d'uniformiser les pratiques. Quatre techniciens travaillent à l'heure actuelle dans le secteur de Microbiologie et prennent en charge les analyses de prélèvements génitaux.

De nouveaux appareils ont été installés (poste de sécurité microbiologique/PSM, colorateur de lame, automate de cytologie urinaire...), nécessitant la formation et l'habilitation de l'ensemble du personnel de Microbiologie. Par ailleurs un logiciel de suivi des températures des enceintes thermiques (EviSense de Biomérieux) a été mis en place, permettant de répondre aux exigences du COFRAC en termes de Métrologie. Le logiciel qualité utilisé n'a pas changé (Kalilab), cependant un gros travail d'uniformisation de la base documentaire et des pratiques sur les différents sites a été nécessaire.

Des responsables, des référents ainsi que des suppléants ont été définis au sein du secteur Microbiologie parmi les techniciens et les biologistes. Nous sommes à l'heure actuelle deux biologistes responsables du secteur Microbiologie.

Photo 1 : Le nouveau pôle technique à Mortagne sur Sèvre :



2. Etat d'avancement du laboratoire en terme de qualité

Le laboratoire est entré dans la démarche d'accréditation par la voie B de Bioqualité. La qualification Bioqualité a été obtenue en juin 2010 pour le site des Herbiers, en novembre 2010 pour le site de Clisson, en mai 2011 pour le site de Mortagne et en septembre 2011 pour le site de Pouzauges.

Nous avons déposé la demande d'entrée dans la démarche d'accréditation en mai 2013 et avons reçu la preuve de cette entrée en septembre 2013.

Le 7 avril 2015 les premières pièces de notre demande d'accréditation ont été déposées, complétées le 25 juin 2015 par le SH FORM 03.

En Microbiologie nous avons choisi de présenter la sérologie infectieuse toxoplasmose. Le seul dossier de vérification de méthode bien abouti en bactériologie est celui de l'examen de cytologie urinaire. Les autres examens de bactériologie n'ont pour le moment pas fait l'objet d'un travail approfondi en matière de qualité, d'où notre choix pour la réalisation de ce mémoire.

Notre audit initial a eu lieu du 18 au 20 mai 2016, cet audit a révélé entre autre un écart non critique sur la maîtrise des compétences du personnel. Nous avons parti-

culièrement travaillé sur cet écart au cours des derniers mois et ce mémoire sera l'occasion de présenter quelques-unes de nos actions.

III. Etats des lieux

1. Nature des examens

L'intitulé « prélèvements génitaux » réunit les examens suivants:

- prélèvement vaginal standard
- prélèvement urétral
- recherche de Streptocoque A et/ou B chez la femme enceinte
- recherche de mycoplasmes
- recherche de *Chlamydiae trachomatis* (externalisée depuis Septembre 2015 sur le laboratoire Biosites à Angers)
- recherche d'Herpès virus (externalisée sur le laboratoire Biomnis)

L'examen cytologique des prélèvements génitaux comporte une évaluation qualitative et/ou semi quantitative des leucocytes, hématies, cellules épithéliales, *Trichomonas vaginalis*, levures, filaments et Mycoplasmes. Il faudra remplir le formulaire SH FORM 44 pour réaliser la vérification de méthode. La portée d'accréditation concernée, décrite dans la nouvelle version du SH INF 50, est présentée dans la figure 1. Nous sommes en portée A.

Figure 1 : SH INF 50-rev 01-Sous-domaine : Microbiologie-Famille : Bactériologie (BACTH)

Code	Nature de l'échantillon biologique	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres critiques, ...)
BA1	Échantillons biologiques d'origine humaine Dispositifs implantables Culture bactérienne	Recherche, identification et numération d'éléments cellulaires, germes bactériens et autres éléments	Méthode de type qualitatif et quantitatif Examen morphologique direct macro- et microscopique à l'état frais et/ou après préparation (coloration (GRAM, MGG, Ziehl, auramine...), culture, ...)	Méthodes reconnues (A) Méthodes reconnues, adaptées ou développées (B) (**)	

2. Etat des lieux de la documentation existante

Une feuille de saisie permet le recueil des renseignements cliniques lors du prélèvement au laboratoire, ainsi que le suivi des cultures et le rendu des résultats. Cette feuille est identique pour les quatre sites, permettant une uniformisation des pratiques et une simplification du travail sur le plateau technique (cf annexe I).

La base documentaire sous Kalilab a été mise à jour et uniformisée de telle sorte que les différents sites utilisent à l'heure actuelle les mêmes documents de travail. Cela dit un travail de relecture s'impose afin de s'assurer de la cohérence de l'ensemble des documents concernant les prélèvements génitaux et de leur mise à jour éventuelle. Aucune révision tenant compte du REMIC 2015 n'a été effectuée à ce jour.

Les documents concernant les prélèvements génitaux sont cités dans la grille de formation des techniciens à l'analyse des prélèvements génitaux. Ce document a permis de former un technicien nouvellement arrivé dans la structure.

D'autres documents de formation, concernant l'utilisation des PSM et du colorateur de lames (Aerospray) ont permis de former le personnel technique à l'examen cytologique et à la mise en culture des prélèvements génitaux. Des documents d'instruction expliquant la marche à suivre pour la prise en charge technique des prélèvements génitaux, ont été rédigés et diffusés auprès du personnel concerné. Les modes opératoires des différents automates sont également accessibles sous Kalilab.

Il n'existe à ce jour ni document d'habilitation initiale ni mesures quant au maintien des compétences en Microbiologie pour les techniciens et les biologistes. De même il n'existe pas de document de formation initiale des biologistes.

Plusieurs documents d'instruction et d'habilitation pour les coursiers et les secrétaires sont utilisés au sein de la structure.

Les attestations de lecture permettent d'assurer une traçabilité de la prise de connaissance de ces différents documents.

En explorant la bibliothèque scientifique il est apparu que celle-ci ne contenait pas de documents spécifiques aux prélèvements génitaux et nécessitait d'être enrichie.

En ce qui concerne les préleveurs externes qui sont amenés à réaliser des prélèvements génitaux analysés par la suite au laboratoire, un manuel de prélèvement en ligne (Ubilab) vient de voir le jour. Il n'est pas encore exhaustif, en particulier dans le domaine de la Microbiologie, où un travail conséquent reste à faire. Pour pallier ce manque actuel d'informations des préleveurs externes, un courrier est en cours de rédaction afin d'informer ces derniers des modalités de recueil des prélèvements génitaux.

3. Etat des lieux des contrôles de qualité existant

Nous disposons de contrôles internes de qualité (CIQ) pour l'Aérospray. Ces contrôles, gérés par les techniciens, encadrent les séries de Gram de la journée.

Nous ne disposons d'aucun CIQ pour les galeries utilisées pour la recherche de mycoplasmes dans les prélèvements génitaux.

En ce qui concerne les évaluations externes de la qualité (EEQ), nous participons aux EEQ de l'ABP, à savoir, quatre contrôles annuels spécifiques aux Mycoplasmes, et quatre contrôles de bactériologie, mais également, bien entendu, au Contrôle Qualité National (CQN).

4. Etat des lieux des formations/habilitations/maintien des compétences du personnel

Dans le cadre de la norme 15 189, le laboratoire doit faire la preuve de la qualification, de la formation et de l'habilitation de son personnel et veiller au maintien des compétences de ce dernier (4).

Comme nous l'avons évoqué dans l'état des lieux de la documentation, des documents concernant la formation des secrétaires, coursiers et techniciens existent et sont utilisés au laboratoire. En ce qui concerne les biologistes il n'existe pas de mesures prises quant à la formation d'un nouveau biologiste arrivant dans la structure.

De même, aucune mesure n'a été prise pour l'habilitation et le maintien des compétences des techniciens et des biologistes en Microbiologie.

Le maintien des compétences en Microbiologie est uniquement assuré par la participation aux contrôles qualité. Or en pratique l'ensemble des biologistes et des techniciens ne peut pas participer à toutes les étapes de prise en charge des contrôles en

raison du roulement des équipes. Par ailleurs la prise en charge des contrôles qualité ne permet de balayer qu'une infime partie de l'ensemble des données que doit maîtriser le personnel concerné. D'autres mesures doivent être prises pour assurer le maintien des compétences des techniciens et biologistes.

Les résultats des EEQ sont transmis à l'ensemble des techniciens de Microbiologie et biologistes, et constituent un outil de formation continue, la consultation de ces résultats est tracée sous Kalilab.

Des formations internes et externes sont dispensées au personnel et tracées dans la rubrique « Plan de formation » sous Kalilab. L'acquisition des compétences est évaluée suite à ces formations, ce qui donne lieu à nouveau à une étape de traçabilité dans le logiciel qualité.

Les biologistes suivent régulièrement des formations à l'extérieur (formations proposées par Biomnis, participation aux Journées Internationales de Biologie entre autres), qui sont tracées dans Kalilab et permettent d'assurer une formation continue. On pourra ainsi citer l'enseignement post universitaire (EPU) donné par Anne Ebel en 2014 et traitant des IST chez la femme ou encore celui présenté fin 2015 par le docteur Dachez sur les actualités de l'infection à HPV et le cancer du col.

Hormis des transferts de connaissances très ponctuels et succincts, nous avons constaté qu'il n'existe à l'heure actuelle aucun plan de formation pour les techniciens de Microbiologie. Il nous a semblé essentiel lors de la réalisation de ce mémoire d'insister sur le maintien et l'enrichissement des connaissances du personnel technique.

IV. Méthodologie mise en œuvre

1. Approche processus

Pour réaliser l'analyse de risques *a priori* de l'examen étudié, nous avons choisi d'analyser les différents processus rentrant en jeu dans la transformation de la donnée d'entrée, à savoir la prescription, en une donnée de sortie, à savoir un résultat valide.

On peut en effet considérer que l'examen bactériologique ne se distingue pas des autres examens de biologie médicale, dans la conduite du processus global partant du patient (donnée d'entrée) pour aboutir au résultat validé et interprété (donnée de sortie).

Le processus « Réalisation des analyses » est en constante interaction avec les autres processus : « Supports » et « Management ». L'implication de l'ensemble des services est essentielle pour aboutir à une analyse de qualité qui donnera entière satisfaction au patient. En annexe II figure la cartographie des processus au sein de notre structure. Cette cartographie présente les différents processus mis en action afin de transformer la « donnée d'entrée » (la demande du patient/prescripteur de réaliser une analyse), en « donnée de sortie » (la satisfaction du patient/prescripteur).

Nous avons choisi d'utiliser une approche processus afin de nous aider à réaliser une analyse de risques *a priori* exhaustive. Cette approche processus, a servi de base à la réalisation de l'analyse de risques suivant la méthode des 5M, méthode qui se rapproche de la démarche demandée dans les formulaires d'accréditation (SH FORM 44).

2. Méthode des 5M

Pour réaliser l'analyse de risques, nous avons utilisé la méthode des 5M en décomposant les risques en cinq domaines : la Matière, le Matériel, le Milieu, la Méthode, la Main d'œuvre et la Méthode.

Le tableau, figurant en annexe III, présente de manière exhaustive l'ensemble des points critiques et modalités de maîtrise associées. Il expose également la documentation existant au laboratoire et participant à la maîtrise des risques, ainsi que les indices de criticité. Cette analyse de risques doit permettre aux biologistes médicaux et à ses collaborateurs de prendre toutes les dispositions pertinentes concourant à la maîtrise du processus.

Ci-dessous, nous avons choisi de présenter d'une manière plus détaillée certains points essentiels abordés dans le tableau des 5M.

a. Maîtrise de la matière

Ce domaine prend en compte différents aspects pré analytiques :

- **Recueil des renseignements cliniques** : Cette étape pré analytique est primordiale afin de pouvoir d'une part orienter la recherche lors de l'étape analytique et d'autre part interpréter les résultats lors de la phase post analytique. Ce recueil débute dès l'enregistrement du dossier au cours duquel certaines questions sont posées systématiquement à la secrétaire par le logiciel Biowin (« origine du prélèvement ? », « prélèvement réalisé au laboratoire ? »). Si le recueil est fait à l'extérieur, les secrétaires enregistrent les informations communiquées par le préleveur dans le dossier. Ces informations figureront sur la feuille de saisie des résultats qui est utilisée pour le suivi des cultures et le rendu des résultats. Cette feuille, identique pour les quatre sites, permet une uniformisation des pratiques et une simplification du travail sur le plateau. Enfin si le prélèvement est fait au laboratoire, le biologiste pose les questions nécessaires lors du prélèvement et complète la feuille de saisie des résultats. Ainsi les informations cliniques seront disponibles pour le personnel qui réalise les étapes analytique et post analytique.
- **Conditions de prélèvement** : La nature des écouvillons à prélever en fonction de l'analyse à réaliser est détaillée dans un mode opératoire intitulé « Prélèvements microbiologiques ». Un manuel de prélèvement consultable en ligne est en cours de rédaction afin d'assurer l'information des préleveurs externes. Dans l'attente de ce manuel, il a été décidé d'envoyer un courrier aux préleveurs externes afin de leur rappeler les modalités de prélèvements et de transport des recueils bactériologiques.
- **Conditions de transport du prélèvement** (température, délais...) : Un document d'enregistrement intitulé « Délais de traitement des prélèvements en microbiologie » précise la température de conservation et les délais maximum de réalisation des analyses. En ce qui concerne les préleveurs externes, nous avons mentionné ci-dessus le manuel de prélèvement en ligne ainsi que le courrier en cours de rédaction.

Si les conditions de transport ou de recueil ne sont pas adéquates, des non conformités sont enregistrées directement sur Biowin lors de l'enregistrement du dossier. Une action curative est alors mise en place, le plus souvent il s'agit d'une prise de

contact avec le préleveur et de la réalisation d'un nouveau recueil. L'ensemble de ces informations figure ensuite dans le dossier, lié à l'analyse non conforme.

Notons que nous n'avons pas formalisé les modalités de vérification des préconisations pré analytiques des laboratoires sous-traitants avec lesquels nous travaillons, à savoir, concernant les prélèvements génitaux : Biomnis et Biosites. Il existe un réel risque de ne pas respecter les recommandations pré analytiques en cours des sous-traitants. Ce point a été l'objet d'un écart non critique lors de la visite du COFRAC.

b. Maîtrise du matériel

Le matériel requis pour la prise en charge initiale des prélèvements génitaux comporte :

- Un colorateur de lames, l'Aerospray, permettant la réalisation des colorations de Gram
- Un PSM indispensable à la manipulation des prélèvements
- Des pipettes de précision nécessaires à l'ensemencement des galeries mycoplasmes
- Un microscope nécessaire à la lecture des états frais, pour la recherche de *Trichomonas vaginalis*, et des colorations de Gram
- Des sondes de mesure essentielles à la surveillance métrologique des différentes enceintes thermiques (étuve, réfrigérateur, congélateur)
- Un système informatique indispensable au traitement des demandes et rendu des résultats
- Une installation électrique

Les entretiens hebdomadaire et mensuel de l'Aérospray sont assurés par les techniciens de Microbiologie et une maintenance annuelle est réalisée par le fournisseur.

Les entretiens journaliers et hebdomadaires des PSM sont réalisés par les techniciens. Un document d'instruction intitulé « Utilisation et maintenance des postes de sécurité microbiologiques » décrit les différentes étapes à suivre. L'entretien annuel est réalisé par le fournisseur.

Les pipettes de précision sont envoyées en contrôle une fois par an à une société externe. Depuis peu, notre laboratoire a pris des dispositions pour la vérification des pipettes à réception. Cette procédure vient d'être mise en place et son application n'a pu être vérifiée lors de l'audit du COFRAC. Elle fait l'objet d'un point à surveiller lors des prochains audits.

En ce qui concerne le microscope, une visite de contrôle et un nettoyage sont effectués une fois par an par une société externe.

Les rapports d'intervention sont systématiquement enregistrés sous Kalilab.

Au niveau informatique, les auditeurs COFRAC ont noté un défaut de qualification des logiciels avant leur mise en production, en ce qui concerne l'examen cytologique et la mise en culture des prélèvements génitaux, cela implique Biowin, le serveur de résultat externalisé (SRE) et Apicrypt. Le responsable informatique est en charge de la mise en place de ces tests d'intégrité dans les prochains mois.

c. Maîtrise du milieu

La maîtrise du milieu passe principalement par la maîtrise métrologique des locaux et des équipements : température de la pièce de travail, de l'enceinte réfrigérée dans laquelle sont stockés les milieux d'ensemencement et les réactifs, de l'étuve permettant l'incubation des milieux ensemencés. Les enceintes thermiques sont surveillées par le logiciel Evisense, installé en 2015, qui effectue un relevé des températures tous les quarts d'heure et déclenche une alarme en cas de dépassement de l'erreur maximale tolérée. Quotidiennement les techniciens s'assurent que les enceintes thermiques répondent aux exigences en termes de métrologie. La gestion métrologique est encore peu organisée : il n'existe pas à l'heure actuelle de techniciens désignés pour suivre les courbes de température quotidiennement, ni de fréquence de suivi de ces dernières. Les référents Métrologie travaillent à une meilleure gestion de la surveillance des températures des enceintes thermiques ainsi qu'à la rédaction d'un document d'instruction traitant de la gestion des alarmes.

Une procédure de gestion des locaux et conditions environnementales indique les conditions de bruit, de lumière et de vibrations. En effet, travailler dans le bruit tout comme dans un local insuffisamment éclairé peut perturber les différentes phases analytiques (observation microscopique, ensemencement...). Les vibrations d'un

automate peuvent par exemple perturber le dépôt de réactifs lors d'une coloration de Gram.

d. Maîtrise de la méthode

- Une des étapes principales dans la maîtrise de la méthode est la mise en place de **CIQ**.

Dans le QUAMIC, guide rédigé par le comité qualité de la Société Française de Microbiologie, il est noté que « *Pour assurer la qualité des procédures analytiques et des résultats, le laboratoire doit avoir recours au CIQ. Pour cela il devra disposer des souches de référence appropriées et conservées de manière convenable* ».

Nous disposons d'un document très exhaustif intitulé « CIQ en Bactériologie » décrivant les modalités d'emploi et les fréquences de passage de ces différents contrôles.

Il nous faudra nous procurer un CIQ pour les galeries utilisées lors de la recherche de mycoplasmes dans les prélèvements génitaux.

- En ce qui concerne les **EEQ**, nous participons à ceux de l'ABP et aux contrôles nationaux de qualité en bactériologie. Aucun de ces contrôles n'est spécifique des prélèvements génitaux, mais ils permettent d'évaluer nos pratiques d'une manière plus générale.

Des documents d'instruction et des modes opératoires concernant les prélèvements génitaux et l'utilisation des différents automates/matériels nécessaires existent sous Kalilab. Les documents d'instruction ont été rédigés en prenant en compte les recommandations de la 4^{ème} édition du Rémic (2010). Le travail effectué sur la gestion documentaire permettra la mise à jour de nos documents dans le respect des recommandations du Rémic 2015.

e. Maîtrise de la main d'œuvre

Cette maîtrise s'effectue par le biais de plusieurs points fondamentaux : la qualification, la formation, l'habilitation et le maintien des compétences du personnel. Le chapitre 5.1 de la norme NF EN ISO 15 189 introduit la notion d'habilitation qui n'existait pas dans le GBEA. Il s'agit de la reconnaissance de la capacité d'une personne à accomplir des tâches et/ou à exercer une responsabilité du fait de son expérience professionnelle et de la formation qui lui a été délivrée. Dans le respect de la norme

NF EN ISO 15 189, le laboratoire trace les qualifications du personnel pour chaque fonction et dispose de fiches de fonction décrivant les responsabilités et tâches attribuées à chacune des fonctions concernées. Les diplômes sont scannés dans le dossier du personnel et un plan de formation est créé pour tout personnel nouvellement recruté. C'est le cas d'un technicien nouvellement arrivé dans le secteur de Microbiologie dont la formation initiale a été tracée dans Kalilab. Le laboratoire définit et applique des critères de formation adaptés, associés à des fonctions spécifiques (coursier, technicien, secrétaire, biologiste). Plusieurs degrés de formation peuvent être définis en fonction de la complexité de la tâche. Nous avons choisi de définir deux niveaux en ce qui concerne la bactériologie : routine et référent. Des référents ont en effet été nommés pour chaque automate, ils sont responsables des maintenances les moins fréquentes. En ce qui concerne le document de formation spécifique aux prélèvements génitaux, l'intégralité des items doit être maîtrisée par l'ensemble des techniciens.

Les documents de formation, ainsi que les instructions ont déjà été présentés dans l'état des lieux de la documentation.

De même, les défauts en termes de formation continue du personnel technique, d'habilitation et de maintien des compétences de l'ensemble du personnel ont déjà été décrits ci-dessus.

Par ailleurs en explorant la bibliothèque scientifique il est apparu que celle-ci ne contenait pas de documents relatifs aux prélèvements génitaux et nécessitait d'être enrichie.

Enfin le manuel de prélèvement consultable en ligne a été évoqué au chapitre III.2 et sera l'objet d'un travail présenté au chapitre V.1.

f. Indices de criticité

La notion d'indice de criticité apparaît clairement dans la dernière version du SH-FORM 44.

Nous avons défini pour chaque point critique listé dans le tableau d'analyse de risques un indice de criticité en utilisant notre logiciel qualité. Le logiciel Kalilab permet en effet de calculer cet indice en prenant en compte la gravité et la fréquence

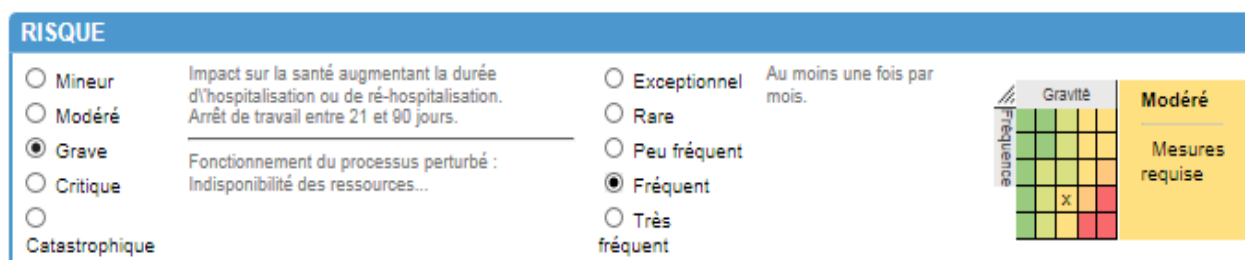
des événements indésirables potentiels. La gravité comme la fréquence et l'indice de criticité, sont cotés de 1 à 5. Le détail de ces cotations est indiqué en annexe IV.

Prenons l'exemple d'un point à maîtriser : le respect des conditions de prélèvement et de conservation pré analytique par les préleveurs externes. La gravité peut être cotée à 3 : Grave : L'utilisation du mauvais milieu de transport est la preuve d'une perturbation de fonctionnement du processus.

La fréquence peut être cotée à 4 : Fréquent : Il s'agit d'un événement fréquent, principalement pour les recueils effectués par des préleveurs extérieurs.

Grâce à l'outil de calcul proposé par Kalilab, nous pouvons attribuer un indice de criticité de 3 à ce point critique (cf Figure 2). Une meilleure maîtrise de la phase pré analytique est requise et justifie le courrier que nous avons choisi d'adresser aux préleveurs externes concernant la réalisation des recueils microbiologiques. Le manuel de prélèvement en ligne fera également partie de notre plan d'action pour supprimer cet événement indésirable.

Figure 2: Exemple de calcul de l'indice de criticité par Kalilab :



V. Résultats

L'analyse de risques *a priori* nous a conduits à mettre en évidence différents points critiques pour lesquels des mesures étaient requises. Nous avons choisi de travailler sur les points suivants : la documentation, la réalisation des contrôles de qualité, la formation initiale, l'habilitation, le maintien des compétences et la formation continue du personnel technique et des biologistes.

Ainsi, nous avons été amenés à réaliser les révisions documentaires nécessaires et à enrichir la bibliothèque scientifique. Nous avons participé à l'élaboration du manuel de prélèvement en ligne afin que les préleveurs externes disposent de l'ensemble des renseignements nécessaires à un recueil de qualité.

Nous avons mis en place un contrôle de qualité interne pour les galeries mycoplasmes.

Un travail sur la formation, l'habilitation et le maintien des compétences du personnel technique et des biologistes a été réalisé.

1. Gestion documentaire

a. Finalisation du document à destination des préleveurs externes et travail sur le manuel de prélèvement en ligne Ubilab

Comme le mentionne la norme NF EN ISO 15 189, nous nous devons d'assurer la bonne qualité des prélèvements réalisés par des opérateurs extérieurs. En ce qui concerne les prélèvements génitaux, divers intervenants externes peuvent être impliqués : médecins, sages-femmes, infirmières. Afin de s'assurer que ces préleveurs potentiels respectent les recommandations du laboratoire en termes de modalités de prélèvement, de conservation et de délais de transmission, nous avons mis en place différentes modalités de maîtrise.

Ainsi un courrier (*cf* annexe V) a été rédigé et distribué aux prescripteurs amenés à réaliser des prélèvements microbiologiques. Ce courrier rappelle la nature des écouvillons et milieux de transport à utiliser, les températures de conservation, ainsi que les délais maximum de transmission de ces prélèvements au laboratoire.

Un manuel de prélèvement en ligne (Ubilab), est en cours de création. Les préleveurs pourront y retrouver toutes les informations pratiques nécessaires à la réalisation des divers recueils microbiologiques. Des attestations de lecture en ligne permettront de s'assurer que les informations ont bien été prises en compte. Initialement à destination des membres du laboratoire et du personnel infirmier, ce guide de prélèvement verra prochainement son champ d'action étendu aux prescripteurs et autres préleveurs externes.

Afin de compléter le manuel de prélèvement en ligne, nous avons rédigé le document présenté en annexe VI. Ce document reprend les modalités de réalisation d'un prélèvement génital en fonction de la nature de l'examen demandé par le prescripteur.

b. Vérification de la conformité des pratiques du laboratoire avec les recommandations du Rémic 2015

Une lecture approfondie du chapitre 23 du Rémic 2015, intitulé : « Infections urogénitales et sexuellement transmissibles » a mis en lumière plusieurs points non maîtrisés à l'heure actuelle au laboratoire :

- La recherche de *Trichomonas vaginalis* : Il est préconisé dans le Rémic 2015 de rechercher ce parasite dans le quart d'heure suivant le prélèvement. Nous disposons à l'heure actuelle de milieux de transport Transwab (Elitech) et nous sommes demandés si ceux-ci permettraient une survie de ces germes et ainsi une augmentation du délai pré analytique. Nous n'avons trouvé aucune information en ce sens sur la fiche technique du milieu de transport. En contactant le fournisseur, celui-ci nous a indiqué qu'aucune étude n'avait été réalisée sur la conservation de ce germe dans le milieu de transport en question. En réalisant une recherche bibliographique, nous avons trouvé un article rédigé par une équipe américaine concernant la survie de *Trichomonas vaginalis* dans les milieux de transport de type Amiès (5). Le délai de viabilité de ce germe dans de tels milieux est établi à 24h, ce qui nous permet de continuer à réaliser cette recherche sur le plateau technique.
- La recherche de *Neisseria gonorrhoeae* : Le Rémic indique de conserver les milieux de culture pour recherche de Gonocoque 72h. Au laboratoire nous ne conservons ces milieux que 48h. Nous avons alors pris contact avec un technicien de la société Elitech qui commercialise les écouvillons de transport que nous utilisons pour les prélèvements génitaux. Une étude nous a alors été présentée; il y est indiqué que le Gonocoque pousse parfaitement en 48h lorsque l'écouvillon est déchargé dans le milieu Transwab (6).
- La recherche de *Treponema pallidum* à l'examen direct sur prélèvement d'ulcération génitale : Cette recherche doit être effectuée le plus rapidement possible (dans le quart d'heure) à l'aide d'un microscope à fond noir, par du personnel habilité. Nous avons pris la décision de ne plus effectuer ce type de recherche dans notre laboratoire pour cause matérielle (pas de microscope à fond noir) et surtout parce que nous ne disposons pas de personnel qualifié pour effectuer ce type de recherche qui est demandée de façon exceptionnelle. Une note d'information a été envoyée à

l'ensemble des secrétaires, techniciens de bactériologie et biologistes pour les tenir informés.

c. Enrichissement de la bibliothèque scientifique

Une bibliothèque scientifique a été créée sous Kalilab afin de référencer les articles scientifiques présentant un intérêt. Cette bibliothèque est une source d'informations pour l'ensemble des biologistes et techniciens. Les biologistes référents de chaque secteur enrichissent au fur et à mesure cette bibliothèque ce qui permet à tous d'être tenus informés et de maintenir à jour ses connaissances.

A l'heure actuelle des articles concernant l'accréditation en bactériologie et l'habilitation du personnel ont été référencés, ainsi que la version 2014 du QUAMIC. Cependant aucun article traitant spécifiquement des prélèvements génitaux ne figure dans la bibliothèque. Nous avons choisi de compléter la bibliothèque scientifique par l'ajout de trois documents :

- Le premier de Beverly et son équipe traite de la survie de *Trichomonas vaginalis* dans le milieu de transport Amiès (5).
- Le deuxième, rédigé par Bébéar en 2007 fait un état des lieux des infections humaines à Mycoplasmes (7)
- Quant au troisième document, il s'agit d'une fiche rédigée par des équipes de microbiologistes des CHU de Valenciennes et Lille qui détaille les modalités de calcul du score de Nugent (8).

D'autres articles viendront compléter à l'avenir cette bibliothèque scientifique.

2. Mise en place d'un CIQ pour les galeries mycoplasmes

A l'heure actuelle, nous utilisons un système de détection en milieu liquide (galeries) pour la quantification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des Mycoplasmes.

Pour respecter les recommandations du QUAMIC et de la Norme, nous nous devons de passer des contrôles afin de vérifier la qualité de nos résultats ce que nous ne faisons pas jusqu'à présent pour cet examen.

Nous nous sommes donc procuré un contrôle spécifique pour ce type de galerie, et avons déterminé sa fréquence et ses modalités de passage.

Suite à l'introduction de ce nouveau contrôle, il nous a fallu mettre à jour la documentation sous Kalilab concernant la gestion des CIQ en microbiologie.

A l'image des autres CIQ, les passages de ce contrôle sont tracés sous Kalilab.

Nous avons rédigé une nouvelle version du document «CIQ en Bactériologie».

3. Formation, habilitation, maintien des compétences du personnel

Comme nous l'avons déjà évoqué lors des précédents chapitres, plusieurs documents manquent au sein de notre structure afin de répondre aux exigences du CO-FRAC en termes de formation, habilitation et maintien des compétences du personnel tant technique que biologique. Ainsi nous avons pris en charge la rédaction des documents présentés dans les annexes VII à X:

- Annexe VII : Un document de formation/habilitation au poste de biologiste médical dans lequel plusieurs items traitent de Microbiologie. Ce document est lié à un document d'enregistrement regroupant un ensemble de questionnaires. Ces derniers couvrent différents domaines de la Biologie et tout nouvel arrivant devra les compléter afin d'être habilité à réaliser les examens de biologie médicale.
- Annexe VIII : Un document de formation/habilitation des techniciens de Microbiologie aux prélèvements génitaux. Ce document est lié à un document d'enregistrement (*cf* annexe IX) consistant en un questionnaire entièrement dédié aux prélèvements génitaux.
- Annexe X : Un document de maintien d'habilitation à destination des biologistes. Ce document est lié à un document d'enregistrement (*cf* annexe XI) regroupant un ensemble de questionnaires. Ces derniers couvrent différents domaines de la Biologie, vingt questions concernent le secteur Microbiologie. (NB : seule la partie concernant la Microbiologie est présentée dans l'annexe XI).

Un document de maintien d'habilitation à destination des techniciens de Microbiologie est en cours de rédaction.

Les documents d'habilitation initiale ont été donnés à un technicien et à une biologiste nouvellement arrivés dans la structure. Le document de maintien d'habilitation a été distribué aux biologistes présents au poste depuis plusieurs années. Les documents d'habilitation initiale et de maintien des compétences complétés ont fait l'objet d'un enregistrement sous Kalilab.

4. Formation continue du personnel

Comme l'indique le chapitre 5.1.8 de la norme NF EN ISO 15189, l'ensemble des acteurs contribuant à la réalisation de l'analyse se doit d'être compétent et le laboratoire doit être en mesure d'apporter la preuve de cette compétence. Une mauvaise formation du personnel constitue un facteur de risque critique en biologie, en particulier en ce qui concerne les analyses qualitatives, d'où la nécessité de maîtriser ce point au sein de notre établissement.

a. Evaluation des besoins du personnel technique

Pour cerner les besoins du personnel technique, chaque membre de l'équipe a été interrogé individuellement sur ses attentes et souhaits en termes de formation. Cette enquête préliminaire m'a semblé essentielle afin de rendre le personnel acteur de sa formation. Pensant initialement axer cette dernière sur les aspects techniques, il est apparu que l'ensemble du personnel souhaitait se perfectionner sur les aspects cliniques et thérapeutiques des pathologies génitales. Après concertation avec le personnel technique, il a été décidé que le temps de cette formation ne devait pas excéder 1 heure.

Après plusieurs semaines de recherches bibliographiques, de synthèse d'informations et de mise en page, la formation a pu être mise en place.

b. Formation continue du personnel technique

Un support Power Point (*cf* annexe XII) a été réalisé afin de rendre la formation plus attrayante. Ce support a été remis à l'ensemble des techniciens de Microbiologie. La présentation s'est déroulée en plusieurs étapes :

- Une étape théorique qui a permis de rappeler certaines notions techniques et cliniques essentielles, d'informer le personnel sur les évolutions de résistance de cer-

tains germes aux traitements antibiotiques ainsi que sur les nouvelles recommandations éventuelles en matière d'antibiothérapie.

Au cours de cette partie théorique, nous avons effectué des rappels physiopathologiques et décrit les germes les plus fréquemment isolés au laboratoire, en présentant les aspects cliniques et thérapeutiques associés.

- Des cas cliniques ont également été présentés afin de rendre la formation plus concrète et d'aborder des aspects pratiques, respectant ainsi les souhaits des techniciens. Ces cas cliniques ont été par ailleurs l'occasion d'exploiter les connaissances acquises lors de l'étape théorique.

c. Evaluation de la formation

La formation a été tracée sous Kalilab et chaque technicien a dû l'évaluer, en indiquant sur notre logiciel qualité ce qu'il jugeait positif ainsi que les points à améliorer. Par ailleurs un questionnaire d'évaluation des connaissances a été remis aux techniciens (*cf* annexe XIII), afin d'évaluer les acquis de la formation mais surtout de mettre en évidence les notions non maîtrisées.

Suite à une demande de plusieurs confrères, le support Power Point et le questionnaire d'évaluation ont été distribués à l'ensemble des biologistes, participant ainsi à leur formation continue.

VI. Analyse des résultats et interprétation

L'étude documentaire réalisée a permis la mise à jour de nos documents de travail et l'enrichissement de la bibliothèque scientifique.

En ce qui concerne le manuel de prélèvement en ligne Ubilab, il reste un travail conséquent pour le mettre à jour dans le secteur de la Microbiologie.

Pour le moment le passage du contrôle pour les galeries mycoplasmes nous a donné entière satisfaction, autant en termes de simplicité de réalisation que d'interprétation.

La norme NF EN ISO 15189 précise la nécessité de former le personnel et d'apporter la preuve de cette formation, mais également d'assurer le maintien des compétences du personnel. Ainsi la formation dispensée auprès des techniciens participe-t-elle au maintien des compétences du personnel. Elle a été l'occasion d'un véritable échange. Divers points posant des difficultés au quotidien ont ainsi pu être abordés de manière plus approfondie. C'est le cas entre autre du calcul et de l'interprétation du score de Nugent dont le rendu était parfois « technicien dépendant ». Un document clair et synthétique rédigé par une équipe du CHU de Valenciennes et présenté lors de la formation, a permis de résoudre les principaux problèmes rencontrés lors de la pratique quotidienne.

Ma volonté étant de mettre en place ce type de formation de manière plus régulière, il était nécessaire d'évaluer l'intérêt que les techniciens avaient pu lui trouver, et surtout les axes d'amélioration sur lesquels travailler dans l'avenir. Ainsi les évaluations de formation ont été un point important, l'ensemble des techniciens a trouvé la formation enrichissante. Cependant pour certains d'entre eux, elle a semblé trop théorique, trop éloignée de leur pratique quotidienne. Cette remarque essentielle va permettre d'adapter les futures formations et d'aborder les thèmes sur un plan plus technique.

Les questionnaires d'évaluation des acquis ont permis de cibler les notions mal maîtrisées après la formation. Ces questionnaires ont été repris individuellement avec chaque technicien afin d'éclaircir les zones d'ombres.

Le document de formation/habilitation à la fonction de biologiste a été utilisé pour l'habilitation de la nouvelle biologiste arrivée dans la structure.

Le document de maintien de l'habilitation à la fonction de biologiste a été rempli par la majorité des biologistes et le maintien des compétences a fait l'objet d'une traçabilité sous Kalilab.

Le nouveau technicien de Microbiologie a complété le questionnaire d'habilitation lié aux prélèvements génitaux. En se basant sur le modèle des prélèvements génitaux, plusieurs autres documents de formation/habilitation ont été rédigés pour couvrir l'ensemble des points à maîtriser en bactériologie. Ces documents ont été tous soumis au technicien nouvellement arrivé dans la structure.

VII. Conclusion

Au cours de ce travail nous avons réalisé l'analyse de risques *a priori* de l'examen cytologique et de la mise en culture des prélèvements génitaux, ce qui a permis de mettre en évidence des éléments que nous maîtrisons mal et de commencer à mettre en place les modalités de maîtrise nécessaires.

Un travail conséquent reste à faire en termes de Métrologie et d'Informatique, comme en témoignent les écarts soulevés lors de l'audit COFRAC. Les référents de ces secteurs sont en charge de lever ces écarts.

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux formations/ habilitations/ maintiens des compétences du personnel. Nous avons mis en place des actions qu'il faudra étendre à l'ensemble des fonctions présentes au laboratoire. En effet après avoir fait une synthèse de la documentation existante, il est apparu que les documents de formation/habilitation/maintien des compétences étaient pour la plupart soit obsolètes soit inexistantes pour la plupart des fonctions.

En ce qui concerne la formation continue des techniciens de Microbiologie, le travail réalisé dans le cadre de ce DU constitue selon moi le début d'un cycle de formations pour les techniciens. Vu l'intérêt porté par ces derniers à ce type d'échanges et la demande qui a suivi cette première présentation, il me semble nécessaire de continuer d'évoluer dans la même dynamique et de proposer d'autres formations de ce type. Cependant il conviendra d'adapter davantage ces dernières à la pratique quotidienne des techniciens.

Par ailleurs on notera que les techniciens du secteur de Biochimie et Immunologie ont exprimé le souhait d'avoir eux aussi des formations continues de ce type. Le travail réalisé au cours de ce DU pourrait avoir des répercussions dans d'autres secteurs du laboratoire.

Nous nous sommes inscrits ainsi tout au long de l'année dans la démarche qualité du laboratoire et avons été pleinement acteurs de l'amélioration continue.

VIII. Bibliographie

Articles et posters :

1. Klein J.P. « L'accréditation en Bactériologie.» Revue Francophone des Laboratoires ; Nov 2011 ; 436 : 39-50
2. Laudat P, Galinier J.L, Cattoen C, Ferroni A, Lamy B, Courcol R et le groupe QUAMIC. « L'accréditation en bactériologie : enjeux, difficultés et particularités. » Revue Francophone des Laboratoires ; Avril 2014 ; 461 : 25-30
3. Naudin C. « L'analyse de risque *a priori* en bactériologie clinique ». Revue Francophone des Laboratoires ; Avril 2014 ; 461 : 31-36
4. Carod J.F, Klein J.P. « L'évaluation des compétences et l'habilitation en bactériologie clinique. » Revue Francophone des Laboratoires » ; Avril 2014 ; 461 : 59-68
5. Beverly A.L. *et coll.* « Viability of *Trichomonas vaginalis* in Transport Medium. » Journal of Clinical Microbiology; Nov 1999, p 3749-3750
6. Graveling E., Venkatesh H., Banerjee N. « Evaluation of Sigma Transwab in Liquid Amies. Transport Medium for *Neisseria gonorrhoeae* culture. » ECCMID e-posterEV 0537 ; Avril 2015
7. Bébéar C. « Infections humaines à Mycoplasmes » ; Revue Francophone des Laboratoires ; Avril 2007 ; 391 : 63-69
8. Canis F., Bissinger M.C., Fruchart A. « Comment calculer un score de Nugent ? » Fiche technique Premeva2

Référentiels :

REMIC Référentiel en Microbiologie Médicale, Société Française de Microbiologie, Edition 2015

QUAMIC, Comité Qualité de la Société Française de Microbiologie, 2014

Lois et textes normatifs :

- Loi n°2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale
- Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale et article L6221-1 du Code de la Santé Publique
- Arrêté du 17 octobre 2012 définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation
- SH FORM 44 Fiche type qualitatif – Vérification (portée A)/Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale
- SH GTA 06 Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en biologie médicale
- SH REF 02 Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale

IX. Annexes

- Annexe I : Feuille de saisie des résultats propre aux prélèvements génitaux
- Annexe II : Cartographie des processus
- Annexe III : Analyse des 5M
- Annexe IV : Principe de cotation de la gravité et de la fréquence pour l'attribution des indices de criticité
- Annexe V : Courrier précisant les modalités de recueil des principaux prélèvements bactériologiques, à l'attention des préleveurs externes.
- Annexe VI : Extrait du manuel de prélèvement en ligne Ubilab concernant les prélèvements génitaux
- Annexe VII : Formation/Habilitation à la fonction de biologiste médical
- Annexe VIII : Formation/Habilitation des techniciens de Microbiologie à la réalisation des examens de prélèvements génitaux
- Annexe IX : Questionnaire d'habilitation des techniciens de microbiologie : prélèvements génitaux et spermoculture
- Annexe X : Maintien de l'habilitation à la fonction de biologiste
- Annexe XI : Questionnaire de maintien d'habilitation au poste de biologiste médical (secteur Microbiologie)
- Annexe XII : Présentation destinée à la formation continue des techniciens de Microbiologie : Diagnostic bactériologique d'une infection génitale.
- Annexe XIII : Questionnaire d'évaluation des acquis suite à la formation sur les prélèvements génitaux

Annexe I : Feuille de saisie des résultats propre aux prélèvements génitaux

PLVT GENITAL

NOM : TEST
DDN : / /

Prénom :
Sexe : Masculin

DATE : 19/08/2015

URTH

N° dossier : 21508193180

Médecin :
Transmetteur : LES HERBIERS

Rens. cliniques: Grossesse **Opérateur :**
Prélevé : au labo apporté
Ecouvillons ensemencés : Ecouvillon(s) sec(s) Portagerm Transwab

MILIEUX ENSEMENCES: CNA G. choc GS STRB CAN TH Mycoplasmes

ETAT FRAIS (PV et PU)

Leucocytes : A R Q AN N TN
Hématies : A R Q AN N TN
C. épithéliales : A R Q AN N Prés. de clue-cells

Trichomonas: Absence Présence
Levures : A RL QL ANL NL
Levures + filaments : A RF QF ANF NF

GRAM

Opérateur :
 Absence de flore
 Flore polymorphe: peu abondante assez abondante abondante
Constituée de : R / Q / AN / N
 B- C+ B+ lac B+ Coryne. C- GV Ana. Mobiluncus
 Flore DODERLEIN: Absente PA AA Abondante
O Score de NUGENT = **Groupe :** 1 2 3
 Levures : A RL QL ANL NL RF QF ANF NF

CULTURES

Opérateur :

BACTERIOLOGIE

Stérile Absence de germes pathogènes Absence de N. gonorrhoeae 24h 48h
 Absence de Strepto. B
O Présence de Strepto. B O1+ O2+ O3+ O4+
 Colonies : R / Q / AN / N
 Strepto. B E. coli Haemophilus influenzae
 Strepto. A Lactobacillus sp. Staphylococcus aureus
 Gardnerella Neisseria gonorrhoeae
 Flore vaginale normale

MYCOLOGIE

(-) R AN N Candida albicans
 Candida glabrata
O 24 H **O 48 H**

Commentaire:

Absence de germes pathogènes mycose vaginale
 vaginose bactérienne vaginose bactérienne + mycose

Recherche de MYCOPLASMES (Plvts génitaux ou 1er jet urines)

Opérateur :

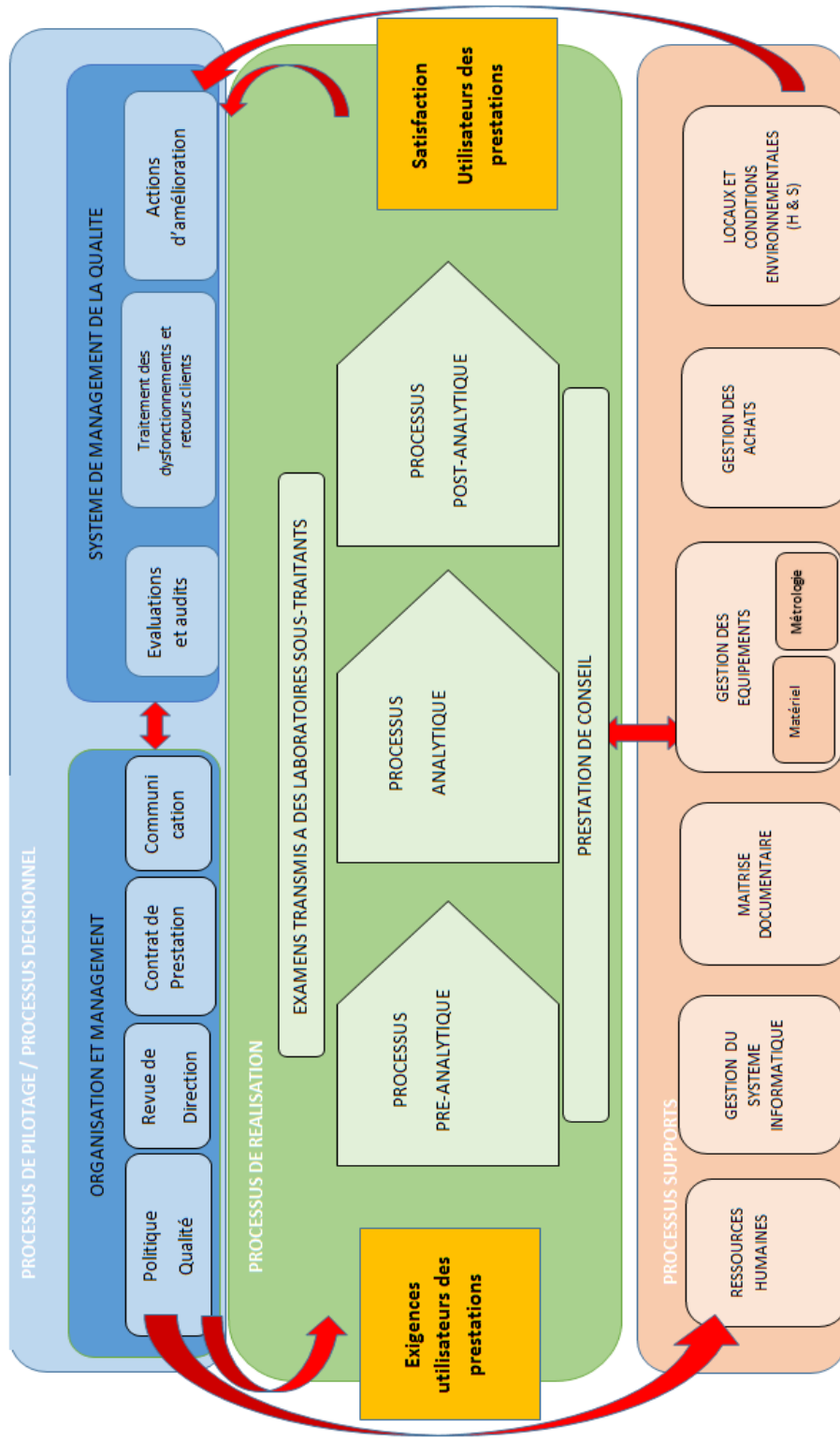
Recherche négative
 U. urealyticum 10*3 UCC/mL 10*4 10*5
 M. hominis

Rque: seuil Uu à 10*4 pour plvts génitaux / 10*3 pour 1er jet urines

Résultats saisis par:

Annexe II : Cartographie des processus

Cartographie des processus du laboratoire - A2-ENR 011- Version 6



Annexe III : Analyse des 5M

NB : En rouge dans le tableau figurent les modalités de maîtrise n'existant pas encore et que nous mettrons en place dans le cadre du travail associé à ce mémoire

MAITRISE DES RISQUES : Prélèvements génitaux				
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Echelle de criticité	Modalités de maîtrise	DOCUMENTS
Matière	Utiliser le bon écouvillon et le bon milieu de transport Réaliser un prélèvement de qualité (localisation du recueil : endo/exocol, cul de sac vaginal, urètre...)	3 2	Formation/Information du personnel (secrétaires, techniciens pré-analytiques, biologistes) sur la nature des écouvillons et milieux de transport utilisés Consignes données aux préleveurs externes : attestation du manuel de prélèvement/convention prélèvements/Mise à jour du manuel de prélèvement en ligne (UBILAB) Rédaction d'un courrier destiné aux préleveurs externes réalisant des prélèvements génitaux pour leur expliquer la nature des écouvillons/milieux de transport à utiliser	C2-PR-001 Manuel de prélèvement C1-ENR-006 Grille de renseignements cliniques C1-INS-001 Recueil des renseignements cliniques C3-INS-003 Conservation des échantillons biologiques G1-ENR-021 Habilitation au poste secrétariat G1-ENR-043 Fiche de poste pré-analytique G1-ENR-044 Grille d'habilitation au poste pré-analytique C3-PR-008 Réception des échantillons (acceptation ou refus) C2-MO-010 Prélèvements microbiologiques C3-INS-053 Critères d'acceptation ou de rejet des échantillons bactériologiques
	Ecouvillons/milieux de transport non périmés/non altérés Stock d'écouvillons/milieux de transport	2	Certificat de prélèvement pour les biologistes réalisant les prélèvements génitaux au laboratoire (scannés dans le dossier personnel sous Kailiab) Gestion des stocks sous Kailiab (méthode FIFO) pour les préleveurs internes et externes Procédure Achat et Stockage des réactifs et consommables	K2-PR018 Achat et stockage des réactifs et produits consommables K2-ENR-001 Réception des livraisons

Matière	Identification des échantillons (nom, prénom, DDN)	2	Critères d'acceptabilité des échantillons Habilitation du personnel (préleveurs, secrétaires, techniciens) Instruction d' <u>identitovigilance</u> connue et appliquée à tous les niveaux Formation/ Information des préleveurs qui doivent maîtriser les différents enseignements à obtenir auprès du patient (traitement antibiotiques, prurit, dysurie, leucorrhées...) Feuille de saisie de résultat sortant à tout enregistrement de prélèvements génitaux, à remplir par le préleveur lors du prélèvement Mise à jour du manuel de prélèvement en ligne (UBILAB)	G1-ENR-043 Fiche de poste pré-analytique G1-ENR-044 Grille d'habilitation au poste pré-analytique C1-INS-056 Identitovigilance C3-INS-001 Transmission et réception des prélèvements périphériques sur le plateau C3-PR-008 Réception des échantillons (acceptation ou refus)
	Renseignements cliniques	3	Consignes données aux préleveurs : attestation du manuel de prélèvement/convention préleveurs Mise à jour du manuel de prélèvement en ligne (UBILAB) Rédaction d'un courrier destiné aux préleveurs externes réalisant des prélèvements génitaux pour leur rappeler les conditions de recueil et de conservation des échantillons	C2-ENR-008 Prélèvements bactériologiques
	Délais d'acheminement Condition de conservation pré analytique	3	Enregistrement des conditions environnementales par des sondes d'ambiance, suivi des températures sur le logiciel <u>Evisense</u>	K2-MO-005 Surveillance des températures des zones de stockage
	Maîtrise des températures des enceintes thermiques	3		

Main d'œuvre	<p><u>Personnel formé (Formation et habilitation initiale + maintien et vérification des compétences) :</u></p> <p>1 Secrétaire réalisant la réception et l'enregistrement du dossier.</p> <p>2 Personnel médical réalisant le prélèvement.</p> <p>2 Personnel médical réalisant le pré-analytique.</p> <p>2 Personnel médical réalisant la prise en charge des envois des échantillons sur le plateau.</p> <p>3 Personnel médical réalisant les analyses</p>		<p>Habilitation des secrétaires</p> <p>Diplôme de prélèvements Consignes données aux préleveurs : attestation du manuel de prélèvement/convention préleveurs Courrier envoyé aux médecins, sage femmes réalisant les prélèvements à l'extérieur, pour leur rappeler les conditions de recueil et de conservation des échantillons</p> <p>Traçabilité des échantillons de bactériologie</p> <p>Habilitation/Formation coursier sur les modalités de transport du prélèvement Vérification systématique de la concordance entre les échantillons reçus et ceux indiqués sur la feuille d'envoi</p> <p>Formation/habilitation des techniciens à la prise en charge des prélèvements génitaux Formation des techniciens à l'utilisation des PSM, de l'Aérospray Quizz connaissances, QCM Traçabilité sous Kallib des formations internes et externes</p>	<p>G2-ENR-003 Fiche individuelle de formation/habilitation G1-ENR-028 Support d'entretien d'évaluation</p> <p>G1-ENR-021 Habilitation au poste secrétariat</p> <p>G1-ENR-048 Grille d'habilitation préleveur C2-ENR-008 Prélèvements bactériologiques</p> <p>G1-ENR-008 Fiche de poste pré-analytique C3-INS-053 Critères d'acceptation ou de rejet des échantillons bactériologiques</p> <p>C3-ENR-001 Traçabilité tournées inter laboratoires G1-ENR-045 Fiche de poste coursier C3-INS-001 Transmission et Réception des prélèvements périphériques sur le plateau C3-ENR-002 Traçabilité des prélèvements bactériologiques sur le plateau technique</p> <p>Formation/Habilitation des techniciens de microbiologie à la réalisation des examens de prélèvements génitaux Questionnaire d'habilitation des techniciens de microbiologie : prélèvements génitaux et spermoculture G1-ENR-032 Formation à l'utilisation de l'aérospray</p>
--------------	---	--	--	---

		<p>Fiches de poste</p> <p>Attestation de formation</p> <p>Mode opératoire automate</p>	<p>D3-INS-007 Utilisation <u>Aérospray</u></p> <p>G1-ENR-042 Fiche de poste Bactériologie B2</p> <p>D3-INS-013 Utilisation et maintenance des PSM</p> <p>Présentation destinée à la formation continue des techniciens de Microbiologie</p>
Validation analytique	2	<p>Fiche de poste</p> <p>Doc validation</p> <p>Gestion des contrôles qualité</p>	<p>D2-PR-008 Validation analytique</p> <p>D1-PR-003 Validation technique-gestion des calibrations et des contrôles qualité</p> <p>D1-INS-008 CIQ en Bactériologie</p>
Saisie des résultats	2	<p>Identitovigilance</p> <p>Vérification de la saisie du technicien lors de la validation biologique</p>	<p>C1-INS-056 Identitovigilance</p>
Validation biologique Harmonisation entre biologistes	3	<p>Formation initiale lors de l'internat en biologie médicale (validation DES microbiologie)</p> <p>Formation/habilitation à la fonction de biologiste</p> <p>Maintien de l'habilitation à la fonction de biologiste</p> <p>Formations externes</p> <p>Attestations de formation enregistrées dans <u>Kalilab</u></p> <p>Fiche de fonction biologiste médical</p> <p>Existence de conclusions types dans le logiciel de validation</p>	<p>G1-ENR-049 Fiche de fonction biologiste médical</p> <p>Formation/Habilitation à la fonction de biologiste médical</p> <p>Maintien de l'habilitation à la fonction de biologiste</p> <p>Questionnaire de maintien d'habilitation au poste de biologiste médical</p>
Transmission des résultats au patient et au médecin	2	<p>Vérification de la liste des fax/HPRIM.</p> <p>Traçabilité des appels aux prescripteurs sur Biowin</p> <p>Seuls les résultats validés biologiquement peuvent être rendus</p> <p>Dossiers tests réalisés une fois par an avec certains médecins (ex : pôle santé de Clisson) pour vérifier la</p>	<p>E2-INS-001 Transmission des résultats par fax ou par téléphone</p> <p>I1-INS-001 Traçabilité des résultats téléphonés ou faxés</p>

	Prestation de conseil	2	qualité, lisibilité, exactitude des résultats transmis Convention de preuve signée par les médecins Bibliothèque scientifique sous Kalilab tenue à jour par les biologistes référents secteur Instruction détaillant la façon de tracer les prestations de conseil Analyse « PC » saisie dans le dossier concerné, permettant d'indiquer les prestations de conseil données aux médecins et aux patients	E1-ENR-004 Prestation de conseil
	Utilisation du logiciel Kalilab	1	Instruction et habilitation du personnel	G1-ENR-007 Fiche d'habilitation à l'utilisation quotidienne de Kalilab H1-INS-053 Recherche documentaire sous Kalilab B4-INS-004 Exploitation des NC/ Réclamations de Kalilab
Méthode	Modalités de prise en charge des prélèvements génitaux à toutes les étapes du processus	3	Suivi des recommandations du Rémic Fiches d'instruction sur la prise en charge des prélèvements génitaux chez la femme et chez l'homme Mode opératoire des automates Réalisation de contrôles de qualité internes sur l' Aérospray Participation aux EEQ et CQN Contrôle de qualité interne pour les galeries Mycoplasmes	Rémic D4-INS-055 Prélèvement vaginal et recherche de Streptocoque du groupe B D4-INS-058 Prélèvement urétral D4-INS-004 Mycoplasmes urogénitaux : culture, identification D3-INS-007 Utilisation Aérospray G1-ENR-042 Fiche de poste Bactériologie B2 D3-INS-013 Utilisation et maintenance des PSM D1-INS-008 CIQ en Bactériologie D1-INS-001 Enregistrement et réalisation des EEQ et du CQN
Milieu (Conditions ambiantes requises :	Température ambiante comprise entre 18 et 25° C	3	Respect des recommandations fournisseur Température maîtrisée par sonde	K2-MO-005 Surveillance des températures et des zones de stockage L1 – PR 001 Gestion des locaux et sécurité

température, organisation, locaux, éclairage...)			<p>d'ambiance</p> <p>Surveillance journalière par relevé automatique des températures (1 relevé toutes les 15 minutes)</p> <p>Logiciel de gestion des températures (Evisense) avec alerte SMS et visuelle en cas de problème</p>	du personnel
	Température automates, enceinte thermique	3	<p>Respect des recommandations fournisseurs</p> <p>Températures des frigos réactifs, des étuves visibles à tout moment avec alarme si défaut</p> <p>Température des étuves fixée d'après les recommandations fournisseur + recommandations Rémic</p>	<p>Rémic</p> <p>Fiches techniques fournisseur</p>
	Emplacement et ergonomie	1	<p>Respect des recommandations fournisseurs</p> <p>Document unique</p> <p>Certificat d'installation fourni par le fournisseur</p>	L1-ENR-001 Document unique
	Humidité	1	Pas possible actuellement à contrôler	
	Bruit	1	Respect environnement calme pour les activités qui le nécessitent	
	Eclairage	1	Document unique	
	Vibration	1	Respect recommandations fournisseur	

Matériel: Réactifs, contrôles	Péremption/conservation/stabilité des réactifs (milieu de culture, cartes d'identification, d'antibiogramme, réactifs divers : catalase, groupage streptocoques, colorants...) et des contrôles (souches ATCC...)	2	Gestion des stocks sous Kalilab . Procédure de gestion des stocks ou d'achat des réactifs et consommables Respect des recommandations fournisseurs et des fiches techniques Gestion des péremptions via Kalilab (paramétrage de Kalilab) Gestion métrologique des enceintes thermiques et des zones de stockage	K2-PR-018 Achat et stockage des réactifs et produits consommables K2-MO-005 Surveillance des températures des zones de stockage Document sur la gestion des sondes de mesure en cours de rédaction
	Utilisation des bons réactifs, contrôles	2	Instruction existant sur la prise en charge des prélèvements génitaux Instruction existant sur les CIQ en Bactériologie Mise à jour des fiches techniques sous Kalilab	D4-INS-055 Prélèvement vaginal et recherche de Streptocoque du groupe B D4-INS-058 Prélèvement urétral D1-INS-008 CIQ en Bactériologie H1-INS-029 Mise à jour de la documentation fournisseur
	Risque chimique/biologique...	1	Respect des Fiches de Données sécurité Document unique Conduite à tenir en cas d'exposition	L1-PR-001 Gestion des locaux et sécurité du personnel L1-ENR-001 Document unique L1-INS-001 Conduite à tenir en cas d'accident chimique ou thermique
	CIQ correct	2	D1-INS-008 CIQ en Bactériologie Exploitation des CIQ CAT en cas de CIQ hors borne Doc validation technique/ gestion des calibrations et des CQ	D1-INS-008 CIQ en Bactériologie D1-PR-003 Validation technique-gestion des calibrations et des contrôles qualité
	Exactitude	2	Passage des CQN Suivi et exploitation des CQN	D1 INS.001 Enregistrement et réalisation du Contrôle National de Qualité
	Qualité/intégrité des produits	2	Procédure de réception des échantillons, gestion des lots et péremptions via kalilab Procédure de réception des commandes Réactovigilance	K2-ENR-001 Réception des livraisons K2-INS-024 Evaluation des fournisseurs K2-ENR-001 Formulaire d'évaluation des fournisseurs D3-INS-012 Réactovigilance

Matériel : Equipement, exigences métrologiques, exigences informatiques	Volume	3	Pipettes contrôlées, vérifiées et étalonnées par sté externe Référencement des pipettes Contrat avec Sté CML (changement annuel) Habilitation des techniciens analytique Formation/habilitation du personnel Respect des maintenances internes et externes Suivi des maintenances préventives Suivi des contrôles qualité Traçabilité des maintenances Enregistrement systématique des NC et événements indésirables sous Kalilab Mise en place de solution dégradée en cas de panne Etude d'impact en cas de panne	G1-ENR-047 Habilitation à l'utilisation des pipettes D4-DX-001 Guide de pipetage Gilson G2-ENR-003 Fiche individuelle de formation/habilitation D3-INS-007 Utilisation Aérospray D3-INS-013 Utilisation et maintenance des PSM B4-INS-002 Saisie d'une fiche de non-conformité B4-ENR-002 Non-conformité/Réclamation à enregistrer J1-PR-006 Gestion des pannes
	Automate : Aérospray PSM Microscope	3	Référencement et raccordement métrologique des sondes Entretien par une société externe Respect des recommandations fournisseur Respect des maintenances	G1-ENR-014 Fiche de fonction responsable métrologie
	Sondes de mesure	2	Tests de connexion à l'installation Vérification connexion Vérification périodique du paramétrage (lors du passage des EEQ et CCQ) Vérification des règles d'arrondi et de conversion Solution dégradée en cas de panne du SIL, du Middleware Référénts informatiques nommés	G1-ENR-011 Fiche de fonction responsable informatique J1-PR-006 Gestion des pannes
	Système informatique	3	I1-DX-001 SH-GTA 02 Evaluation des systèmes informatiques en biologie médicale	

	Installation électrique	1	<p>Vérification annuelle par société agréée Utilisation d'ondeleur</p> <p>Surveillance des températures par sonde (1 mesure toutes les 15 minutes) Logiciel de relevé de température (Exisense) Alerte visuelle + SMS en cas de dépassement des EMT Exploitation statistique des données</p>	<p>K2-MO-005 Surveillance des températures des zones de stockage G1-ENR-014 Fiche de fonction responsable métrologie</p>
Enceintes thermiques	3			

Annexe IV : Principe de cotation de la gravité et de la fréquence pour l'attribution des indices de criticité

Pour la gravité :

1 : Mineur : Sans effet sur l'état moral et physique du patient. Sans effet sur le processus, la poursuite de l'activité.

2 : Modéré : Manque de confort, gêne légère ou transitoire sans atteinte sur la santé. Effet ne remettant pas en cause le fonctionnement du processus.

3 : Grave : Impact sur la santé. Augmentation de la durée d'hospitalisation ou de ré-hospitalisation. Fonctionnement du processus perturbé.

4 : Critique : Aggravation de l'état de santé avec effet réversible. Engagement du pronostic vital. Arrêt temporaire d'activité. Remise en cause du fonctionnement du processus.

5 : Catastrophique : Décès. Effet irréversible sur la santé. Fermeture de l'établissement, arrêt prolongé de l'activité.

Pour la fréquence :

1 : Exceptionnel : moins d'une fois par an

2 : Rare : de 1 à 3 fois par an

3 : Peu fréquent : au moins une fois par trimestre

4 : Fréquent : au moins une fois par mois

5 : Très fréquent : au moins une fois par semaine

Indice de criticité :

1 : Risque très limité, acceptable

2 : Attention requise

3 : Mesures requises

4 : Action immédiate requise

5 : Action très urgente

Annexe V : Courrier précisant les modalités de recueil des principaux prélèvements bactériologiques, à l'attention des préleveurs externes



PRELEVEMENTS BACTERIOLOGIQUES



FLACON AVEC POUDRE BLANCHE

Conservation à *t° ambiante jusqu'à 24h* (amener au labo le plus rapidement possible dans l'idéal)

- **ECBU** uniquement



FLACON SANS POUDRE

A amener *dans les 2h après le recueil* au laboratoire

- **pH urinaire, nitrites, sang, corps cétoniques dans les urines**
- Recherche de **Chlamydiae** et **Mycoplasmes** sur **1^{er} JET**



TUBE BOUCHON VIOLET (écouvillon blanc)

Conservation *max 24h à +4°C*

- **Prélèvements vaginaux**
- **Prélèvements cutanés** (Plaies)

SITE DE MORTAGNE
1 RUE DU SOLEIL LEVANT
85290 MORTAGNE-SUR-ÈVRE
TÉL. 02.51.65.12.12
FAX : 02.51.65.12.31

SITE DE POUZAUGES
41 RUE JOACHIM ROUAULT
85700 POUZAUGES
TÉL. 02.51.91.93.19
FAX : 02.51.57.07.97

SITE DES HERBIERS
41 GRANDE RUE
85500 LES HERBIERS
TÉL. 02.51.91.07.45
FAX : 02.51.67.18.08

SITE DE CLISSON
PÔLE SANTÉ
7 RUE DU DR DOUSSAIN



ECOUVILLON SEC ROUGE

A amener au labo ***dans les 2h après le prélèvement !!!***

- Recherche de MYCOPLASMES sur PV



TUBE BOUCHON ORANGE (écouvillon blanc)

Conservation max 24h à +4°C

- Prélèvements urétraux, naso-pharyngés et conjonctivaux



TUBE BOUCHON BLANC (fournisseur BD)

Conservation max 3 jours à +4°C

- Recherche de CHLAMYDIAE sur PV et PU

Annexe VI : Extrait du manuel de prélèvement en ligne Ubilab concernant les prélèvements génitaux

Prélèvement vaginal ou cervico-vaginal pour analyse bactériologique



Renseignements à fournir au laboratoire:

Traitement antibiotique/antifongique en cours?

Symptômes (prurit, leucorrhées, douleurs abdominales...)

Grossesse en cours?

Prélèvement:

La patiente devra éviter toute toilette intime et tout traitement local (crème, gel, savons...).

Il est conseillé d'éviter le prélèvement pendant la période menstruelle car la flore est modifiée.

Si possible, le prélèvement doit être réalisé avant ou à distance de tout traitement antibiotique.

Acheminement:

Tous les échantillons doivent être identifiés (nom, prénom, date de naissance) et acheminés dans les **plus brefs délais** à température ambiante accompagnés de l'ordonnance.



- **Prélèvement vaginal pour recherche bactérienne usuelle:**

Patiente en position gynécologique.
Prélèvement effectué avec un spéculum.
Prélever les sécrétions au niveau de l'exocol et des parois vaginales.

- **Prélèvement vaginal pour recherche de streptocoque B:**





La recherche de streptocoque B s'effectue aux alentours de la 34^{ème} à la 35^{ème} semaine de grossesse au niveau vaginal.
Patiente en position gynécologique.
Prélèvement vaginal effectué avec un éclairage adapté (spéculum non obligatoire) en balayant le 1/3 inférieur des parois vaginales.

- **Prélèvement vaginal sur endocol pour recherche de *Chlamydiae*, mycoplasme:**

Eliminer le mucus et les sécrétions de l'exocol avec un écouvillon sec.
Pour la recherche de mycoplasme, utiliser un écouvillon sec à transmettre dans les deux heures au laboratoire.
Pour la recherche de *Chlamydiae*:
- Introduire l'écouvillon au niveau de l'endocol jusqu'à ce que l'extrémité ne soit plus visible.
- Faire tourner l'extrémité pendant 3 à 5 secondes puis retirer l'écouvillon en évitant le contact avec les parois vaginales.
- L'écouvillon doit être déchargé immédiatement dans le milieu de transport fourni.



Prélever en fonction du tableau suivant :

	Germes banals Gonocoque	Mycoplasmes	Chlamydiae	Virus (Herpès)	Papilloma- virus
Site de prélèvement	Vaginal et Endocol	Endocol	Endocol	Lésion	Endocol
Nombre d'écouvillons	1 écouvillon + milieu de transport (transwab)	1 écouvillon sec	1 écouvillon + milieu de transport spécifique	1 écouvillon + milieu de transport spécifique (virus)	1 écouvillon + milieu de transport spécifique (virus)
Nature des écouvillons/ milieux					
Conditions de conservation	24h à +4°C	2h	72h à +4°C	72h à +4°C	

Annexe VII : Formation/Habilitation à la fonction de biologiste médical



G1 – ENR 036-04

Formation/habilitation à la fonction de Biologiste médical

Nom/ Prénom du biologiste à former/habiler :

Date de début de la formation/habilitation :

Date de fin de la formation/habilitation :

Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration & Observation	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle)	Etape 3 Habilitation
		Tuteur (date, ID)	Tuteur (date, ID)	Biologiste (date, ID)
Connaissance générale du laboratoire				
<ul style="list-style-type: none"> Politique qualité Structure du laboratoire multi-sites (MAQ) Organigrammes 				
Pré analytique : accueil et prélèvements				
<ul style="list-style-type: none"> Superviser l'accueil du patient, et des prélèvements externes 	Maitriser le processus d'accueil des patients, de recueil des renseignements cliniques.			
<ul style="list-style-type: none"> Connaissance des salles de prélèvements et du matériel présent 				
<ul style="list-style-type: none"> Connaissance du manuel de prélèvement 	Maitriser le processus pré-analytique et en particulier le manuel de prélèvement,			
<ul style="list-style-type: none"> Assurer les prélèvements sanguins et microbiologiques au laboratoire et/ou à domicile 				
<ul style="list-style-type: none"> Connaissance des critères d'acceptation et de rejet des échantillons 	connaissance du catalogue des analyses des sous-traitants.			

Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration & Observation Tuteur (date, ID)	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle) Tuteur (date, ID)	Etape 3 Habilitation Biologiste (date, ID)
Prétraitement				
<ul style="list-style-type: none"> Garantir le respect des conditions de prétraitement, conservation et transport des échantillons 	Maîtriser ou savoir rechercher les conditions de prétraitement dans le manuel de prélèvement et les catalogues des analyses des sous-traitants.			
Analytique				
I. Techniques manuelles				
<ul style="list-style-type: none"> Lecture de frottis sanguins hématocytologiques 	Maîtrise du processus analytique			Lecture de 10 lames en doublet avec biologiste ou technicien habilité
<ul style="list-style-type: none"> Recherche de cristaux dans les liquides articulaires 				Recherche de cristaux sur 5 LA en doublet avec bio habilité
<ul style="list-style-type: none"> Lecture de Gram 				Lecture de 10 lames de Gram en doublet avec bio/tech habilité
<ul style="list-style-type: none"> Expertise des antibiogrammes 				Rendu des ATBiogrammes en doublet avec bio habilité pendant une semaine
<ul style="list-style-type: none"> Cultures bactériennes : lecture, interprétation, CAT 				Lecture des cultures bactériennes en doublet avec bio habilité pendant 1 semaine
<ul style="list-style-type: none"> Lecture de lame pour la recherche de parasites sanguins 				Quizz doc G1-ENR-082*
<p>* Critère d'habilitation recherche plasmodium : 100% de réponses exactes pour le diagnostic de genre, 80% de bonnes réponses pour le diagnostic d'espèce (NB: complexe ovale/vivax acceptables pour <i>P. vivax</i> et <i>P. ovale</i>) Critère d'habilitation recherche des autres hématozoaires : > 80% de réponses exactes</p>				



Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration et observation Tuteur (date, ID)	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle) Tuteur (date, ID)	Etape 3 Habilitation Biologiste (date, ID)
<ul style="list-style-type: none"> Lecture des examens parasitologiques des selles 				Quiz doc G1-ENR-083 (200% bonnes réponses)
<ul style="list-style-type: none"> Recherche de Sarcopce 				Recherche de sarcopces sur 5 prélèvements en double avec bio habilité
<ul style="list-style-type: none"> Recherche de Demodex 				Recherche de Demodex sur 5 prélèvements en double avec bio habilité
<ul style="list-style-type: none"> Lecture des cultures/examens directs de mycologie 				Quiz doc G1-ENR-083 (200% bonnes réponses)
<ul style="list-style-type: none"> Interprétation des ELP et des IT Capillarys 				Quiz doc G1-ENR-083 (200% bonnes réponses)
2. Techniques automatisées				
<ul style="list-style-type: none"> Nexus Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 	Maitrise du processus analytique			
<ul style="list-style-type: none"> STA Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				

Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration et observation Tuteur (date, ID)	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle) Tuteur (date, ID)	Etape 3 Habilitation Biologiste (date, ID)
<ul style="list-style-type: none"> • AIA 1 et 2 Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • Architect Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • AU680 Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • G8 Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • Capillarys Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				



Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration Tuteur (date, ID)	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle) Tuteur (date, ID)	Etape 3 Habilitation Biologiste (date, ID)
<ul style="list-style-type: none"> • Phadia 250 Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • IQ200 Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • Vitek 2 compact Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • Wadiana Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				
<ul style="list-style-type: none"> • Vidas Connaissance des : <ul style="list-style-type: none"> - Critères de repasse - Valeurs d'alerte - IM - CIQ - EEQ 				

Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration Tuteur (date, ID)	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle) Tuteur (date, ID)	Etape 3 Habilitation Biologiste (date, ID)
3. Divers				
<ul style="list-style-type: none"> Prise de connaissance de l'ensemble des dossiers de validation/vérification de méthode 	Connaître la législation et maîtriser les procédures de réactovigilance.			
<ul style="list-style-type: none"> Connaissance des solutions dégradées en cas de pannes 				
Métrologie				
<ul style="list-style-type: none"> Connaissance des matériels métrologiques du laboratoire 	Connaître la documentation interne liés à la métrologie et le logiciel métrologie.			
<ul style="list-style-type: none"> Connaissance des moyens de contrôle des matériels métrologiques 				
Post analytique				
<ul style="list-style-type: none"> Valider les résultats des examens biologiques en s'assurant de la cohérence du dossier 	Maîtriser le processus post-analytique, le processus de prestation de conseils.			
<ul style="list-style-type: none"> Assurer l'interprétation des résultats d'analyses pour les patients et les prescripteurs et le cas échéant pratiquer la prestation de conseils adaptée 				
<ul style="list-style-type: none"> Maîtrise des moyens de communication des résultats (Fax, Hprim...) 				
<ul style="list-style-type: none"> Assurer la transmission des résultats dans un délai compatible avec leur bonne utilisation clinique 				



Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Démonstration et observation	Etape 2 Tutorat actif (Travail sous contrôle)	Etape 3 Habilitation
<ul style="list-style-type: none"> Gérer les urgences 				
<ul style="list-style-type: none"> Modification d'un dossier validé transmis 				
Gestion des ressources				
<ul style="list-style-type: none"> S'assurer de la présence des ressources humaines et matérielles nécessaires et prendre les décisions pour pallier au manquement Assurer les remontées nécessaires aux RH 				
Management de la qualité				
<ul style="list-style-type: none"> Participer à l'amélioration du système de management de la qualité Détecter, signaler et tracer les NC et réclamations dans le logiciel qualité Prendre connaissance, s'approprier, appliquer et faire appliquer la documentation qualité 	Connaissance norme ISO 15189 et SH REF 02, le système documentaire. Connaissance de la politique qualité du laboratoire			
<ul style="list-style-type: none"> Participation à la mise en place de l'accréditation de son site puis son maintien 				
Commentaires éventuels				

Activités	Compétences à maîtriser	Etape 1 Présentation & démonstration	Etape 2 Evaluation
Hygiène et sécurité			
<ul style="list-style-type: none"> • Appliquer et s'assurer de l'application des mesures d'hygiène et de sécurité conformément aux textes en vigueur • Appliquer et s'assurer de l'application des mesures concernant l'élimination des déchets conformément aux textes en vigueur • Appliquer et s'assurer de l'application des mesures concernant la protection de l'environnement conformément aux textes en vigueur • Utiliser les équipements de protection individuels 	<p>Maîtriser les procédures hygiène et sécurité du système documentaire.</p> <p>Connaitre les principaux textes en vigueur, le document unique du site.</p>		
Confidentialité			
<ul style="list-style-type: none"> • Respecter et s'assurer du secret médical 			
Communication et relations			
<ul style="list-style-type: none"> • S'assurer de la mise en œuvre d'une communication interne appropriée et efficace au sein du site • S'assurer de la mise en œuvre d'une communication externe appropriée et efficace, en veillant au respect de l'image du groupe : <ul style="list-style-type: none"> – Assurer les relations avec l'ensemble des clients du laboratoire (professionnels de santé et patients) – Participer aux réunions avec les établissements de soins, avec les prescripteurs,... • Informer la direction de tout problème 	<p>Avoir des qualités relationnelles</p>		
Commentaires éventuels			



Bilan de l'habilitation initiale				
Biologiste médical				
Niveau habilitation	<input type="checkbox"/> Partielle		<input type="checkbox"/> Complète	
Commentaires				
Date d'habilitation par le biologiste responsable				
	Nom	Prénom	Fonction	Signature
Personne évaluée				
Biologiste Responsable Habilitation				

Annexe VIII : Formation/Habilitation des techniciens de Microbiologie à la réalisation des examens de prélèvements génitaux



G1-ENR-035-02

Formation/habilitation des techniciens en microbiologie : Prélèvements génitaux et spermoculture

Nom du technicien à former/habiller :	Date de la formation : De : A :	Visa du technicien à former/habiller :
Nom du/des tuteurs :	Nom du biologiste responsable de la formation :	Visa du biologiste responsable de la formation :

Savoir ou savoir-faire	Descriptif	Observation avec tuteur		A fait avec assistance		A fait avec un contrôle ultérieur		Sait faire seul		Niveau habilitation ROU : routine REF : réfèrent	Remarques (Formation à compléter...)
		Date	Visa Tuteur	Date	Visa Tuteur	Date	Visa Tuteur	Date	Visa Tuteur		
Maitrise de la documentation sur <u>Kalilab</u> : connaitre, savoir retrouver et appliquer les documents											
Suivi des attestations de lecture											
Connaissance impérative des docs suivants: -Gestion des urgences en bactériologie. Liste des résultats à		ROU									

	<p>téléphoner.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Liste des manipulations sous PSM - Critères d'acceptation et de rejet des échantillons bactériologiques -Utilisation et maintenance des postes de sécurité microbiologique -Délais de traitement des prélèvements en bactériologie - Prélèvement vaginal et recherche de Streptocoque du groupe B - Prélèvement urétral - Spermoculture -Mycoplasmes urogénitaux : culture, identification 			
--	--	--	--	--

Réalisation des techniques manuelles

<p>Informatique</p>	<p>Si problème de connexion, sait :</p> <ul style="list-style-type: none"> - créer une analyse antibiogramme dans dossier patient - saisir manuellement les résultats dans le SIL 	<p>ROU</p>			
<p>Ensemencements</p>	<p>Ensemencement de 10 PV et recherche de Mycoplasmes, 5 PU</p>	<p>ROU</p>			
<p>ED</p>	<p>1-Etat frais</p> <p>Sait quantifier les leuco, hématies, cellules épithéliales, levures et filaments mycéliens. Sait rechercher les trichomonas. (Lecture de 10 états frais de PV ou PU)</p>	<p>ROU</p>			
	<p>2- Gram (habilitation préalable au Gram indispensable pour valider cette étape)</p>	<p>ROU</p>			
	<p>Sait calculer le score de Nugent et connaît sa signification (lecture de 10 Gram de PV, 5 de PU)</p>				

Galeries Mycoplasmes	Connaissance des seuils de pathogénicité selon la nature du prélèvement	ROU																		
	Lecture correcte des puits d'antibiogramme (lecture de 5 galeries Mycoplasmes)	ROU																		
Spermoculture	Ensemencement (ensemencement de 5 spermés)	ROU																		
Suivi des cultures	Connaissance des bactéries pathogènes recherchées dans les PV	ROU																		
	Connaissance des bactéries pathogènes recherchées dans les PU	ROU																		
	Connaissance des bactéries pathogènes et des seuils de pathogénicité pour la spermoculture	ROU																		
	Saisie manuelle des résultats de culture	ROU																		
Conservation	Cas où demander l'avis du biologiste	ROU																		
	Modalités de conservation des prélèvements avant analyse et après analyse si besoin de rajout d'analyse	ROU																		
	Modalités de conservation des cultures	ROU																		

Annexe IX : Questionnaire d’habilitation des techniciens de microbiologie : prélèvements génitaux et spermoculture



G1-ENR-001-02
Questionnaire d'habilitation des techniciens de microbiologie: prélèvements génitaux et spermoculture

Questionnaire rempli par :	Correction par :	Signature de la personne répondant au questionnaire:
Questionnaire rempli le :	Correction le :	Signature du correcteur :

Connaissance du support documentaire existant et des ouvrages de référence disponibles au laboratoire

1) Vous ne vous souvenez plus des seuils de pathogénicité d'*Ureaplasma urealyticum* dans les urines chez l’homme, dans quel(s) document(s) pouvez-vous trouver l’information?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Connaissances sur les critères d'acceptation d'un échantillon

2) Un coursier vous dépose à midi un prélèvement vaginal avec recherche de mycoplasme. Le prélèvement a été fait à 8h et vous recevez un Transwab et un écouvillon sec. Que faites-vous?

.....
.....
.....
.....

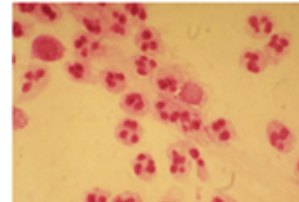
3) Vous recevez un prélèvement de sperme pour spermoculture et spermogramme. Ce prélèvement vient d'un site périphérique et a été conservé à l'étuve afin de ne pas altérer la vitalité des spermatozoïdes. Que faites-vous?

.....
.....
.....
.....

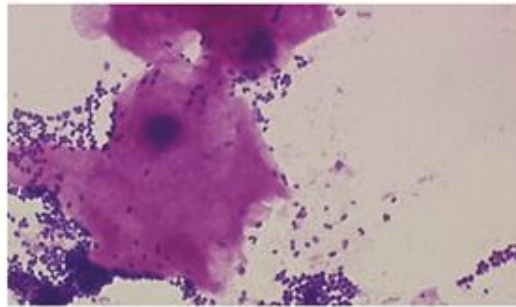
Connaissances théoriques

4) Ce frottis vaginal évoque (plusieurs réponses possibles):

- a) Une vaginite
- b) Une vaginose
- c) Doit faire rechercher des levures
- d) Doit faire rechercher des Mobiluncus
- e) Doit faire rechercher des *Trichomonas*



5) Face à cet examen direct de prélèvement vaginal, quel score de Nugent rendez-vous? Expliquez pourquoi.



.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

6) Vous recevez un prélèvement urétral, quels milieux ensemencez-vous?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Questions	Note du correcteur
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Annexe X : Maintien de l'habilitation à la fonction de biologiste



G1 – ENR 008-01

Maintien de l'habilitation à la fonction de Biologiste

Nom/prénom du biologiste médical concerné:

Visa du biologiste médical concerné:

Date de l'habilitation initiale :

Niveau de l'habilitation précédemment acquise :

Maintien de l'habilitation :

Date :

	Oui	Non	Commentaires
Présence au poste			
> 6 mois consécutifs/an			
Nombre de dossiers validés biologiquement/an			
≥ 6000			
Formation continue			
(a minima 1 formation interne/externe par an)			
Participation aux EEQ			
(a minima 50% de réponses exactes sur l'ensemble des participations aux EEQ par an)			
Analytique			
(Questionnaire pour le maintien des compétences à réaliser tous les deux ans, critères de maintien d'habilitation indiqués dans le questionnaire)			

Niveau d'habilitation retenue à ce jour :

Nom/Prénom du biologiste responsable de l'habilitation :

Visa du biologiste responsable de l'habilitation :

Perte de l'habilitation :

Date :

Nom/Prénom du biologiste supprimant l'habilitation:

Visa :

Annexe XI : Questionnaire de maintien d'habilitation au poste de biologiste médical
(secteur Microbiologie)

Quiz Bactériologie :

Correction le : par :

Note obtenue: /20

**Connaissance du support documentaire existant et
des ouvrages de référence disponibles au laboratoire**

1) Vous vous posez la question sur l'intérêt d'identifier une corynébactérie dans une spermoculture. Quel(s) support(s) documentaire(s) allez-vous utiliser pour vous orienter?

**Connaissances sur les critères d'acceptation
d'un échantillon**

2) Un contenant pour coproculture doit-il être stérile?

.....

3) Y-a-t'il un délai d'abstinence à respecter dans le cadre de la réalisation d'une spermoculture isolée? Si oui lequel?

.....

.....

4) Un technicien reçoit un prélèvement pour spermoculture et spermogramme, il met l'ensemble du prélèvement à l'étuve pour assurer la survie des spermatozoïdes, que lui dites vous?

.....

.....

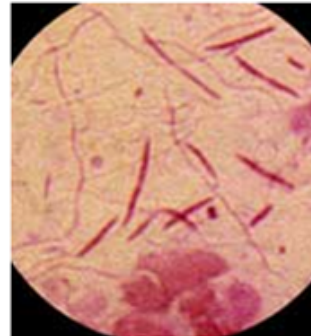
.....

Connaissances théoriques

5) Un technicien vous présente les cultures d'un prélèvement de gorge réalisé dans un contexte d'angine érythémato-pultacée. Il vous demande quels germes rechercher en priorité dans ce type de contexte clinique. Que lui répondez-vous?

.....
.....
.....
.....
.....
.....

6) Un technicien vous montre le Gram d'un prélèvement de gorge. Que concluez-vous? Quel serait votre conseil en antibiothérapie?

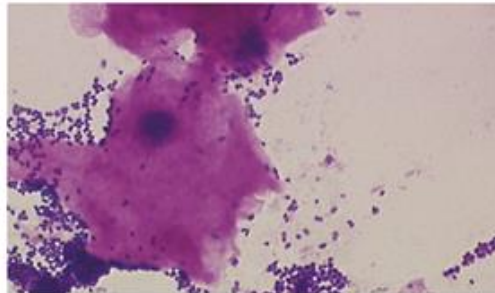


.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

7) Un technicien vous montre une galerie mycoplasme dont tous les puits sont rouge. Il ne sait pas quel résultat rendre. Que lui demandez-vous de faire?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

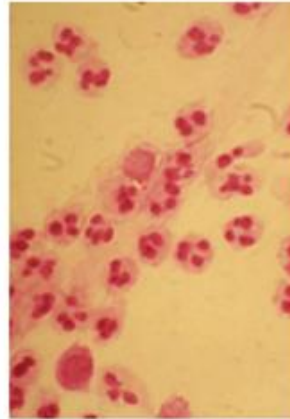
8) Le technicien vous demande quel score de Nugent il doit rendre face à cet examen direct de prélèvement vaginal.



.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

9) Ce frottis vaginal évoque (plusieurs réponses possibles):

- a) Une vaginite
- b) Une vaginose
- c) Doit faire rechercher des levures
- d) Doit faire rechercher des *Mobiluncus*
- e) Doit faire rechercher des *Trichomonas*



10) Un technicien vous présente une gélose Hektoen pour une coproculture réalisée sur selles diarrhéiques. Vous observez une culture monomorphe de colonies jaune (lactose +). Par ailleurs au Gram vous notez l'absence presque totale de bactéries à Gram positif. Demandez-vous des examens complémentaires au technicien?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

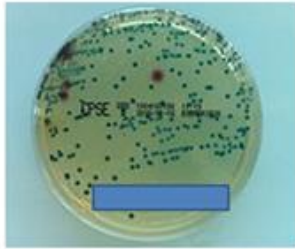
.....

.....

13) Un technicien vous montre une culture d'ECBU chez un patient symptomatique présentant une forte leucocyturie ($>10^7/mL$) et une prédominance de colonies bleues en culture (rares *E. coli* et colonies blanches, devant la leucocyturie et les symptômes, il est décidé d'étudier le germe prédominant).

Vu l'aspect macroscopique des colonies, le technicien a lancé une carte d'identification pour cocci Gram +.

La carte ne rend pas d'identification et le technicien vous demande pourquoi. Que lui répondez-vous? Que faire à l'avenir pour éviter ce genre de situation?



.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

14) Un médecin vous appelle au sujet d'un enfant de 5 ans présentant une infection urinaire à *Escherichia coli*. Il a reçu le résultat de l'antibiogramme, le germe est multirésistant:

Il est producteur de BLSE et résistant à l'ensemble des antibiotiques à l'exception des furanes et du Bactrim. Le médecin vous demande un conseil en antibiothérapie. Quels conseils lui prodiguez-vous?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

15) Vous recevez en validation un résultat de *Staphylococcus saprophyticus* à 10^6 /mL dans un ECBU. Sur la feuille de saisie, le technicien a indiqué les résultats des tests effectués sur les colonies:

- Colonies roses, ED: cocci
- Catalase +
- Slidex -
- *Staphylococcus saprophyticus*

Demandez-vous des examens complémentaires?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

18) En validation biologique, vous êtes face à un *Staphylococcus aureus* présent dans une plaie et présentant l'antibiogramme suivant:

test à la Céfexime: négatif

CMI à l'Oxacilline : = 2

Kanamycine: S

Tobramycine: S

Ofloxacine: S

Macrolides: S

Linézolide: S

Vancomycine: S

Tétracycline: S

Fosfomycine: S

Nitrofurantoïne: S

Acide fusidique: S

Rifampicine: S

Bactrim: S

Comment interprétez-vous cet antibiogramme, demandez-vous des tests complémentaires?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

19) Un *Enterobacter cloacae* est isolé dans une urine, il présente l'antibiogramme suivant:

- Mécollinam: R
- Ampicilline: R
- Amox/Acide clavulanique (urine): R
- Ticarilline: R
- Pipéracilline/tazobactam: R
- Céfoxitine: R
- Céfixime: R
- Ceftazidime: R
- Ceftriaxone: R
- Ertapénème: S
- Amikacine: R
- Gentamicine: R
- Acide nalidixique: R
- Ciprofloxacine: S
- Ofloxacine: S
- Fosfomycine: S
- Nitrofurantoïne: S
- Triméthoprim/sulfaméthoxazole: S

Demandez-vous des examens complémentaires au technicien? Quel conseil en antibiothérapie pouvez-vous donner au clinicien?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

20) Que faites-vous face à l'antibiogramme et au rapport AES ci-dessous?

NB: Il s'agit d'un *Escherichia coli* isolé dans une urine.

.....

.....

.....

.....

Commentaires :	Règle bioART n°21 : Pour un résultat concordant, consulter le rapport complet AES: Si le phénotype BLSE est proposé en choix unique, rendre le résultat. Si le phénotype BLSE est proposé dans un choix multiple, confirmer par un test de synergie, une carte étendue ou en bandelette Etest (Etest ESBL PM/PM, Etest ESBL CT/CT, Etest ESBL TZ/TZ). Règle bioART n° 90: Pour les souches productrices de BLSE, efficacité thérapeutique incertaine de l'association Pipéracilline + Tazobactam en dehors des infections urinaires. Source CASFM 2015

Informations sur l'identification	
Germe sélectionné	Escherichia coli
Commentaire sur l'ident. :	Entré le : 7 janv. 2016 09:37 CET Par : bg

Résultats Antibiogramme	Carte : AST-N340	N° de lot : 780348310	Péremptio n :	27 juin 2016 13:00 CEST	
	Terminé le : 7 janv. 2016 17:24 CET	État : Final	Heure de l'analyse :	7,75 heures	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Mélicilline	2	S	Ceftriaxone	> 32	R
Ampicilline	> 16	R	Ertapénème	<= 0,5	S
Amoxicilline/acide clavulanique			Amikacine	<= 2	S
Urine	[8]	*R	Gentamicine	<= 1	S
Autre	[8]	*R	Acide nalidixique	> 16	R
Ticarcline	> 64	R	Ciprofloxacine	> 2	R
Pipéracilline/tazobactam	<= 4	S	Ofloxacine	> 4	R
Céfoxiline	<= 4	S	Fosfomycine	<= 16	S
Céfixime	> 2	R	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Ceftazidime	2	I	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	> 160	R

+= Antibiotique déduit *= Modification AES **= Modification Utilisateur []= CMI supprimée du rapport graphique

Résultats AES :	Dernière modification : 4 déc. 2015 09:32 CET	Normes/Phénotype : CASFM EUCAST : 2015+Phenotypic
Niveau de fiabilité :	Concordant	

Germe sélectionné : Escherichia coli
Fiabilité AES : Concordant

Fiabilité de l'ID :

Phénotypes

Famille d'antibiotiques	Phénotypes détectés
BÉTA-LACTAMINES	BÉTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU, HYPERPRODUCTION SHV1
AMINOSIDES	SAUVAGE
QUINOLONES	RÉSISTANT
FOSFOMYCINE	SAUVAGE
FURANES	SAUVAGE
TRIMÉTHOPRIME/SULFAMIDES	RÉSISTANT

Interprétations thérapeutiques

Antibiotique	Modifications de l'interprétation	Raison (règle ou phénotype)
Amoxicilline/acide clavulanique (Autre)	Modifier S en R	HYPERPRODUCTION SHV1
Amoxicilline/acide clavulanique (Urine)	Modifier S en R	HYPERPRODUCTION SHV1

Différences CMI/Ab

Aucun(e)

Déductions d'antibiotiques

Aucun(e)

Annexe XII : Présentation destinée à la formation continue des techniciens de Microbiologie : Diagnostic bactériologique d'une infection génitale

Diagnostic bactériologique d'une infection génitale

Fantinato Christine
Laboratoire Sèvre Biologie
Novembre 2015

Physiologie de l'appareil génital féminin

<ul style="list-style-type: none">= Utérus= Endocol	}	Zone stérile
<ul style="list-style-type: none">= Exocol= Vagin= Vulve	}	Zone « contaminée » (flore cutanéodigestive, flore vaginale)

Info © 2000 mediscience.fr

Au niveau urétral:
Jusqu'au 1/3 distal de l'urètre, zone contaminée par la flore cutanéodigestive

Sites de prélèvement

- **Chez la femme:**
prélèvement vaginal, endocervical
prélèvement profond sous coelioscopie
prélèvement vulvaire
- **Chez les deux sexes:**
prélèvement urétral
prélèvement d'ulcérations, vésicules



Flore vaginale commensale

- En période d'activité génitale, la quantité de bactérie par mL de sécrétions est de 10^6 à 10^9
- **Portage habituel (>90% des femmes):**
 - Lactobacilles (flore de Doderlein) +++
 - Corynebactéries
 - Streptocoques α -hémolytiques
 - Staphylocoques à coagulase négative
- **Portage fréquent (5 à 50% des femmes):**
 - Streptocoques du groupe B
 - Entérocoques
 - *Candida albicans*
 - Entérobactéries
 - *Gardnerella vaginalis*
 - Streptocoques anaérobies
 - Anaérobies
 - *Staphylococcus aureus*
 - Mycoplasmes

- **Portage exceptionnel (0,2 à 2% des femmes)**

- Pneumocoque
- *Haemophilus*
- *Streptocoque du groupe A*
- *Neisseria meningitidis*

- **Pathogènes obligatoires:**

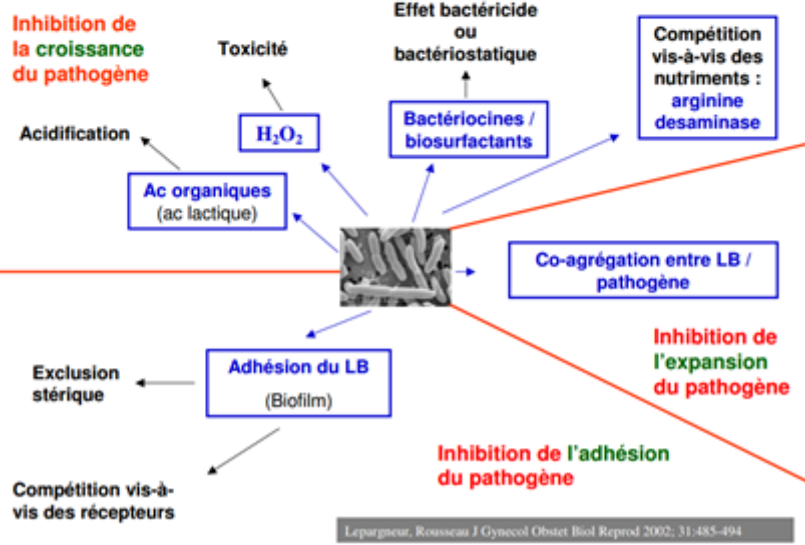
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Trichomonas vaginalis*
- *Chlamydiae trachomatis*
- Herpes

Agents pathogènes stricts
normalement absents de la flore vaginale,
présence significative quel que soit la
quantité

NB: Flore urétrale commensale:

Portage habituel:
1/3 distal de l'urètre: flore cutanée et digestive
En amont absence de flore

Effets des LB sur les souches à potentiel pathogène



Aspects cliniques

- Ulcération des muqueuses
- Urétrite
- Ano-rectite
- Balanite aiguë
- Prostatite, épидидymite et orchite
- Candidose vulvo-vaginale
- Vaginite
- Vaginose
- Cervicite et salpingite
- Endométrite
- MAP et RPM

Examen bactériologique

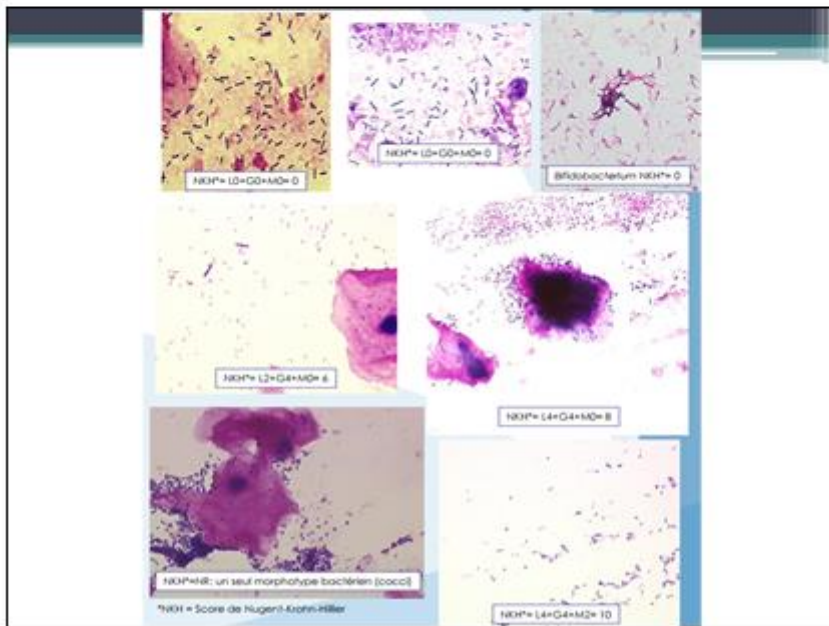
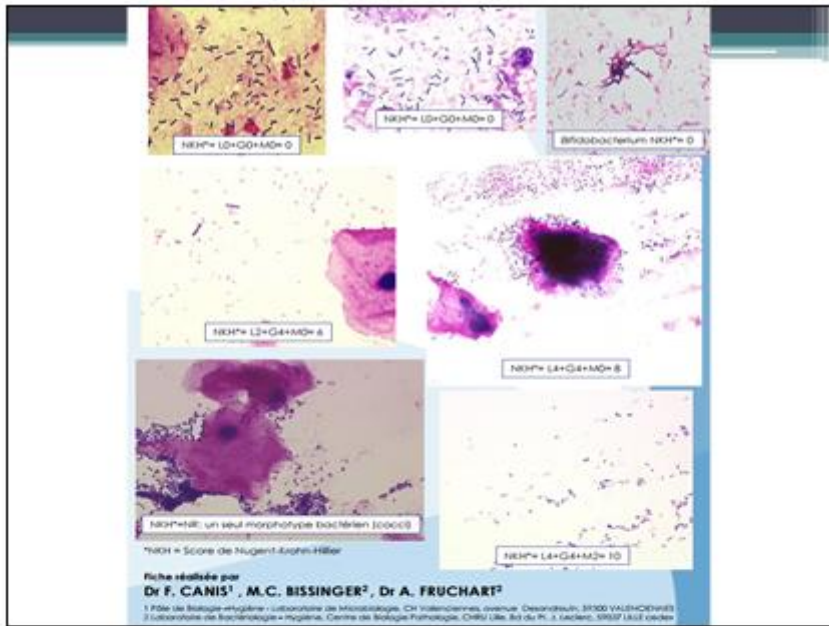
- **Examen macroscopique:**

- Noter la couleur, l'odeur et le pH des sécrétions

(ex: Au cours des vaginoses, les sécrétions sont grisâtres, avec une odeur d'amines de poisson et un pH > 5. Au cours des candidoses, les sécrétions sont blanches grumeleuses sur une muqueuse souvent inflammatoire et tuméfiée)

- **Examen microscopique:**

- Etat frais: *Trichomonas vaginalis*, levures, filaments
- Coloration de Gram, PNN, équilibre de la flore, cellules épithéliales, germes intracellulaires (*N. gonorrhoeae*)



Culture (1)

- **Recommandations REMIC 2015:**

- GS pour la recherche de bactéries Gram +
 - Gélose au sang cuit (+/- mélange d'inhibiteurs) incubée sous CO₂, pour la recherche de *N. gonorrhoeae* et *H. influenzae*
- Indispensable
- Ajout d'une gélose sélective pour la recherche de BGN
 - Gélose spécifique pour la recherche des levures
 - Milieu chromogène pour la recherche de Strepto B
- Ajout possible

➔ Incubation à 35°C pendant 48h

Principaux agents pathogènes rencontrés au laboratoire

Neisseria gonorrhoeae

- IST d'origine bactérienne la plus fréquente après *Chlamydiae trachomatis*
- Recrudescence des infections gonococciques en France chez les 15-34 ans
- Emergence de souches multirésistantes y compris aux C3G
- Symptomatique dans 90% des cas chez l'homme
- Asymptomatique dans 50% des cas chez la femme

Clinique

	Homme	Femme
Incubation	2-7 j	10 j
Clinique	Urétrite aiguë Écoulements purulents Brûlures mictionnelles	Cervicite Leucorrhées Urétrite Dysurie
Complications possibles	Prostatite Orchi-épididymite	Endométrite Salpingite Péritonite Absès tubaire

- Dans les deux sexes: localisations anales et pharyngées possibles.
- En l'absence de tt, risque de dissémination (arthrites, septicémies, endocardites...).
- L'infection gonococcique augmente le risque de transmission du VIH.
- Chez la femme enceinte: accouchement prématuré, chorio-amnionite, retard de développement fœtal, conjonctivite chez le nouveau-né



Urétrite gonococcique



Conjonctivite à Gonocoque
du nouveau-né

- **Diagnostic:** prélèvement urétral, prélèvement de la zone exo-endocol, 1^{er} jet urinaire
- **Examen direct:** diplocoque Gram-, souvent intracellulaire, bactérie très fragile, sensible aux variations de température (utilisation d'un milieu de transport, conservation sur Transwab démontrée jusqu'à 48h)
- Culture sur milieux enrichis +/- inhibiteurs, incubés sous CO₂
- Possibilité de détection moléculaire (PCR), méthode très sensible mais coûteuse
- **Antibiogramme:** recherche d'une bêta lactamase par méthode chromogénique
- **TTT:** Ceftriaxone en première intention (résistances ↑ aux FQ) mais apparition de résistance à la Ceftriaxone



Mycoplasma et Ureaplasma

- Mycoplasmes génitaux:
Ureaplasma urealyticum (Uu), *Mycoplasma hominis* (Mh),
Mycoplasma genitalium (Mg)
- Uu et Mh sont retrouvés fréquemment à l'état commensal chez l'homme et la femme.
- Mg non présent à l'état commensal → sa présence doit être considérée comme pathogène.
- Uu et Mh sont cultivables + réalisation de galeries
- Mg non cultivable: diagnostic par PCR



Pouvoir pathogène

	Femme	Homme
<i>Mycoplasma hominis</i>	Vaginose Endométrite Salpingite Fièvre du <i>post-partum</i> Pyélonéphrite	Pas de rôle pathogène décrit
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Pathogène chez la <u>femme enceinte + fièvre du post-partum</u>	UNG Epididymites Lithiase urinaire
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Cervicite Urétrite Endométrite Salpingite Vaginoses	2 ^e agent d'UNG (après <i>Chlamydiae trachomatis</i>) Epididymites

Prélèvement

- Forte affinité des mycoplasmes pour les cellules des muqueuses → bien gratter la muqueuse lors du prélèvement
- Prélèvements possibles:
 - Endocervicaux
 - Urétraux
 - Spème
 - 1^{er} jet d'urine
- Grande sensibilité à la dessiccation → utiliser un milieu de transport adapté (UMMt)
- Milieux de culture solides : complexes (ajouts d'ATB pour les rendre sélectifs)

Principe



- Utilisation de milieu liquide pour détecter la croissance des mycoplasmes, les quantifier et évaluer leur sensibilité aux ATB
- Résultats comparables à ceux obtenus par culture en milieu solide
- Croissance des mycoplasmes \rightarrow hydrolyse des substrats (urée ou arginine) \rightarrow alcalinisation du milieu \rightarrow virage de l'indicateur du jaune au rouge
- Différents puits pour:
 - Identification
 - Numération (en UCC/mL: Unité Changeant la Coloration/mL)
 - Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Interprétation

Évaluation quantitative nécessaire sauf pour *Mycoplasma genitalium*

Taux pathologiques:

Uu $\geq 10^4$ UCC/mL pour prélèvement urétral

Uu $\geq 10^3$ UCC/mL pour 1^{er} jet d'urines ou sperme

Mh $\geq 10^4$ UCC/mL pour un prélèvement cervico-vaginal

Difficulté d'interprétation

- Risque de **faux positifs** si présence en grande quantité de bactéries uréase + ou si levures:
 - virage de l'ensemble des puits au rouge
 - réisoler le milieu UMMt sur gélose chocolat
- pH basique (vaginose) peut faire virer le milieu
 - diluer dans un autre UMMt
- Si taux d'Uu ou Mh très élevés, risque de virage au rouge de tous les puits de la galerie
 - diluer dans un autre UMMt

Traitement

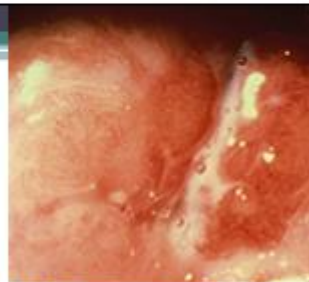
- Nécessité d'antibiotique à diffusion intracellulaire:
Cyclines, Macrolides, FQ
- Des résistances acquises ont été décrites pour ces trois familles d'ATB
- **Mh** est naturellement résistant à l'**Erythromycine**
- **Uu** est naturellement résistant à la **Clindamycine**

Trichomonas vaginalis

- **Clinique:**
 - Femme: vulvovaginite: pertes vaginales spumeuses, malodorantes, prurit. Pas de complications génitales hautes
 - Homme: asymptomatique ou urétrite aiguë
- **Diagnostic:**
 - Examen direct entre lame et lamelle, mise en évidence du parasite mobile
- **TTT:**
 - Métronidazole
 - TTT du partenaire obligatoire (IST)



Aspect à l'examen direct



Leucorrhées suite à une infection par *Trichomonas vaginalis*



Agents de candidose

- **Principales étiologies**

- *Candida albicans* (85-90% des cas)
- *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*

- **Clinique**

- Femme: vulvovaginite: prurit, brûlures vaginales, leucorrhées grumeleuses, blanches, érythème et œdème vulvovaginal. Extension exceptionnelle au haut appareil génital
- Homme: le plus souvent asymptomatique, parfois balanites, urétrite subaiguë
- Ce n'est pas une IST

- **Facteurs favorisants**

- Grossesse, diabète, chaleur, humidité, œstrogènes, traitements antibiotiques



Source : © Pierre-Luc Dion. Reproduction autorisée.

Balanite à *Candida*



Candidose vulvo-vaginale

Que devez-vous rechercher chez le patient de la photo 1 ?

- a) Un pied d'athlète
- b) Un diabète
- c) Une IST

- **Diagnostic: clinique +++**
 - Si échec de TTT ou récurrence, faire un prélèvement
 - ED: levures et/ou filaments
 - Culture: milieu CAN à 35°C pendant 48h
- **TTT:**
 - Local
 - Lutte contre les facteurs favorisants
 - Pas de ttt du partenaire sauf si symptomatique (balanite)
- **Problème des mycoses récidivantes**
 - > 4 épisodes par an
 - Facteurs immunitaires locaux
 - Rôle de l'ATF?
 - TTT préventif et curatif

Agents de vaginose bactérienne

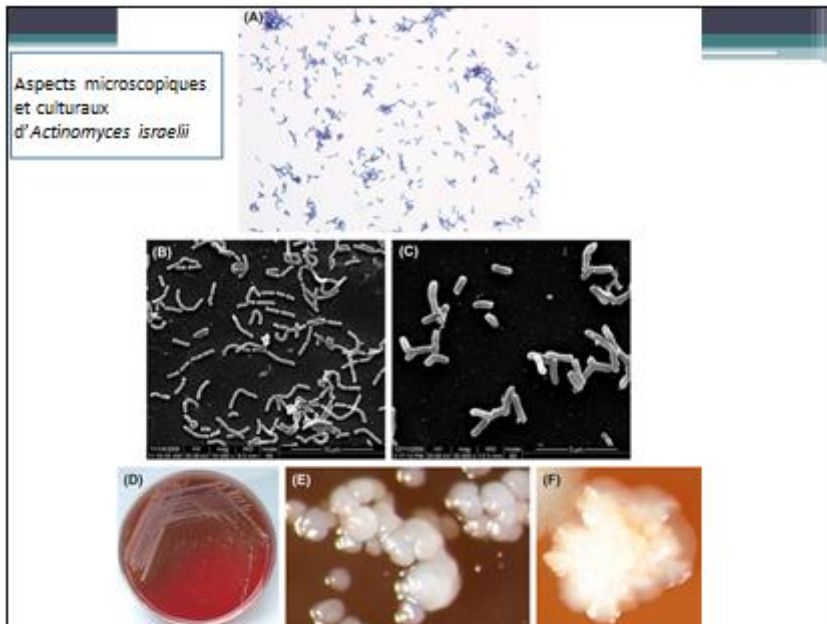
- **Contrairement à vaginite:**
Pas d'inflammation locale, peu ou pas de PNN, nombreuses cellules épithéliales. Diminution des lactobacilles et augmentation de la colonisation par différentes bactéries dont *Gardnerella vaginalis* et bactéries anaérobies (*Mobiluncus*).
- Ce n'est pas une IST
- **Facteurs de risque:**
 - Stérilet
 - Douches vaginales
 - Produits d'hygiène inadaptés (savons antiseptiques)
 - Carence oestrogénique
- **Critères diagnostic:**
 - Leucorrhées abondantes et malodorantes
 - pH vaginal > 5
 - Présence de clue cells à l'ED

- **Culture:**
 - *Gardnerella vaginalis*: sur GS en anaérobiose ou sur PVX sous CO₂, petites colonies, catalase-
 - Anaérobies: sur GS en anaérobiose en 48h
 - *Mobiluncus*: culture difficile → rarement isolé (ED+++)
- **TTT:**
 - Pas d'antibiogramme pour *Gardnerella vaginalis*, absence de corrélation in vivo/in vitro
 - TTT par Métronidazole (Flagyl®)
- **Prévention des rechutes:**
 - 30% de rechutes à 1 mois
 - Jusqu'à 80% de rechutes à 9 mois
 - Traiter l'épisode en cours
 - Rééquilibrer l'écosystème vaginal
 - Acidification du milieu
 - Réensemencement de lactobacilles
 - TTT oestrogénique local

Actinomyces israelii

- Saprophyte des cavités oropharyngées et digestives, commensal occasionnel de la flore vaginale
- Bacille à Gram + ramifié
- Infections pelviennes rares (5%), plus souvent cervico-faciales, thoraciques ou abdominales
- Infection pelvienne se développant à partir d'une lésion de la muqueuse
- Incidence plus élevée chez les femmes porteuses de DIU et augmente avec la durée du port du DIU
- Peut se voir au cours de tt traumatisme pelvien (acte chirurgical, fécondation in vitro, pessaire)





- 4 formes cliniques:

- Asymptomatique
- Syndrome douloureux pelvien
- Tableau infectieux +/- franc
- Syndrome pseudo tumoral

- Diagnostic:

- Histologie: présence de grains de sulfure
- Bactériologie: **difficile, lente (5 à 14 jours!)** sur GS en anaérobiose, colonies blanches/crémeuses (peut devenir rose en vieillissant), catalase-, BG+ ramifié, carte ANC

- Ttt:

- Asymptomatique: laisser le DIU en place + information patientes
- Symptomatique: ôter le DIU + ttt.ATB (chirurgie si nécessaire)
- ATB: Pénicilline G IV pendant 4-6 semaines + relais per os par Amoxicilline

Agents bactériens d'ulcérations génitales

- *Treponema pallidum*
- *Haemophilus ducreyi*
- *Chlamydiae trachomatis* serotypes L1, L2, L3
- *Klebsiella granulomatis*

Syphilis

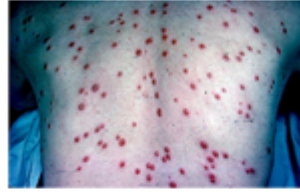
- **IST** en recrudescence surtout dans la population homosexuelle
- Due à *T. pallidum subsp pallidum*
- Dépistage systématique pendant la grossesse → très rares cas de syphilis congénitale
- Transmission interhumaine stricte
- **Diagnostic:**
 - Prélèvement des lésions:
 - Faire sourdre la sérosité et la récolter. La mélanger à une goutte d'eau physiologique sur une lame, puis aller regarder **immédiatement** au microscope à fond noir: bactéries spirochètes avec une mobilité caractéristique (rotation sur son axe)
 - La lecture doit se faire dans le ¼ d'heure suivant le prélèvement
 - **Sérologie +++**

Non fait en pratique courante

- **Clinique:**

- Syphilis précoce:

- Primaire symptomatique (incubation: 10 à 90 jours): chancre induré, indolore, adénopathies périphériques, passe souvent inaperçu
- Secondaire symptomatique (1 à 3 mois après l'apparition du chancre): éruptions cutanéomuqueuses
- Latente précoce: syphilis asymptomatique de moins d'un an



- Syphilis tardive:

- Syphilis latente tardive: syphilis asymptomatique de plus d'un an
- Syphilis tertiaire: après plusieurs années d'évolution, manifestations cutanéomuqueuses, neuro-méningées, cardio-vasculaires, osseuses et viscérales

Chancre mou

- Dû à *Haemophilus ducreyi*
- **IST** endémique dans les régions tropicales
- Incubation courte: 4 à 10 j
- **Clinique:** ulcérations multiples, douloureuses, non indurées, purulentes, adénite inguinale unilatérale inflammatoire, douloureuse
- **Diagnostic:** grattage des berges de l'ulcération, ensemencement de milieux enrichis (PVX), culture difficile, pendant plusieurs jours à 35°C sous CO₂: petites colonies de petits bacilles à Gram négatif à coloration bipolaire en chaîne de bicyclette, peu fiable
Technique de référence: **PCR**
- **TTT:** Bactrim, C3G, Macrolides



Chancre mou: ulcération génitale



Aspect microscopique d'*Haemophilus ducreyi*

Lymphogranulome vénérien (Maladie de Nicolas-Favre)

- **IST** due aux sérotypes L1, L2, L3 de *Chlamydiae trachomatis*
- Localisation principalement anale chez homosexuels
- 3 phases:
 - Primaire: incubation de 3 à 30j, ulcération non indurée, indolore, lésion cutanéomuqueuse, peut passer inaperçu
 - Secondaire: adénites satellites du chancre d'inoculation, adénopathies inguinales, douloureuses et inflammatoires
 - Tertiaire: fistulisation, rare, uniquement si pas de ttt
- Diagnostic: **PCR**
- Traitement: Tétracyclines ou macrolides

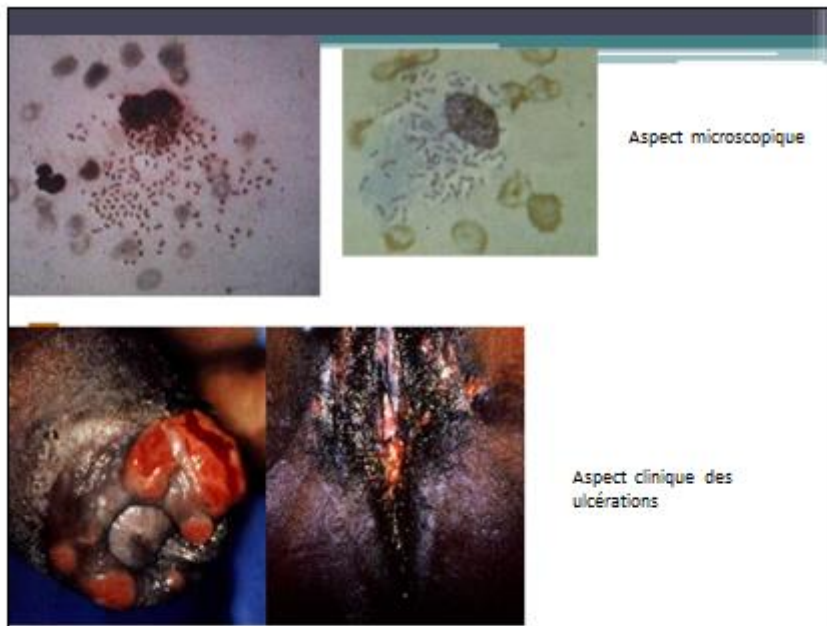


Chancre et ganglions inguinaux



Donovanose (granulome inguinal)

- **IST** courante en zone tropicale due à *Klebsiella granulomatis*
- Rare en France
- BGN
- **Incubation:** entre 3 et 40 jours en général
- **Clinique:** ulcération unique ou multiple, indurée, granulomateuse, rouge vif, indolore, saignant facilement, pas d'adénopathie
- **Diagnostic:** Grattage ou biopsie des bords de l'ulcération, coloration au Giemsa (mise en évidence de corps de donovan), culture difficile (sur monocytes)
- **TTT:** Macrolides, FQ, Cotrimoxazole pendant 14 j
- **Complication sans ttt:** lymphoedème génital, mutilation génitale, voire carcinome.



Cas cliniques

CAS 1:

Une jeune femme de 22 ans vient consulter pour des leucorrhées et des démangeaisons vulvaires d'apparition récente. A l'interrogatoire, le médecin apprend qu'elle a eu des rapports non protégés récemment, et que les signes se sont amplifiés il y a 2 jours, depuis la fin de ses règles. A l'examen au spéculum, le médecin note une vulve et un vagin rouges et douloureux. Les leucorrhées sont abondantes, verdâtres et malodorantes.

- Orientation diagnostique?
- Vous décidez de confirmer ce diagnostic par un prélèvement vaginal. Quelle est la condition à respecter pour le transport de ce prélèvement? Pourquoi?
- Quelle implication cela a-t-il dans la physiopathologie de l'infection par cet organisme?
- Quelle est la conduite à tenir? D'autres examens biologiques doivent-ils être prescrits?

CAS 2:

Mme X, célibataire, consulte pour un syndrome douloureux abdominal. Pas d'ATCD particulier en dehors d'une IVG un an auparavant. Depuis qql heures elle se plaint d'une douleur dans l'hypochondre droit, intense, exagérée par la toux, ayant débutée brutalement et accompagnée de nausées. Palpation abdominale met en évidence une défense strictement localisée à l'hypochondre droit. Touchers pelviens douloureux. Leucorrhées purulentes. CRP à 80 mg/L. Echo abdo, rénale et pelvienne normales. Bilan hépatique et pancréatique normaux.

- Hypothèse diagnostique?
- Agents pathogènes responsables d'infections génitales hautes chez la femme?
- Moyens de diagnostic microbiologique d'une infection génitale haute?

CAS 3:

Une jeune femme de 24 ans vient consulter son médecin pour des pertes vaginales malodorantes. Ces pertes surviennent surtout au moment des règles. Elle signale également une gêne lors des rapports sexuels. A l'interrogatoire, le médecin apprend qu'elle change fréquemment de partenaire. Il n'y a pas eu de traitement antibiotique récent. Sa température est à 37°C. A l'examen au spéculum, le médecin note peu d'irritation locale. Les leucorrhées sont peu abondantes, grisâtres et adhérentes à la paroi vaginale. Le diagnostic d'une infection génitale basse est évoqué.

- Hypothèse diagnostique
- Agents pathogènes responsables d'infections génitales basses chez la femme?
- Citer les éléments microbiologiques qui permettent de poser ce diagnostic?

Annexe XIII : Questionnaire d'évaluation des acquis suite à la formation sur les prélèvements génitaux

Evaluation formation prélèvements génitaux

Date :

Nom :

Prénom :

Dans quels cas ne peut-on pas appliquer le score de Nugent ?

.....
.....
.....

Suite à la réalisation d'une galerie mycoplasme, tous les puits virent au rouge, à quoi cela peut-il être dû ? Quelle conduite tenir ?

.....
.....
.....

Quels sont les caractères microscopiques et cultureux d'*Actinomyces israelii* ?

.....
.....
.....

Quelles sont les différences entre une vaginite et une vaginose ?

.....
.....
.....

Citez les principaux agents pathogènes obligatoires rencontrés dans les prélèvements génitaux.

.....
.....
.....

Donnez les taux pathologiques des trois espèces de mycoplasmes génitaux en fonction de la nature du prélèvement (urine, prélèvement génital, sperme).

.....
.....
.....

Citez une bactérie à l'origine d'ulcération génitale douloureuse ?

.....

Notions à perfectionner (à remplir par l'évaluateur) :

RESUME :

L'ordonnance 2010-49 du 13 janvier 2010 fait obligation aux LBM de faire accréditer leurs pratiques conformément à la norme NF EN ISO 15189.

En bactériologie, discipline qui comporte encore beaucoup de techniques entièrement ou partiellement manuelles et de subjectivité opérateur dépendant, la démarche d'accréditation est difficile à mettre en œuvre. Nous avons choisi de travailler sur les étapes d'examen direct et d'ensemencement des prélèvements génitaux.

Le travail réalisé dans le cadre de ce DU a permis, suite à la réalisation d'une analyse de risques, de mettre en évidence des facteurs de risques non maîtrisés. En raison du temps imparti, nous nous sommes principalement concentrés sur la formation, l'habilitation et le maintien des compétences du personnel, sur la maîtrise de la documentation et sur les contrôles qualité.

Concernant l'action menée en termes de formation/habilitation/maintien des compétences, l'objectif est d'étendre ce travail à tous les secteurs et catégories du personnel du laboratoire, et de s'inscrire ainsi dans une dynamique d'amélioration continue. De même, la formation continue proposée aux techniciens de Microbiologie a suscité un réel engouement nous incitant à réitérer ce type d'action et à l'étendre à d'autres secteurs.