

VALIDATION D'UNE METHODE QUALITATIVE EN BACTERIOLOGIE

Détection de l'antigène spécifique du *Clostridium difficile* dans les selles

« *C.difficile* GDH ImmunoCard® »

Ayham LAYKA
Biologiste médical
CH Le Corbusier-Firminy
DU Assurance qualité 2016-2017

Hôpital Le Corbusier

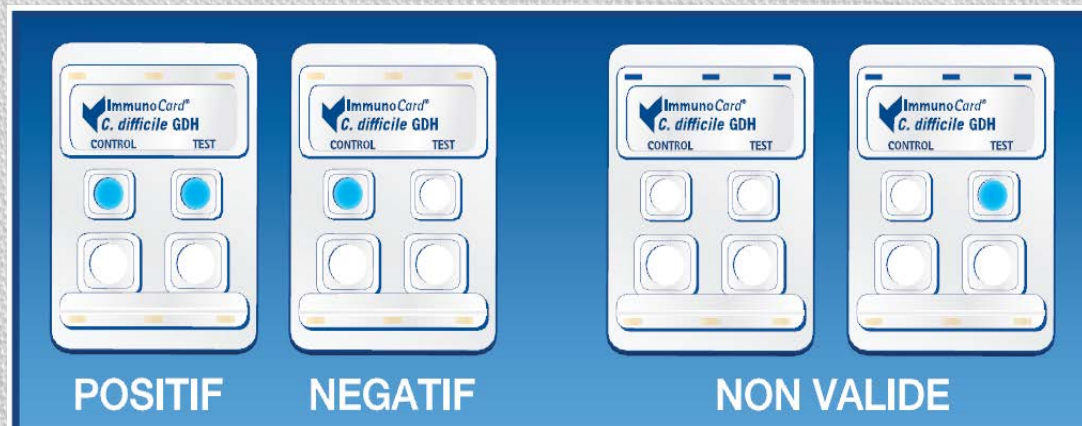
- Le laboratoire:
 - Mono-site polyvalent
 - Personnel
- La politique qualité:
 - Démarche d'accréditation
 - Objectif principal

L'antigène GDH du *Clostridium difficile*

- *Clostridium difficile*
 - Bacille anaérobie à gram positif
 - Agent étiologique des diarrhées
 - Antigène spécifique: enzyme GDH
 - Souches toxigènes, responsable de l'ICD
- Détection de la GDH
 - Dispositif médical de diagnostic in-vitro
 - Méthode qualitative

Description de la méthode

- ImmunoCard *C. difficile* GDH de Méridian®
- Réaction immunoenzymatique sur support solide



Intérêts et objectifs

- Accréditation en Bactériologie
- Dossier de validation de méthode
- Avancement de la démarche qualité
- Planning prévisionnel d'extension



Prévisionnel des demandes d'Extension d'accréditation de votre LBM jusqu'en 2020

➤ à envoyer par email au pilote de votre dossier ◀

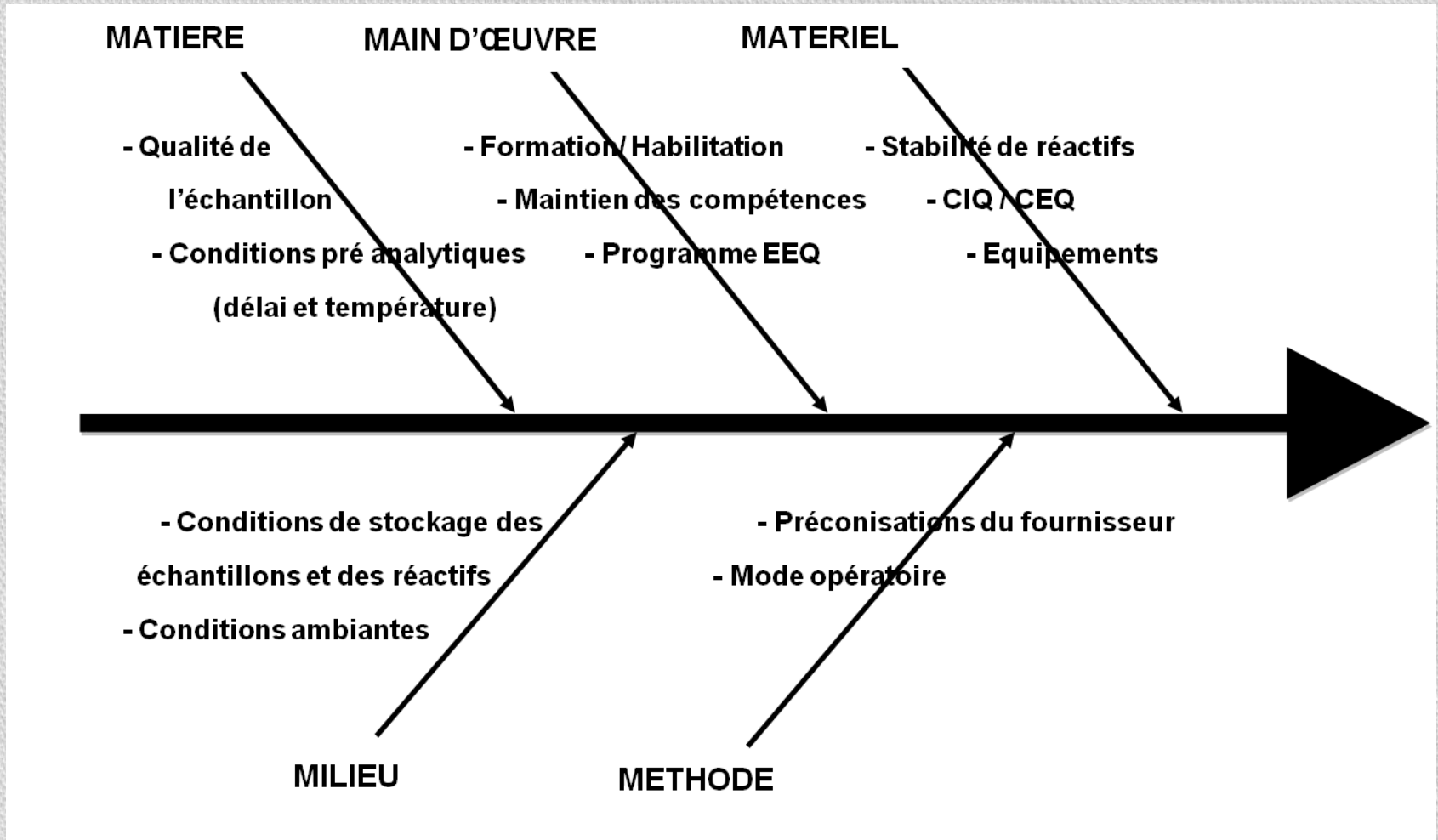
| Extensions demandées ² | 2017 | 2018 | 2019 |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Biochimie générale et spécialisée (BIOCHBM) | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Pharmacologie – Toxicologie (PHARMACOSTPBM – TOXICOBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Radiotoxicologie (RADIOTOX) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Hématocytologie (HEMATOIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Hémostase (COAGIBM) | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Immuno-Hématologie (IMMUNOHEMATOIBM) | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Auto-Immunité (AUTOIMMUNOIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Allergie (ALLERIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Immunologie Cellulaire Spécialisée et histocompatibilité (ICELLHISTOIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Spermiologie diagnostique (SPERMIOIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Activités biologiques d'AMP (AMPBIOIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Agents transmissibles non conventionnels (ATNCIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Bactériologie (BACTH) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Parasitologie-Mycologie (PARASITOMYCOIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Sérologie Infectieuse (ISEROIBM) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Virologie (VIROH) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Génétique somatique (GENMOLIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Génétique constitutionnelle (GENMOLIBM) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Anatomie & cytologie Pathologique (ACP) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Nbre de sites analytiques total | 1 | 1 | 1 |
| Nbre de sites Pré - Post-analytiques total | 1 | 1 | 1 |
| Nbre de services/unités EBMD total | 0 | 0 | 1 |

² Préciser les sous-familles/sites que vous souhaitez demander à l'accréditation en 2017, 2018 puis 2019 pour atteindre la totalité de votre activité accréditée au 1^{er} novembre 2020.

Méthodologie

- Recherche bibliographique
- Analyses des risques par les 5M
- Evaluation de la performance de la méthode
- Révision de la procédure
- Remplir le formulaire SH FORM 43

Analyse de risques par la méthode des 5M:



Méthodologie

- Recherche bibliographique
- Analyses de risques par les 5M
- Evaluation de la performance de la méthode
- Révision de la procédure
- Remplir le formulaire SH FORM 43

Performances de la méthode

| Vérification d'une méthode qualitative (portée A) | | |
|--|----------------------|---|
| Paramètre à vérifier et / ou connaitre | Bibliographie | Vérification sur site/ essaie |
| Incertitudes/Facteurs de variabilité | / | Maitrise des facteurs de variabilité/ Habilitation |
| Sensibilité et spécificité analytique | OUI | / |
| Limite de détection | OUI | / |
| Intervalle de référence et / ou valeurs seuils | OUI | / |
| Robustesse et Stabilité de réactifs | OUI | / |
| Comparaison avec méthode de référence | OUI | / |
| Comparaison avec méthode déjà utilisée au laboratoire | OUI | OUI |
| Contamination entre échantillons | OUI | OUI |
| Interférences | OUI | / |

Méthodologie

- Recherche bibliographique
- Analyses de risques par les 5M
- Evaluation de la performance de la méthode
- Révision de la procédure
- Remplir le formulaire SH FORM 43

Résultats et interprétations

Maitrise des risques par la méthode des 5M

| Types de risques | Points critiques | Modalités de maîtrise |
|------------------|---|---|
| Matière | <ul style="list-style-type: none">•Qualité du prélèvement•Conditions avant traitement de l'analyse | <ul style="list-style-type: none">•Modalité de prélèvement et d'acheminement•Information du patient et du personnel•Vérification de la conformité |
| Milieu | <ul style="list-style-type: none">•Conditions de conservation des échantillons•Conditions de conservation des réactifs•Conditions environnementales | <ul style="list-style-type: none">•Suivi des températures des enceintes réfrigérées•Salle technique climatisée |

Résultats et interprétations

Maitrise des risques par la méthode des 5M

| Types de risques | Points critiques | Modalités de maîtrise |
|-------------------------------|--|---|
| Matériel (équipements) | <ul style="list-style-type: none">• Poste de sécurité en microbiologie (PSM)• Chronomètre• Informatique | <ul style="list-style-type: none">• Maintenance• Vérification annuelle• Cahier de traçabilité et double saisie du résultat sur le SIL |
| Matériel (réactifs) | <ul style="list-style-type: none">• Conservation et conditions avant d'utilisation• Intégrité du réactif• Traçabilité des lots | <ul style="list-style-type: none">• Suivi des températures des enceintes réfrigérées• Respect du mode opératoire et de la fiche technique fournisseur et fiche de stress fournisseur• Gestion de stock informatisée |

Résultats et interprétations

Maitrise des risques par la méthode des 5M

| Types de risques | Points critiques | Modalités de maîtrise |
|---------------------|--|--|
| Méthode | <ul style="list-style-type: none">•Limites de la méthode•Valeur seuil•Respect des temps d'incubation et du temps de lecture•Vérification de performances en continu | <ul style="list-style-type: none">•Respect de la fiche technique fournisseur et du mode opératoire•CIQ•Contrôle- test•EEQ |
| Main d'œuvre | <ul style="list-style-type: none">•Maintenance de compétences•Personnel compétent et habilité | <ul style="list-style-type: none">•Formation/habilitation des opérateurs•Evaluation annuelle des compétences•15 test/an par opérateur•Et participation au programme EEQ |

Résultats et interprétations

- Variabilité inter-opérateurs
- Valeurs prédictives
 - Positive (VPP)
 - Négative (VPN)
- Stabilité des réactifs et robustesse
- Interférences et réactions croisées

Démarche de validation de la méthode

- Liste détaillées des examens
- Dossier de validation de la méthode
- Base documentaire du dossier :
 - Dossier de validation, Procédure, MO
 - Fiches d'habilitation, Résultats CQI et CQE
 - Documents fournisseur, Bibliographie

Limites et difficultés

- Manque d'effectif en biologistes
- Étude de variabilité inter- opérateurs
- Congés : annuels, maladies, formation



Conclusion

- Norme NF EN ISO 15189
- Maitrise des risques
- Performances de la méthode
- Méthode conforme
- Amélioration de la qualité

Merci de votre attention

A faint, light-colored illustration of a plant with large, rounded leaves and a single flower at the top, positioned on the right side of the page. The background has a fine, textured pattern.