

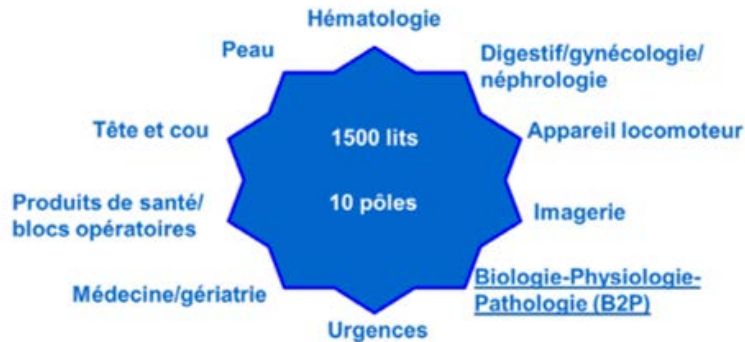
MISE EN PLACE DES CONTROLES INTERNES DE QUALITE POUR LES ANTIFONGIGRAMMES EN MYCOLOGIE

AZADAN BUI JULIE
TECHNICIENNE DE LABORATOIRE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
HOPITAL SAINT LOUIS

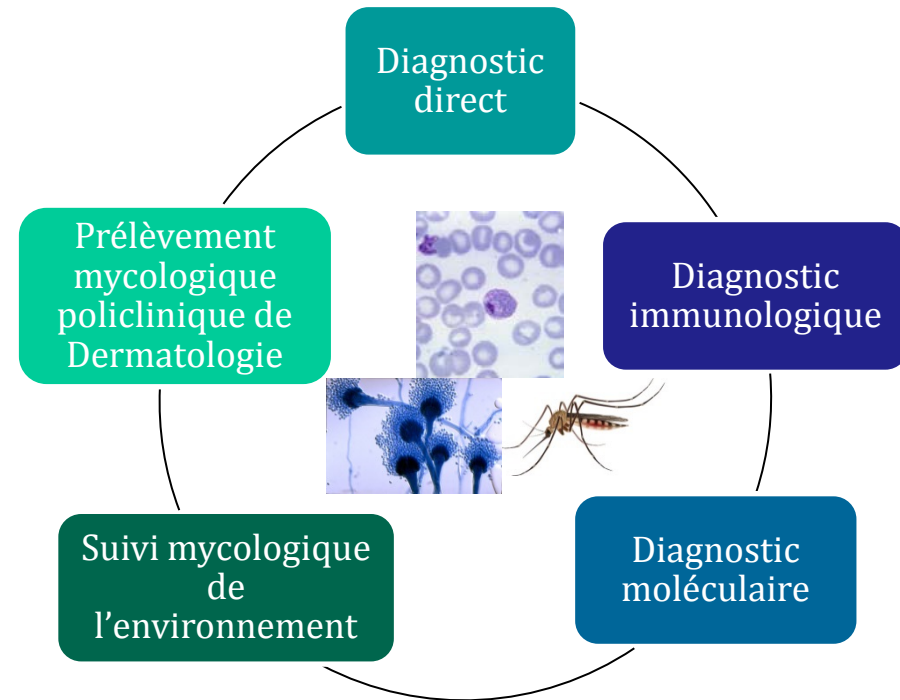


Présentation

- Groupe Hospitalier Saint-Louis, Lariboisière, Fernand Widal
- 1 groupe hospitalier avec 10 pôles d'activité
 - 1 LBM B2P sur 2 sites (Saint Louis et Lariboisière)



Service de Parasitologie/Mycologie



Avancement de la démarche qualité

- Accréditation de 50% des actes sur le GH
- Liste des examens couverts par l'accréditation du service

Familles	Ligne de portée	Nom de l'examen	Principe de la méthode
ISEROBM	IB1	Aspergillose : recherche Antigène diagnostic par une technique EIA	ELISA, spectrophotométrie
PARASITO/MYCO	PM1	Examen mycologique isolé : identification de genre levures et champignons filamenteux	Examen direct : Noir Chorazol, Calcofluor et Lactophénol
PARASITO/MYCO	PM1	Examen mycologique isolé : identification de genre levures et champignons filamenteux	Ensemencement
PARASITO/MYCO	PM7	Hématozoaires : recherche en frottis et en goutte épaisse	Coloration lames
PARASITO/MYCO	PM7	Paludisme : recherche Ag solubles par technique immunochromatographique	Immuno-chromatographie
PARASITO/MYCO	PM8	PCR toxoplasmose	PCR temps réel

- Demande d'extension d'accréditation en 2019: **PCR *aspergillaire*** sur plasma

Contexte

❑ Objectif de l'antifongigramme:

- ✓ prédire l'efficacité et la surveillance du traitement
- ✓ suspicion d'échec thérapeutique.

❑ Méthode utilisée Etest : détermination d'une CMI sur milieu gélosé



❑ Souches ATCC Kwik-Stik® utilisées pour identification MALDI-TOF:

- ✓ *Candida tropicalis*, ATCC® 750
- ✓ *Candida glabrata*, ATCC®MYA-2905

❑ En moyenne 15 antifongigrammes/mois avec **aucun CQI**

Problématique: absence de CIQ pour les antifongigrammes



Objectif : Mettre en place des CIQ

- Répondre aux exigences normatives NF ISO 15189 chapitre 5.6
- Vérifier qualité performance analytique obtenues
- Surveiller erreurs éventuelles
- Examen à accréditer

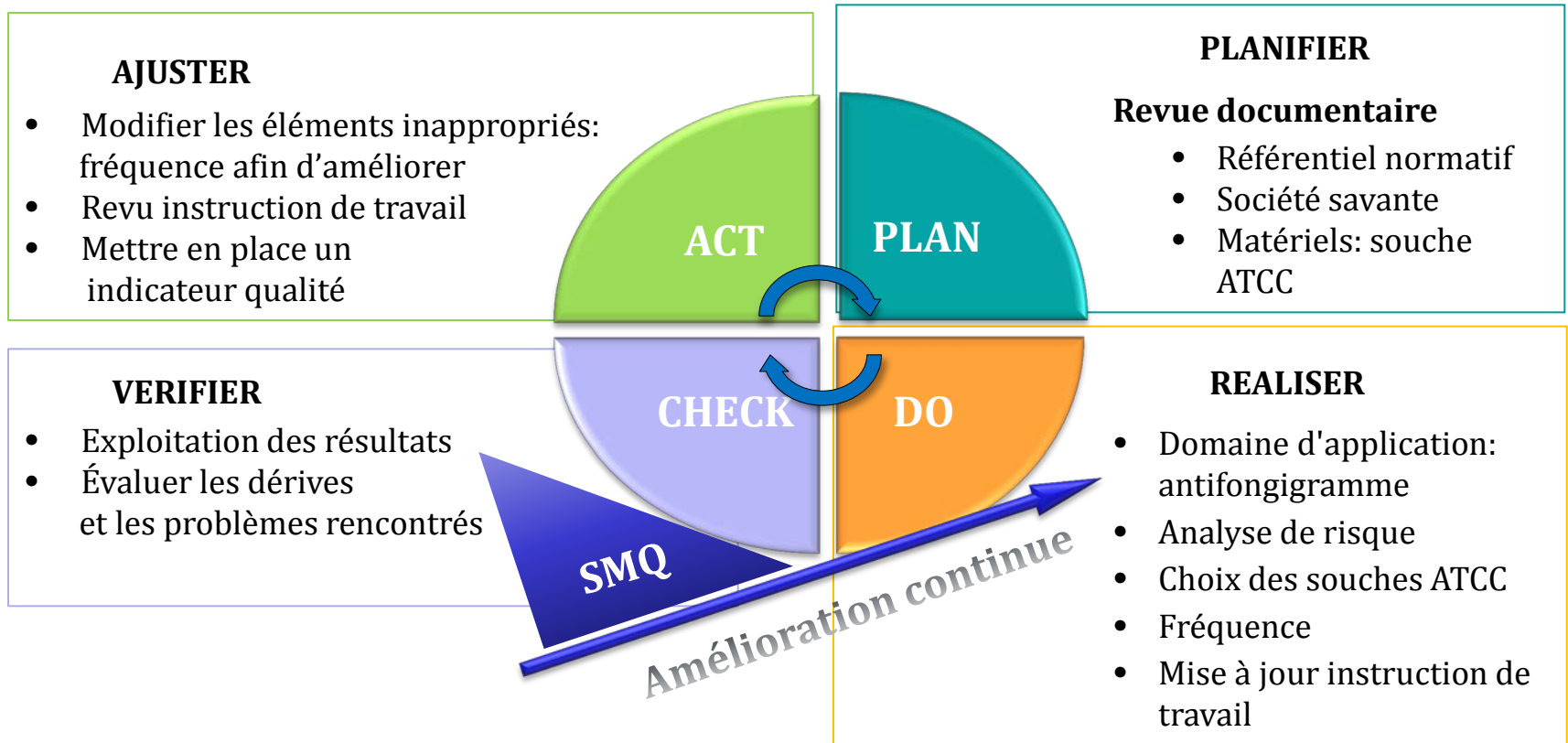
Limite sujet

- Étude restreinte aux levures
- Coût élevé
- Mise en application



DEMARCHE- ROUE DE DEMING

PDCA





Planifier – PLAN

❑ Revue documentaire:

- Recommandations sociétés savantes: EUCAST, QUAMIC
- Exigences normatives

« 5.6.2 Contrôle qualité

Le laboratoire doit concevoir des procédures de contrôle de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue. »

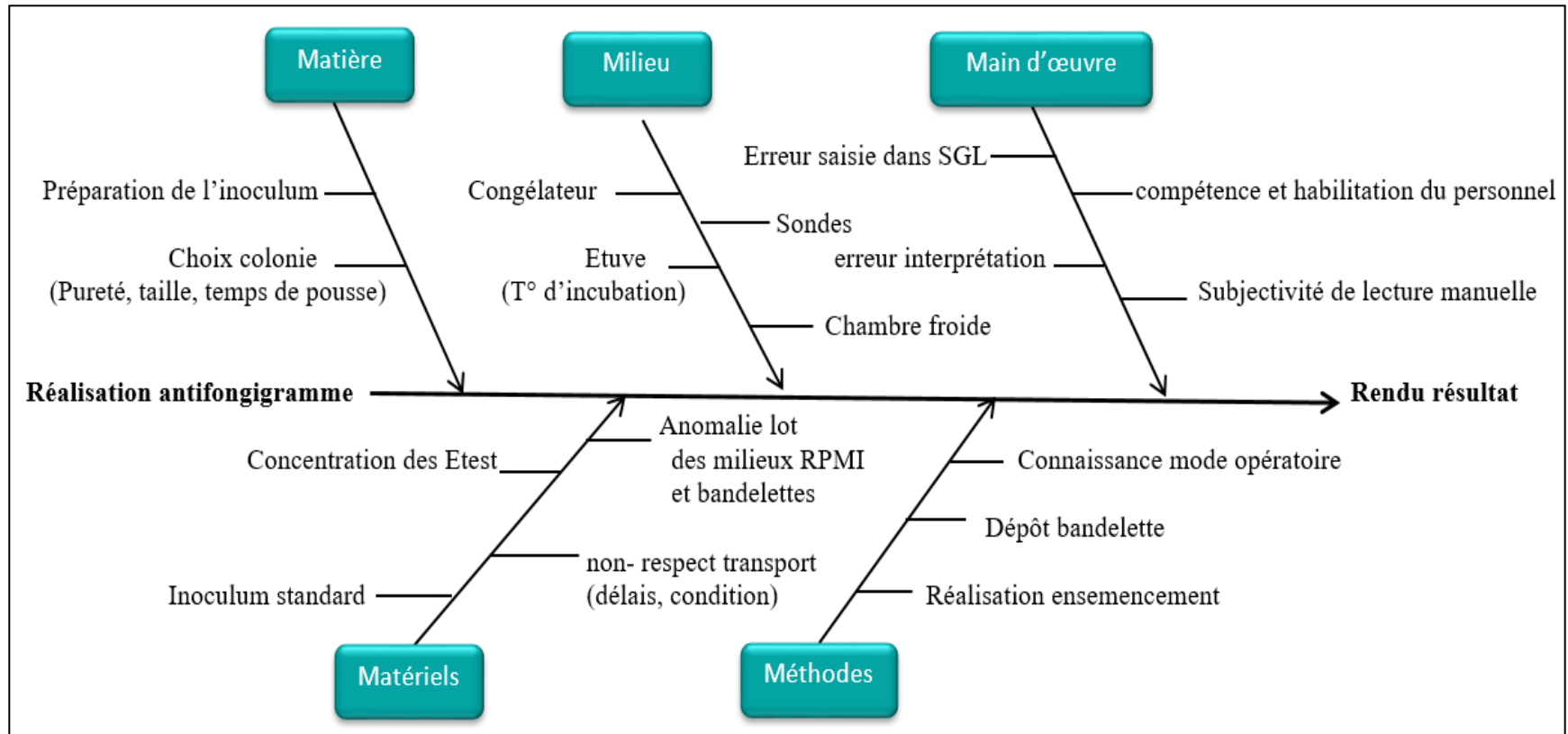
Norme NF EN ISO 15189 2012

❑ Matériels utilisés

- Des souches ATCC conservés dans des cryobilles
- Choix souches complémentaire de celles utilisées *C. albicans* ATCC® 14053, *C.parapsilosis* ATCC® 22019, *C.krusei* ATCC® 6258

Réaliser- DO 1/3

☐ Analyse de risque 5M: Diagramme d'ISHIKAWA



✓ Identifier les risques potentiels influençant le processus analytique

Réaliser-DO 2/3

5M	Points critiques	F	G	C	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise Documents
Matière	Choix de la colonie (pureté, taille, âge)	2	1	2	-non contamination -réisolement	- vérification visuelle pureté - identification MALDI-TOF
	Préparation de l'inoculum	2	3	6	-Qualité de l'inoculum	-Utilisation d'une gamme Mc Farland -mesure densitométrique
Milieu	Condition de conservation des milieux de cultures pour ATF RPMI et Etest	1	3	3	-métrologie des enceintes froides	-maîtrise métrologie (cartographie et suivi métrologique Oceansoft) <i>SLL-B2P-METRO-PT-003</i> -respect instructions fournisseur
	Condition d'utilisation des milieux de culture et Etest	1	3	3	-métrologie des enceintes : étuve 37°C enceinte froide (-20°C et +4°C)	-maîtrise métrologie (cartographie et suivi métrologique Oceansoft) <i>SLL-B2P-METRO-PT-003</i> <i>SLL-B2P-METRO-PT-004</i>
Matériels (réactifs)	Etalon (McFarland)	2	1	2	-Acceptation des lots à la réception -Gestion du stock	-Fiche qualité fournisseur
	Concentration des bandelettes E-test (CMI)	2	3	6		-Suivi de traçabilité réactif -Présence d'un CIQ pour vérifier défaillance
	Non-respect délais condition de transport réactifs	2	2	4		-Fiche de stress fournisseur
	Survenue d'une anomalie de lot milieu RPMI et bandelettes	1	3	3		-Suivi traçabilité réactif -test d'acceptation des lots -certificat de conformité réactif -Réactovigilance <i>SLL-B2P-QUAL-DE-107</i>
Méthodes	Connaissance modes opératoires	2	2	4	-Attestation de lecture des documents de travail	-Suivi attestation de lecture sur Kalilab
	Ensemencement manuelle ATF et dépôt bandelettes	2	2	4	-Qualité d'ensemencement	-formation et habilitation du personnel (initiale et maintien)

Main d'œuvre (personnel)	Lecture visuelle CMI				- Subjectivité des lectures visuelles - Variabilité inter-opérateur	-double lecture technicien/biologiste - Test de lecture d'un CIQ inter-opérateur et suivi périodique
		3	3	9		
	Erreur interprétation	2	3	6	Mise à jour seuil d'interprétation	- Développement professionnel Continu (DPC), congrès pour biologiste
	Erreur de saisie dans le SGL(GLIMS)	2	3	6	-Formation à l'utilisation SGL	-Contrôle de saisie : Vérification biologique

- ✓ Evaluer les risques à l'aide d'une échelle de criticité
- ✓ Pour chaque points critiques: actions prévues par mise en place de moyens de maîtrise



Mise en place CIQ

Réaliser-DO 3/3

- ❑ Fréquence mensuelle:
 - raisonnable du nombre d'antifongigramme réalisé par mois
 - analyse de risque à postériori pour déterminer la fréquence optimale
 - réajuster la périodicité

- ❑ Passage à chaque changement lot réactifs

- ❑ Révision du mode opératoire



Vérifier – CHECK

- vérification des souches conservées sur cryobille
- Identification 100% au MALDI-TOF



	<i>C. albicans</i> ATCC® 14053	<i>C.glabrata</i> ATCC® MYA-2905	<i>C.tropicalis</i> ATCC® 750	<i>C.parapsilosis</i> ATCC® 22019	<i>C.krusei</i> ATCC® 6258
Amphotéricine B	S	S	S	S	S
Caspofongine CS	R	R	R	R	R
Fluorcytosine 5FC	S	S	R	S	R
Voriconazole VO	S	S	S	S	S
Fluconazole FL	S	I	S	S	R

Profil de sensibilité des souches ATCC aux antifongiques

- Profils de sensibilité stables: détermination valeurs de références
- Pertinence du choix des souches ATCC en fonction des souches cliniques rencontrées: *Candida glabrata* MYA ATCC et *Candida tropicalis* ATCC 750



Focus inter-opérateur lecture CMI par différents opérateur

	AP B	CS	5 FC	VO	FL
Opérateur 1	0.75 (S)	0.125 (R)	> 32 (R)	0.016 (S)	0.25 (S)
Opérateur 2	0.38 (S)	0.125 (R)	> 32 (R)	0.023 (S)	0.25 (S)
Opérateur 3	0.50 (S)	0.094 (R)	> 32 (R)	0.023 (S)	0.25 (S)
Opérateur 4	0.50 (S)	0.125 (R)	> 32 (R)	0.016 (S)	0.25 (S)
Opérateur 5	0.50 (S)	0.125 (R)	> 32 (R)	0.023 (S)	0.25 (S)
% écart lecture	40	20	0	40	0
% concordance seuil interprétation	100	100	100	100	100

*variabilité inter-opérateur pour la souche ATCC
C.glabrata*

	AP B	CS	5 FC	VO	FL
Opérateur 1	0.38 (S)	0.125 (R)	0.016 (S)	0.094 (R)	4 (I)
Opérateur 2	0.38 (S)	0.125 (R)	0.012 (S)	0.094 (R)	4 (I)
Opérateur 3	0.38 (S)	0.094 (R)	0.012 (S)	0.032 (R)	4 (I)
Opérateur 4	0.38 (S)	0.125 (R)	0.016 (S)	0.094 (R)	6 (I)
Opérateur 5	0.38 (S)	0.125 (R)	0.012 (S)	0.032 (R)	4 (I)
% écart lecture	0	20	40	40	20
% concordance seuil interprétation	100	100	100	100	100

*variabilité inter-opérateur pour la souche ATCC
C.tropicalis*

- Ecart de lecture de CMI important
- Mais 100% de concordance seuil interprétation
- variabilité non significative sur le résultat de l'interprétation de l'antifongogramme
- Pas d'impact sur la prise en charge thérapeutique du patient.

Ajuster- ACT



- ❑ minimiser les discordances et améliorer la fiabilité des résultats.
- formation adéquate et continue du personnel sur les règles de lectures des CMI
- vérifier la présence ou non d'une dérive de lecture
- test de lecture comme un critère de maintien d'habilitation pour chaque technicien

➔ Indicateur de qualité à mettre en place

INDICATEUR	Test de lecture inter-opérateur
Champ de mesure	Lecture des CMI des Etest
Norme processus	Norme NF ISO 15189, chapitre 5.1
Critère	Taux d'écart de lecture
objectif	Dérive de lecture lors du rendu des antifongigrammes
Cible	<20%
Périodicité	Tous les mois à chaque passage de CIQ
Méthode de calcul	Nombre d'opérateur avec lecture différente / nombre total d'opérateur x 100
Mode de recueil des données	Relever des données sous formes de fichier Excel

Conclusion

- Mise en place de CIQ sur une méthode qualitative
- **Adapter le choix et la fréquence** de ces CIQ en fonction de l'analyse de risques 5M
- CIQ mensuel compte tenu activité
- Fiabilité résultats: **tests de lecture** à fréquences régulière

Merci de votre attention

