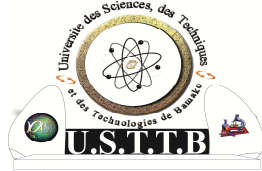


**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITÉ DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE
BAMAKO**

FACULTÉ DE MÉDECINE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année : 2012-2013

N° /M

Thèse

**CONTRIBUTION A L'ASSURANCE QUALITÉ DANS LA DÉTERMINATION DE LA
PROTÉINE C RÉACTIVE AU LABORATOIRE DU CHU GABRIEL TOURÉ.**

Présentée et soutenue publiquement le..... /..... / 2013

Devant la Faculté de Médecine et d'odonto-stomatologie Par : Mr Hamadoun

MAIGA

Pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)

Jury :

Président : *Professeur Sounkalo DAO*

Membres : Professeur Flabou BOUGOUDOOGO

Docteur Abdoul Aziz DIAKITÉ

Co-directeur de Thèse : Docteur Samba Adama SANGARÉ

Directeur de Thèse : Professeur Souleymane DIALLO

DÉDICACES

À mon père Aly MAIGA

Cher père, tu m'as montré le chemin du travail, ta rigueur dans l'éducation a toujours guidé mes pas, ta sagesse et ta culture d'une famille unie resteront à jamais dans nos mémoires. Ton amour particulier pour nous m'a illuminé le chemin du savoir.

Puisse ALLAH le Tout Puissant te garder encore longtemps à nos côtés pour que tu puisses profiter du fruit de nos efforts.

Trouve à ce modeste travail un début de récompense à tes nombreux sacrifices. Je suis sûr que tes vœux seront exaucés par le Tout Puissant et que tes conseils ne seront pas vains.

À ma mère Madina MAIGA

Extraordinaire maman, que de larmes versées ! Que de souffrances ! Que de prières élevées vers les cieux ! Que de sacrifices ! Tu peux sécher tes larmes et dire Amen car Dieu a exaucé tes vœux. Maman tu as toujours su aimer, su pardonner et su partager dans la discrétion. Aucun mot ne saurait traduire notre profond amour pour toi. Maman, je t'aime, que le Tout Puissant ALLAH te garde aussi longtemps que possible pour nous, Amen

À mon oncle Hammadoun MAIGA

En ce moment solennel de ma vie, il me manque des mots pour vous exprimer ma reconnaissance et mon attachement. DIEU sait que vous avez été un père pour moi dans tous les sens du terme. Merci pour l'éducation que vous nous avez donnée.

Recevez ainsi l'expression de toute ma gratitude.

À ma tante Aminata DICKO

Votre affection, vos encouragements et vos bénédictions m'ont apporté réconfort et consolation. Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma reconnaissance, car vous avez été une mère pour moi que Dieu le Tout Puissant vous accorde une longue vie, Amen.

Au Pr. Gangaly DIALLO

Vous avez été, vous êtes et vous resterez pour toujours un exemple pour moi. Merci pour vos conseils, votre disponibilité et aussi pour m'avoir soutenu et accompagné tout le long de mon cycle.

Recevez ici l'expression de toute ma gratitude.

À mes oncles

Sans vos conseils, vos sacrifices, vos prières et vos encouragements, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé.

À mes tantes

Vous avez été d'un apport inestimable dans l'élaboration de ce travail. Soyez rassurées de ma sincère reconnaissance.

À ma grande-sœur Fatoumata MAIGA

Ce travail est le tien. Il est le fruit des liens sacrés qui nous unissent.

Merci pour ton soutien et ton accompagnement.

À mes cousins et cousines

Merci pour l'estime et le respect que vous avez manifesté à mon égard.

RÉMERCIEMENTS

A ALLAH le Tout Puissant

L'Unique, le Parfait, le Sage, l'Omnipotent, le Miséricordieux par qui et pour qui nous sommes et à qui nous serons, de m'avoir donné la vie, la santé, et de m'avoir guidé sur le bon chemin. C'est par votre grâce que je suis arrivé à ce niveau aujourd'hui.

Au Prophète Mohamed Arasoulouh (Paix et Bénédiction sur Lui)

Tu es le Prophète le plus sollicité, recours Te fera quand toute l'humanité sera face aux dures épreuves. Reçois ma reconnaissance, Prophète béni. Oui ma reconnaissance pour l'Islam. Sauve-moi le jour où toutes les âmes seront affaiblies, gloire à Toi, Serviteur d'ALLAH et des autres créatures.

A tout le corps professoral de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie, et Faculté de Pharmacie, pour la qualité de l'enseignement.

A mes maîtres:

Dr CAMARA Ténin SAMAKE, Dr Samba Adama SANGARE, Dr Cheick Fanta Mady DIABATE, Dr Almoustapha MAIGA, Dr Boubou TAMBOURA, Dr Aziz MAIGA, Mr Amadou KEITA, Mme Wadia KARAMBE. J'ai beaucoup appris auprès de vous, soyez en remercier.

A mes aînés:

Dr Aminata COULIBALY, Dr Issaka TOURE, Dr Allaye TRAORE. Merci pour votre esprit d'équipe.

A mes collègues:

Namory CAMARA, Ahmadou A DICKO, Sabiha DIALLO, Adama TOGO, Blaly DEMBELE.

Certes le chemin a été long et difficile mais avec le courage nous sommes arrivés à bout. Je garderai de vous le souvenir de grands travailleurs. Que Dieu nous protège et nous donne courage, santé et bonheur. La vie estudiantine n'est que le début, restons toujours unis.

A mes amis les plus chers :

Dr Twami MOHAMED, Himahou Oumar BABY, Baly tidiani YOUBA, Ibrahima FOFANA, Mohamed M'bareck CISSE, Mohamed DOURRA.

Comme on a l'habitude de le dire : « c'est dans les moments difficiles qu'on reconnaît les vrais amis ». Moi, je vous ai reconnu, car vous étiez toujours là pour me soutenir dans les moments durs. Sachez qu'en aucun instant, je n'ai regretté votre compagnie.

Merci pour votre affection et votre sincère fidélité. Que Dieu renforce davantage ce lien si sacré qui nous unit.

Au Pr. Souleymane DIALLO

La rigueur et la qualité scientifique de votre enseignement ; votre disponibilité constante ainsi que les qualités humaines qui vous caractérisent ont forcé notre admiration.

Merci pour vos conseils et votre soutien. Je formule des vœux sincères pour vos bonheurs respectifs.

Aux Pr. Samba Ousmane SOW

Merci pour votre contribution à ce travail.

Au personnel du CHU Gabriel TOURÉ et plus particulièrement au personnel du laboratoire. Merci pour votre collaboration, votre contribution et votre esprit d'équipe.

À tous les étudiants de la FMPOS

Merci pour mon séjour, je n'oublierai jamais les nombreux souvenirs des années.

Je remercie enfin tous ceux qui n'ont pas leurs noms cités ici et qui de près ou de loin, de façon passive ou active ont contribué à la réalisation de la présente thèse.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCTION..... | 1 |
| 1.1. OBJECTIF | |
| GÉNÉRAL..... | 2 |
| 1.2. OBJECTIFS | |
| SPÉCIFIQUES..... | 2 |
| 2. | |
| GÉNÉRALITÉS..... | 3 |
| 2.1. ASSUANCE | |
| QUALITÉS..... | 3 |
| 2.1.1. Règles de fonctionnement du laboratoire d'analyse biomédicale..... | 3 |
| 2.1.1.1. Organisation..... | 3 |
| 2.1.1.2. Locaux..... | 7 |
| 2.1.1.3. Équipements..... | 8 |
| 2.1.1.4. Petits matériels..... | 12 |
| 2.1.1.5. Réactifs et consommables..... | 12 |
| 2.1.1.6. Secrétariat..... | 12 |
| 2.1.1.7. Gestion des déchets biomédicaux..... | 13 |
| 2.1.2. Exécution des analyses..... | 15 |
| 2.1.2.1. Procédures et Modes Opératoires..... | 15 |
| 2.1.2.2. Échantillons..... | 17 |
| 2.1.2.3. Validation des résultats..... | 20 |
| 2.1.2.4. Expression des résultats et comptes rendus d'analyses..... | 21 |
| 2.1.2.5. Transmission des résultats..... | 22 |
| 2.1.3. Mise en place de l'Assurance Qualité..... | 23 |
| 2.1.3.1. Mise en place de la démarche qualité..... | 23 |
| 2.1.3.2. Responsabilités de la personne chargée de l'Assurance Qualité..... | 24 |
| 2.1.3.3. Évaluation externe de la qualité..... | 25 |
| 2.1.3.4. Évaluation interne de la qualité..... | 27 |
| 2.1.4. Documentation du Laboratoire..... | 27 |
| 2.1.4.1. Rapports d'activités du Service et publication..... | 27 |
| 2.1.4.2. Résultats nominatifs des analyses..... | 27 |

| | |
|--|----|
| 2.1.4.3. Registre de Laboratoire..... | 28 |
| 2.1.4.4. Normes et procédures..... | 28 |
| 2.1.4.5. Résultats des contrôles de qualités et corrections..... | 28 |
| 2.1.4.6. Documents relatifs aux appareils, aux réactifs, petits matériels et consommables..... | 28 |
| 2.1.4.7. Dossiers administratifs..... | 28 |
| 2.2. GÉNÉRALITÉS SUR LES INFECTIONS BACTÉRIENNES..... | 29 |
| 2.2.1. DÉFINITION..... | 29 |
| 2.2.2. MOYENS DE DÉFENCE DE L'ORGANISME..... | 29 |
| 2.2.2.1. Défenses non spécifiques..... | 29 |
| 2.2.2.2. Immunité Spécifique..... | 30 |
| 2.2.3. LA RÉACTION INFLAMMATOIRE..... | 30 |
| 2.2.4. LES PROTÉINES DE L'INFLAMMATION..... | 32 |
| 2.2.4.1. Les protéines de la phase aiguë de l'inflammation..... | 32 |
| 2.2.4.2. Critères de la protéine idéale de l'inflammation..... | 37 |
| 2.2.5. LA VITESSE DE SÉDIMENTATION..... | 38 |
| 2.2.6. LA PROTÉINE C RÉACTIVE..... | 40 |
| 2.2.6.1 Historique..... | 40 |
| 2.2.6.2. Structure de la Protéine C réactive..... | 41 |
| 2.2.6.3. Régulation de l'expression du gène de protéine C réactive..... | 49 |
| 2.2.6.4. Métabolisme..... | 52 |
| 3. MÉTHODOLOGIE..... | 57 |
| 3.1. Cadre d'étude..... | 57 |
| 3.1.1. Historique du CHU Gabriel TOURÉ..... | 57 |
| 3.1.2. Organisation..... | 57 |
| 3.1.3. Laboratoire..... | 57 |
| 3.2. Population d'étude..... | 59 |
| 3.3. Type d'étude..... | 59 |
| 3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion..... | 59 |
| 3.4.1. Critères d'inclusion..... | 59 |
| 3.4.2. Critères de non inclusion..... | 59 |
| 3.5. Aspects éthiques..... | 59 |
| 3.5.1 Confidentialité..... | 59 |

| | |
|--|----|
| 3.5.2. Risques liés à l'étude..... | 59 |
| 3.5.3. Respects des références bibliographiques..... | 60 |
| 3.6. Echantillonnage..... | 60 |
| 3.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage..... | 60 |
| 3.6.2. Taille de l'échantillon..... | 60 |
| 3.6.3. Variables étudiées..... | 60 |
| 3.6.4. Collecte des données..... | 60 |
| 3.6.5. Saisie et analyse des données..... | 60 |
| 3.7. Conditions de Sécurité au Laboratoire..... | 61 |
| 3.8. Optimisation des conditions Opératoires..... | 62 |
| 3.9. Méthodes de Laboratoire..... | 62 |
| 3.9.1. Le prélèvement sanguin..... | 63 |
| 3.9.2. Détermination de la CRP par le réactif CRP Latex..... | 65 |
| 3.10. Définition des termes..... | 71 |
| 3.11. Chronogramme des activités pour l'élaboration de la thèse..... | 74 |
| 4. RÉSULTATS..... | 75 |
| 4.1. Résultat d'évaluation du Laboratoire..... | 75 |
| 4.2. Nombre de test effectués au laboratoire..... | 81 |
| 4.3. Résultat des contrôles de qualité | 84 |
| 4.3.1. Contrôles de qualité internes..... | 84 |
| 4.3.2. Contrôles de qualité externes..... | 85 |
| 5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION..... | 86 |
| 5.1. Du point de vue de la méthode..... | 87 |
| 5.1.2. Avantages du test rapide..... | 87 |
| 5.1.3. Limite du test utilisé..... | 87 |
| 5.2. Du point de vu des résultats..... | 88 |
| 6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS..... | 90 |
| 7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 92 |
| 8. ANNEXES | 95 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 - La réaction inflammatoire schématisée..... | 32 |
| Figure 2 - Structure pentamérique de la protéine C réactive..... | 42 |
| Figure 3 - Comparaison d'une sous-unité de CRP et deSAP..... | 43 |
| Figure 4 - Cavités présentes sur chaque sous unité..... | 44 |
| Figure 5 - Représentation par deux sphères des deux ions calcium..... | 45 |
| Figure 6 - a : position des deux ions calcium (orange) et d'une molécule phosphocholine ; b : représentation illustrant le positionnement des 5 molécules de phosphocholine (orange et noir) sur la protéine C réactive..... | 47 |
| Figure 7 - Représentation GRASP du site de liaison à la phosphocholine montrant la poche hydrophobe libre..... | 48 |
| Figure 8 - Courbe dose-réponse montrant les effets de IL-6 et IL-1 sur l'activation du promoteur du gène de la CRP..... | 50 |
| Figure 9 - Coopération entre IL-6 et IL-1..... | 51 |
| Figure 10 - Répartition des patients selon le sexe..... | 82 |
| Figure 11 - Répartition des patients selon la tranche d'âge..... | 83 |
| Figure 12 - Répartition des patients selon le résultat obtenu..... | 84 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau I - Evolution des protéines de la phase aiguë au cour du processus inflammatoire..... | 36 |
| Tableau II - Valeurs standards de la VS chez l'être humain..... | 39 |
| Tableau III - Diagramme de Gantt..... | 74 |
| Tableau IV - Évaluation des conditions du bâtiment, fluides et généralités..... | 75 |
| Tableau V - Évaluation de la biosécurité et de l'hygiène du laboratoire..... | 76 |
| Tableau VI – Évaluation des prélèvements et de l'hygiène..... | 77 |
| Tableau VII - Quantité minimum des équipements présents dans le laboratoire de sérologie (GBEA MALI)..... | 78 |
| Tableau VIII - Évaluation des réactifs et approvisionnement..... | 79 |
| Tableau IX - Évaluation de la qualité totale..... | 80 |
| Tableau X - Récapitulatif de tous les paramètres étudiés avec les appréciations..... | 81 |
| Tableau XI - Nombre de contrôles de qualité internes effectués au laboratoire..... | 84 |
| TableauXII -Durée et température de conservation après analyse de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés..... | 104 |

Liste des abréviations et sigles

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

DPM : Direction de la Pharmacie et du Médicament.

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale.

EDTA : Acide Ethylène Diamino Tétracétique.

EPH : Etablissements Publics à caractère Hospitalier.

SOPs: Standard Operating Procedures.

Acides aminés : His (Histidine), Trp (Tryptophane), Asn (Asparagine), Phe (Phénylalanine), Leu (Leucine), Thr (Thréonine), Asp (Aspartate), Glu (Glutamate), Tyr (Tyrosine), Lys (Lysine), Ala (Alanine)

ARN, ARNm : acide ribonucléique, acide ribonucléique messager

AVC : accident vasculaire cérébral

C1q : protéine C1q du complément

CAT : chloramphénicol acétyltransférase

FcR : récepteurs reconnaissant la région Fc

IL-1, 2, 5, 6, 8,10 : Interleukine 1...

IL-1ra : IL-1 receptor antagonist

LCR : liquide céphalo-rachidien

MoCM : monocyte conditioned medium

CRP : Protéine C Réactive

PCT: procalcitonine

SAA: serum amyloid associated

SAP : composant amyloïde P

VS : vitesse de sédimentation

PLAN

1. INTRODUCTION
2. GÉNÉRALITÉS
 - 2.1. ASSURANCE QUALITÉ
 - 2.2. GÉNÉRALITÉ SUR LES INFECTIONS BACTÉRIENNES
 - 2.2.1. DÉFINITION
 - 2.2.2. MOYENS DE DÉFENCE DE L'ORGANISME
 - 2.2.3. LA RÉACTION INFLAMMATOIRE
 - 2.2.4. LES PROTÉINES DE L'INFLAMMATION
 - 2.2.5. LA VITESSE DE SÉDIMENTATION
 - 2.2.6. LA PROTÉINE C RÉACTIVE
3. MÉTHODOLOGIE
4. RÉSULTATS
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS
7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES
8. ANNEXES

1. INTRODUCTION.

Le laboratoire d'analyses médicales joue un rôle essentiel dans l'amélioration de la qualité des soins, le suivi des malades et la surveillance des maladies. Malheureusement, dans beaucoup de pays en voie de développement, il est vu comme un appendice accessoire du système de santé ; dans le secteur public, il est souvent considéré comme un simple consommateur de budget et donc négligé. Son rôle d'appui à la clinique est insuffisamment connu et exploité.

Au Mali, le Ministère de la Santé a entrepris depuis 1996 un vaste programme de développement sanitaire afin de donner aux populations, un niveau de santé qui leur permet de mener une vie socialement et économiquement productive. L'objectif principal de ce programme était de garantir la viabilité du système de santé et la qualité des prestations.

[1]

Conscient du rôle du laboratoire dans l'atteinte de cet objectif, le Ministère de la Santé a confié à la Direction de la Pharmacie et du Médicament (DPM) la mission d'«assurer la disponibilité et la qualité des analyses de biologie médicale par niveau de soins ».

L'acte de biologie médicale s'inscrit dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique. Le biologiste ou le responsable de laboratoire assure la responsabilité de cet acte qui inclut le prélèvement, l'exécution de l'analyse, la validation des résultats, et si nécessaire leur confrontation avec les données cliniques et biologiques des patients. Il participe par ses commentaires, le cas échéant, à l'interprétation des résultats de l'analyse de biologie médicale. Ces résultats concourent au diagnostic et à la prescription des soins. C'est pourquoi la recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle

et constante du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire.

La bonne exécution des analyses de biologie médicale est une des conditions déterminantes de cette qualité. [1]

Nous la voulons appliquée à la détermination de la Protéine C réactive(CRP).C'est pourquoi nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

1.1. OBJECTIF GÉNÉRAL

Contribuer à l'assurance qualité dans la détermination de la Protéine C réactive(CRP) au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

1.2. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES :

- Appliquer l'assurance qualité dans le domaine de la biologie médicale ;
- Décrire le laboratoire ;
- Effectuer la détermination de la Protéine C réactive(CRP) ;
- Commenter les résultats de 2011 à 2012 ;

2. GÉNÉRALITÉS :

2.1. ASSURANCE QUALITÉ :

2.1.1. Règles de fonctionnement du laboratoire d'analyse biomédicale :

2.1.1.1. Organisation :

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance de qualité fondé sur des procédures et des modes opératoires écrits concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution.

La qualité de l'analyse dépend de l'organisation générale du laboratoire, de la qualification et de la motivation du personnel ainsi que du respect des procédures opératoires lors des différentes étapes de l'exécution des examens : pré analytique, analytique et post analytique.

Un système d'assurance de qualité doit être permanent et doit conserver une trace des contrôles effectués et de l'efficacité des actions correctives. Sans cette traçabilité, il est difficile, et parfois impossible, de retrouver une erreur et/ou d'en analyser les causes pour en éviter la répétition.

L'assurance de qualité des différents services ou unités d'un établissement de santé doit avoir le même objectif. **[1]**

➤ Responsabilités de l'administration :

Pour assurer la fonctionnalité d'un laboratoire de biologie médicale et la qualité des analyses, l'administration doit en collaboration avec le biologiste ou le responsable du laboratoire réunir les préalables suivants :

- mettre à disposition, des locaux appropriés ;

- mettre à disposition, les équipements nécessaires (appareils, fournitures de bureau, outils informatiques...);
- recruter les ressources humaines qualifiées et compétentes ;
- mettre en place un système d'approvisionnement fonctionnel en réactifs, consommables et petits matériels ;
- planifier la formation continue du personnel et sa participation aux congrès, colloques, séminaires nationaux et internationaux ;
- mettre en place un mécanisme efficace de motivation du personnel ;
- créer un système d'information et de communication à l'interne et externe (téléphone, fax, Internet...);
- prendre les dispositions pour intégrer le laboratoire dans un réseau de contrôle de qualité.

L'ensemble du personnel de l'Etablissement Sanitaire doit être impliqué dans le système d'assurance de qualité qui est placé sous l'autorité et la responsabilité du directeur de l'établissement. [2]

➤ **Obligations des responsables du laboratoire :**

❖ **Concernant le personnel :**

- établir un organigramme du laboratoire ;
- s'assurer que le personnel est apte aux tâches qui lui sont confiées et assurer la formation nécessaire à cet effet ;
- s'assurer que chaque opération réalisée au laboratoire est confiée à une personne présentant la qualification, la formation et l'expérience appropriées ;
- mettre à la disposition du personnel les procédures et modes opératoires ;
- informer le personnel de la mise en place de toute nouvelle procédure et mode opératoire et de leur(s) modification(s) ultérieure(s) éventuelle(s). [3]

❖ **Concernant les procédures :**

- s'assurer que les procédures en vigueur, écrites, vérifiées, approuvées et datées, sont mises en œuvre par le personnel ;
- s'assurer que toute modification justifiée de procédure est écrite, approuvée, enregistrée, datée, communiquée et que le personnel est formé à l'application de cette modification ;
- s'assurer que toute modification de procédure susceptible de changer le libellé ou la remise des résultats entraîne l'information du prescripteur sur les comptes rendus d'analyses afin d'éviter des interprétations erronées ;
- conserver un fichier chronologique de toutes les procédures ;
- veiller à la réalisation, par un personnel qualifié et compétent, de l'exécution du programme d'assurance de qualité défini par le guide ;
- procéder, en cas de dysfonctionnement révélé par les contrôles de qualité, à toutes les opérations susceptibles de corriger les anomalies et s'assurer de l'enregistrement des mesures correctives entreprises et évaluer leurs résultats ;
- s'assurer de la gestion des archives.

❖ **Concernant les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits fongibles et les réactifs :**

- s'assurer que les installations, l'équipement et l'instrumentation du laboratoire sont fonctionnels ;
- s'assurer que les produits fongibles sont appropriés ;
- s'assurer que les réactifs sont disponibles, non périmés, conservés dans les conditions définies par le fabricant et conformes à la réglementation en vigueur ;

- s'assurer que les installations, l'équipement, les produits fongibles et les réactifs utilisés sont adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques ;
- s'assurer que les logiciels utilisés, soit pour le fonctionnement des appareils, soit pour l'aide à l'interprétation des résultats, sont protégés de toute intrusion non autorisée et adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques.

❖ **Concernant la sécurité du personnel :**

- s'assurer que les mesures concernant la santé, la sécurité des personnels et la protection de l'environnement, notamment l'interdiction de fumer et l'interdiction d'introduire, de conserver et de consommer des denrées alimentaires dans les locaux de prélèvements, de réception des prélèvements et d'analyses, sont appliquées conformément aux textes en vigueur et, le cas échéant, en coordination avec le médecin du travail et le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ;
- établir et mettre en œuvre les procédures applicables relatives à l'hygiène et à la sécurité du personnel, par exemple : utilisation de gants, de verres protecteurs, changement de blouses et utilisation de sur blouses, interdiction de porter à la bouche des pipettes lors de l'aspiration de liquides, non recapuchonnage des aiguilles après prélèvement, utilisation de hottes lors de la manipulation de produits dangereux et/ou contaminants, nettoyage des plans de travail et des appareillages avec respect des durées d'action des désinfectants et des décontaminants ;
- s'assurer du respect des mesures techniques de prévention pour les travailleurs en fonction de la toxicité des produits employés et de la classification des germes;

- s'assurer de l'élimination des déchets : manipuler, conserver et éliminer les déchets en prenant toutes les précautions nécessaires pour éviter les contaminations. [3]

➤ **Obligations du personnel de laboratoire :**

Le personnel doit se conformer à toutes les procédures et modes opératoires en vigueur dans le laboratoire. Le personnel a l'obligation d'appliquer les prescriptions du guide de bonne exécution des examens et doit tenir compte de ses recommandations.

➤ **Compte rendu d'analyse :**

Le biologiste ou le responsable du laboratoire doit, en accord avec les dispositions réglementaires :

- valider les résultats des examens biologiques après s'être assuré que leur exécution est conforme aux recommandations du guide ;
- signer les comptes rendus d'analyses ;
- s'assurer que leur transmission se fait dans les délais compatibles avec leur bonne utilisation clinique et dans des conditions de confidentialité préservant le secret professionnel. [1]

2.1.1.2. Locaux :

➤ **Aménagement, accessibilité et entretien :**

Les dimensions, la construction et la localisation du laboratoire doivent être conformes à des normes :

- un local de réception ;
- un bureau ;
- un secrétariat et archives ;
- deux salles de prélèvement ;
- des salles affectées aux activités techniques du laboratoire ;
- des toilettes.

Le bâtiment abritant le laboratoire doit être séparé de ceux des autres structures, et facile d'accès.

Les zones de stockage des matières premières et/ou des réactifs toxiques ou potentiellement dangereux ou contaminants doivent être séparées.

Le nettoyage du matériel et le tri des déchets doivent se faire dans des conditions de sécurité pour le personnel et pour la qualité des analyses.

[2]

➤ **Sécurité :**

Pour des raisons de sécurité des personnes, d'intégrité des processus et de confidentialité, l'accès des locaux est réservé aux utilisateurs autorisés. Les mouvements des visiteurs et intervenants extérieurs sont strictement limités.

Les locaux sont équipés de dispositifs de protection contre le feu, d'alarme et d'extinction suffisants et bien répartis. Ils peuvent être évacués rapidement.

Les risques chimiques, microbiologiques ou radioactifs sont confinés.

2.1.1.3. Équipements :

Un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer du matériel adéquat et doit s'équiper de tout le matériel nécessaire en fonction des analyses, y compris les analyses d'urgence qu'il déclare effectuer.

Le biologiste doit s'assurer du respect des modalités d'installation, de fonctionnement et d'entretien préconisées dans la notice du fabricant des matériels et des automates présents dans le laboratoire. **[1]**

➤ **Équipements de base :**

L'équipement de base recommandé pour un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale est le suivant :

- un microscope pourvu des accessoires indispensables à l'exécution des actes pratiqués par le laboratoire ;
- une centrifugeuse adaptée aux examens pratiqués avec ses accessoires et permettant d'obtenir au fond des tubes une accélération comprise entre 500 et 2500 g ;
- un spectrophotomètre disposant d'une gamme spectrale comprise entre 340 et 700 nm ; l'appareil doit comporter un dispositif de régulation thermique des cuves ;
- une balance permettant d'apprécier le milligramme ;
- une étuve à température réglable jusqu'à 120 °C ;
- un bain-marie à température réglable jusqu'à 70 °C ;
- un réfrigérateur à 2-8 °C ;
- un congélateur permettant d'obtenir une température égale ou inférieure à -18°C ;
- le petit matériel permettant de mesurer avec précision les volumes et la verrerie courante ;
- un autoclave ;
- un agitateur de Kline ;
- des bacs de coloration ;
- un générateur d'eau distillée ou désionisée.
- un dispositif de gestion des déchets biomédicaux ou la possibilité d'accès à ce dispositif.

Ce matériel doit être maintenu en permanence en bon état de fonctionnement. [3]

➤ **Équipements par spécialités :**

Le matériel ci-dessus cité doit être complété, dans certains cas, par un équipement spécifique :

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la biochimie :**

- un dispositif permettant le dosage du sodium et du potassium ;
- un dispositif d'électrophorèse permettant l'étude qualitative et quantitative des protéines et des lipoprotéines pour les laboratoires pratiquant ces analyses ;
- un dispositif permettant l'application des méthodes immunochimiques ;
- un dispositif permettant le dosage des gaz du sang et la détermination du pH sanguin pour les laboratoires pratiquant des analyses pour des établissements de santé si ces déterminations ne sont pas effectuées dans les établissements eux-mêmes.

Ces dispositifs peuvent être inclus dans des automates prévus à cet effet.

[1]

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la microbiologie (bactériologie et virologie, de la mycologie et de la parasitologie)**

- un dispositif permettant la centrifugation en nacelles étanches ;
- deux étuves à températures réglables, dont une à CO₂ ;
- un dispositif permettant de produire et d'entretenir une atmosphère appauvrie en oxygène et/ou enrichie en dioxyde de carbone dans une enceinte appropriée ;
- pour les laboratoires pratiquant l'identification et, le cas échéant, les antibiogrammes des agents infectieux (mycobactéries, *chlamydiae* et certains virus) une hotte de confinement doit être adaptée ;
- un congélateur à -80°C et un microscope inversé pour les laboratoires pratiquant les cultures virales ;
- un micromètre oculaire étalonné pour la parasitologie ;

- une lampe de Wood, des curettes...

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de l'hématologie clinique et biologique (cytologie sanguine et hémostase) :**

- un congélateur à -30 °C ou un congélateur à -20 °C selon les exigences des examens pratiqués;
- un dispositif permettant le comptage des éléments figurés dans le sang (y compris les cytomètres de flux, des pipettes de dilution appropriées et des cellules à numération) ;
- un dispositif permettant la coloration des lames ;
- un dispositif permettant la détermination de l'hématocrite ;
- un dispositif permettant la mesure de la vitesse de sédimentation des hématies;
- deux chronomètres permettant de mesurer des temps compris entre zéro et trente minutes avec une précision au moins égale à la seconde ;
- un dispositif permettant la mesure du temps de saignement ;
- un dispositif permettant les examens en hémostase ;
- un dispositif permettant l'électrophorèse des hémoglobines ;
- un hémoglobinomètre.

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de l'immuno-hématologie :**

- un jeu de plaques d'opaline ou de plastique translucide ou un système de plaques à usage unique ;
- un dispositif permettant de pratiquer la détermination des groupes sanguins dans le système ABO, les phénotypes Rh et Kell, et la recherche des agglutinines irrégulières, le cas échéant.

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la séro- immunologie :**

- un dispositif permettant l'application des méthodes immunochimiques au dosage des antigènes ;
- un agitateur de type Kline à mouvement circulaire (100 tours par minute), si la ou les techniques utilisées le nécessitent ;

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens in vitro utilisant des éléments radioactifs :**

- les locaux et le matériel doivent être conformes à la réglementation spécifique en vigueur. [1]

2.1.1.4. Petits matériels.

Le petit matériel indispensable au fonctionnement des appareils doit être conforme aux normes spécifiées par les constructeurs et doit être utilisé uniquement selon l'usage et les modalités prévues dans la notice.

[2]

2.1.1.5. Réactifs et consommables.

Les réactifs et les consommables doivent être certifiés conformes.

L'étiquetage des réactifs, milieux de culture, matériels de contrôle, étalons et consommables est conforme à la législation et aux normes en vigueur.

Un procès-verbal reprenant ces indications est tenu à jour pour chaque système analytique.

Les composants de plusieurs trousse ne sont pas permutables sans autorisation du fabricant. [3]

2.1.1.6. Secrétariat.

Le secrétariat doit être équipé à terme d'outils informatiques, de photocopieuse et de fournitures de bureau.

Le système informatique doit comprendre des dispositifs efficaces de protection contre toute tentative d'accès par des personnes non autorisées. Toute modification des informations ou des programmes ne peut être effectuée que par une personne autorisée et identifiée. La trace d'une modification d'un programme doit être conservée.

Le responsable du laboratoire ou de l'établissement dont il dépend doit passer une convention avec l'organisme chargé de la maintenance du système informatique. Cette convention doit préciser entre autres :

- que le personnel de cet organisme est soumis aux règles du secret professionnel ; que les moyens nécessaires sont mis en œuvre pour assurer la protection des données médicales confidentielles ;
- que chaque intervention effectuée sur place, ou à distance par télémaintenance, ne peut être réalisée qu'à la demande du biologiste, par du personnel autorisé et identifié, et fait l'objet d'un compte rendu détaillé, comportant l'identification de l'intervenant, signé, adressé au biologiste qui le consigne et l'annexe au registre de maintenance du système.

2.1.1.7. Gestion des déchets biomédicaux :

La gestion des déchets doit être conforme à la législation et à la réglementation.

La filière d'élimination des déchets doit être conduite de manière à ne pas compromettre la santé et la sécurité du personnel du laboratoire, ainsi que celles du personnel de collecte et à ne pas polluer l'environnement. La procédure se fait par collecte, tri puis destruction des déchets. Les laboratoires doivent disposer d'un incinérateur à cet effet, même à distance du site de l'établissement.

Les déchets liquides doivent être traités avant leur élimination. [1]

➤ **Élimination des déchets de prélèvements :**

Pour leur élimination, les matériels utilisés pour les prélèvements peuvent être classés en deux catégories :

- **les matériels piquants ou coupants** qui doivent obligatoirement être recueillis dans des récipients spéciaux (boîtes de collecte) ;
- **les autres matériels** qui constituent des déchets d'activités de soins à risques infectieux, doivent être collectés dans les sacs plastiques.

➤ **Élimination des déchets générés par l'exécution des analyses :**

Ces déchets sont séparés en deux groupes :

- déchets à risques ;
- autres déchets assimilables à des ordures ménagères.

❖ **Les déchets à risques sont séparés en trois groupes :**

- déchets potentiellement contaminés : déchets d'activité de soins à risques infectieux y compris les restes d'échantillons biologiques analysés, les déchets piquants ou coupants, les produits sanguins et les déchets anatomiques ;
- produits toxiques ou chimiques ;
- produits radioactifs.

Pour chaque groupe, une filière d'élimination doit être mise en place avec des modalités spécifiques de conditionnement, de stockage, de transport, de traitement et de prétraitement. Lorsqu'une société prestataire de services effectue l'élimination, un contrat doit être établi avec le laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale ou avec l'établissement dont il dépend. Chaque filière doit donner lieu à l'élaboration d'un bordereau de suivi. Celui-ci permet au laboratoire de justifier des quantités de déchets éliminés ainsi que des modalités de cette élimination.

❖ **Les déchets assimilables à des ordures ménagères :**

Sont à entreposer en conteneurs en vue de leur élimination par le circuit des ordures ménagères après accord de la collectivité locale. [1]

2.1.2. Exécution des analyses :

2.1.2.1. Procédures et Modes Opératoires :

➤ Généralités :

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer de procédures et de Modes Opératoires Normalisés (MON) ou « Standard Operating Procedures (SOPs)» écrits, datés et techniquement validés, afin d'assurer la qualité des résultats et la conformité au Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA).

Dans chaque zone d'activité spécifique du laboratoire, les procédures et modes opératoires relatifs aux opérations qui y sont réalisées doivent être immédiatement disponibles. Des livres, des articles, des manuels peuvent être utilisés comme complément sans s'y substituer. Ces procédures et modes opératoires ne doivent pas être figés dans le temps, mais être adaptés à l'évolution des connaissances et des données techniques. Toute modification d'une procédure doit être écrite. Elle doit être approuvée par le biologiste, directeur du laboratoire ou chef de service ou de département, le cas échéant, par le biologiste responsable de l'activité concernée, et éventuellement après avis de la personne chargée de l'assurance de qualité. Elle doit faire l'objet d'une information et d'une formation du personnel.

La réalisation des actes de biologie doit respecter les obligations techniques prévues par la nomenclature des actes de biologie médicale et par les textes en vigueur concernant les réactifs et les appareils de mesure.

La période d'utilisation au laboratoire de chaque lot de réactif doit être consignée, de sorte qu'en cas de besoin on puisse rapprocher un résultat avec les réactifs ayant permis de les obtenir.

Le mélange de plusieurs échantillons issus d'individus différents est interdit pour des analyses individuelles de biologie médicale : chaque échantillon biologique doit être traité séparément. [2]

➤ **Applications :**

Les procédures et modes opératoires disponibles concernent les points suivants :

- les instructions relatives à la préparation du patient et aux modalités du prélèvement ;
- le choix du récipient destiné à recevoir l'échantillon ;
- le mode de prélèvement ;
- l'identification du patient et de l'échantillon : nom patronymique, prénom, nom marital, sexe, date de naissance ;
- le transport éventuel des échantillons ;
- le traitement préalable de l'échantillon (centrifugation, répartition en fractions aliquotes...) ; les interférences des médicaments et/ou des aliments susceptibles de modifier les résultats de l'analyse ;
- la conservation avant et après analyse ;
- l'appareillage (utilisation, entretien, étalonnage, vérification) ;
- les conditions d'utilisation des réactifs en application de la réglementation en vigueur ; la réalisation de l'analyse avec une description de la méthode utilisée. Il est important que cette méthode soit adaptée aux connaissances théoriques et données techniques du moment.
- Dans la mesure du possible, elle suivra les recommandations des sociétés savantes de biologie nationales ou internationales :

- les règles de validation ;
- la transmission des analyses ;
- l'hygiène et la sécurité du laboratoire ;
- l'assurance de qualité ;
- la gestion des systèmes informatiques éventuels. [3]

2.1.2.2 Échantillons :

➤ Prélèvements des échantillons :

Le biologiste ou le responsable du laboratoire fournit aux médecins prescripteurs toutes les précisions utiles aux conditions de mise en œuvre des analyses médicales.

La fiche de demande d'examen accompagnant l'échantillon doit comporter tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses et à l'interprétation des résultats, en particulier pour certaines maladies comme les infections.

Le prélèvement peut être effectué par le médecin prescripteur, par le biologiste ou par du personnel qualifié et autorisé. Ces personnes doivent être formées aux procédures de prélèvement du laboratoire et informées des risques d'erreurs sur les résultats d'analyses consécutives à la réalisation défectueuse du prélèvement et à la nécessité de préciser au biologiste ou au responsable du laboratoire tout incident survenu au cours du prélèvement.

Le biologiste ou le responsable du laboratoire vérifie la conformité des échantillons biologiques acceptés dans son laboratoire. Il doit refuser tout échantillon prélevé ou transmis dans des conditions non conformes aux procédures techniques et réglementaires. Le motif de ce refus sera porté à la connaissance du médecin prescripteur. Lorsqu'il s'agit d'un prélèvement difficile ou unique, les critères d'acceptation doivent être appréciés avec circonspection ; le résultat doit faire mention de ces

éventuelles réserves si cela est nécessaire. Chaque fois que cela est possible, il est souhaitable que le prélèvement soit effectué au laboratoire.

Le prélèvement doit être réalisé en règle générale avec du matériel stérile à usage unique. Le récipient destiné à recevoir l'échantillon biologique doit être adapté à la nature de l'échantillon et à celle des analyses. En particulier, la nature du récipient, son système de fermeture, la nature et la quantité ou la concentration des substances adjuvantes qu'il peut contenir doivent être connus et précisés en fonction de l'échantillon auquel ils sont destinés. Le récipient doit être conçu pour éviter tout risque de contamination et de pollution. Le patient doit être informé et rassuré des conditions de prélèvements.

[2]

➤ **Identifications des échantillons :**

❖ **Tubes ou récipients primaires :**

L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci. L'étiquetage doit être conçu pour éviter toute erreur sur l'identité de la personne. Il doit mentionner, outre l'identité et la date de naissance, déclinées par le patient lui-même dans la mesure du possible, le nom de fille si une procédure le prévoit, le sexe, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur, la date et, chaque fois qu'une procédure le prévoit, l'heure du prélèvement et/ou sa localisation. Si la taille du tube ne permet pas l'apposition d'une étiquette comportant l'ensemble des renseignements précités ou si la confidentialité l'exige, le tube portera seulement le numéro d'identification joint à une fiche de renseignement. Le biologiste doit mettre en place une procédure permettant de lier l'échantillon biologique au patient, même si l'identité de celui-ci est

incomplète ou approximative, ou lorsque l'anonymat est souhaité. Cette procédure indiquera également la marche à suivre si l'échantillon biologique fourni par le préleveur ne possède aucune identification.

❖ **Tubes ou récipients secondaires :**

Lors de la préparation de fractions aliquotes, l'étiquetage des tubes ou récipients secondaires doit se faire selon les procédures rigoureuses permettant l'identification sans ambiguïté de chaque échantillon au sein du poste de travail ou du poste de stockage.

➤ **Transport et transmission des échantillons :**

Le transport des échantillons doit respecter des règles qui assurent l'intégrité de l'échantillon et la sécurité des personnels. Le transport des échantillons biologiques doit s'effectuer le plus rapidement possible au laboratoire en prenant toutes les précautions pour éviter les risques de contamination et de dégradation des constituants.

Si l'échantillon doit être transmis à un autre laboratoire, la fiche de demande d'examen ou sa copie ou, à défaut, une fiche de renseignements établie par le biologiste doit être associée. Les dates et les heures de réception des échantillons biologiques au laboratoire destinataire doivent être enregistrées.

➤ **Conservation des échantillons :**

Les conditions de conservation doivent être conformes aux règles de sécurité et d'hygiène en vigueur pour éviter toute contamination du personnel ou toute pollution.

Les échantillons de calibrage et de contrôle doivent être conservés avec soin dans les conditions précisées par le fabricant. Toutes les précautions doivent être prises pour éviter les phénomènes d'évaporation et de contamination.

Avant exécution des analyses, si celles-ci sont différées, les échantillons et leurs fractions aliquotes doivent être conservés dans des conditions qui préservent leur qualité. La congélation de fractions aliquotes obtenues après reconstitution d'échantillons lyophilisés (calibrateurs et contrôles) engage la responsabilité du biologiste. [2]

Après exécution des analyses, les échantillons peuvent être conservés pour permettre une comparaison ou une vérification ultérieure. Cette conservation est d'ailleurs obligatoire pour certains examens précisés en Annexe 3.

Les conditions d'identification, de fermeture des récipients et de température de conservation doivent être rigoureusement observées pour éviter tout risque d'erreur, de modification qualitative et/ou quantitative et de contamination. La durée de conservation pour chaque cas particulier doit, si elle n'est pas réglementée, être fixée par le biologiste ou le responsable du laboratoire et inscrite sur les procédures opératoires.

2.1.2.3. Validation des résultats :

La validation des résultats est double : elle comporte une validation analytique, qui peut être réalisée par le personnel d'exécution sous la responsabilité du biologiste, et une validation biologique, qui est de la compétence exclusive du biologiste ou le responsable du laboratoire.

➤ Validation analytique (responsabilité technique) :

La validation analytique des examens doit être soumise à des procédures précises écrites. Elle ne doit être effectuée qu'après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement des instruments et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne.

➤ **Validation biologique (par le Biologiste ou le responsable du laboratoire) :**

La validation biologique doit s'assurer de la compatibilité des résultats de l'ensemble des analyses réalisées pour le même patient à des temps différents, compte tenu, le cas échéant, des variations de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs. Le recours à un système d'aide à la validation ne décharge pas le biologiste de sa responsabilité en matière de validation biologique pour chaque compte rendu. [1]

2.1.2.4. Expression des résultats et comptes rendus d'analyses :

➤ **Expression des résultats :**

L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige.

Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent.

➤ **Comptes rendus d'analyse et signature :**

Les comptes rendus d'analyses doivent figurer sur un papier à en-tête du laboratoire comportant les mentions fixées réglementairement et être signés par le biologiste. Les comptes rendus ne peuvent être communiqués qu'après les opérations de validation. Toutefois, pour les patients hospitalisés et dans le cas des examens demandés en urgence, des résultats partiels peuvent être transmis dans des conditions définies par le biologiste et sous sa responsabilité, avant la validation biologique de l'ensemble des résultats demandés. Ils doivent être confirmés dès

que celle-ci aura été effectuée par un biologiste et le médecin traitant doit être informé de cette particularité. [2]

2.1.2.5. Transmission des résultats :

Elle doit se conformer à la législation et à la réglementation en vigueur et assurer le respect du secret professionnel.

Les résultats d'analyses sont remis comme suit :

- au patient en main propre ou envoyés sous pli cacheté, à son nom et à l'adresse qu'il communique ;
- au médecin prescripteur, sauf opposition du patient ;
- à une tierce personne dûment mandatée par le patient ;
- au médecin prescripteur, lorsque le patient est hospitalisé ;

Lorsque le patient est un mineur ou un majeur protégé par la loi, le biologiste ne peut donner les résultats qu'au représentant légal ou au médecin prescripteur. Lorsque le résultat d'un examen biologique met en jeu le pronostic vital, le biologiste doit tout mettre en œuvre pour joindre et avertir le médecin traitant ou l'équipe médicale dans les plus brefs délais. Un résultat laissant présager un pronostic grave ou fatal ne doit être révélé qu'avec la plus grande circonspection. Si les résultats ne peuvent pas être communiqués au médecin prescripteur (changement de médecin, analyses effectuées à l'initiative du biologiste ou ajoutées à la demande du patient), le biologiste doit demander au malade de lui désigner le médecin à qui il souhaiterait voir remettre les résultats.

- Les comptes rendus des analyses de cytogénétique ou de biologie destinées à établir un diagnostic prénatal ne peuvent être remis à la femme enceinte que par l'intermédiaire du médecin prescripteur.
- Les comptes rendus d'analyses effectués sur réquisition judiciaire ne peuvent être adressés qu'à l'autorité requérante dans des conditions garantissant la confidentialité.

- Le compte rendu d'analyses prescrites par le médecin du travail dans le cadre de sa mission (avis d'aptitude notamment) lui est directement communiqué par le laboratoire qui les a effectuées. Le médecin du travail informe le salarié des résultats.
- Un biologiste ne peut pas répondre à une demande de renseignements faite par une compagnie d'assurances concernant une analyse, même si cette demande émane du médecin de la compagnie. Les résultats d'analyses destinés à des compagnies d'assurances ne peuvent être remis qu'au patient en main propre, lequel reste libre d'en faire l'usage qu'il désire. [1]

2.1.3. Mise en place de l'Assurance Qualité :

2.1.3.1. Mise en place de la démarche qualité :

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance de qualité basé sur des procédures opératoires écrites concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution.

La qualité de l'analyse dépend de l'organisation générale du laboratoire, de la qualification et de la motivation du personnel et du respect des procédures opératoires lors des différentes étapes de l'exécution des examens : pré- analytique, analytique et post- analytique.

Toute l'équipe du laboratoire est concernée par ce système d'assurance qualité qui est placé sous l'autorité du biologiste ou du responsable du laboratoire.

Un système d'assurance de qualité doit être permanent et prévoir une trace des contrôles effectués.

Sans cette trace, il est difficile et parfois impossible de retrouver une erreur et/ou d'en analyser les causes pour en éviter la répétition. [1]

2.1.3.2. Responsabilités de la personne chargée de l'Assurance Qualité :

L'organisation du système d'assurance de qualité du laboratoire est confiée au biologiste, au responsable du laboratoire ou à toute autre personne qui devra avoir la formation, la compétence et l'expérience nécessaires pour accomplir cette tâche. Elle doit notamment s'assurer :

❖ Quant au personnel :

- que les procédures opératoires concernant l'hygiène et la sécurité des personnels sont mises en œuvre ;
- que chaque opération réalisée au laboratoire est confiée à un exécutant présentant la qualification, la formation et l'expérience appropriées ;
- que le personnel est sensibilisé à la notion d'assurance de qualité et formé à la mise en œuvre des pratiques « qualité ».

❖ Quant aux procédures et modes opératoires :

- de leur validation ;
- de leur mise en œuvre ;
- de l'information du personnel de toute modification de procédure ; cette modification approuvée par le biologiste ou le responsable du laboratoire doit être écrite, datée et communiquée au personnel ; celui-ci est formé à son application ;
- de leur conservation dans un fichier chronologique.

❖ Quant au contrôle de qualité :

- de la gestion du programme de contrôle de qualité externe et interne du laboratoire ;
- de la bonne utilisation des données fournies par le contrôle de qualité et de la correction des anomalies ;

- de l'information du biologiste ou du responsable du laboratoire, des constatations et des observations relatives au système d'assurance de qualité ;
- de l'application des mesures consécutives à un retrait éventuel de réactifs par la Direction de la Pharmacie et du Médicament ;
- de la maintenance, du bon fonctionnement des appareillages ;
- de la bonne tenue des documents qui concourent à la traçabilité, notamment ceux concernant les réactifs et la période d'utilisation de chaque lot ;
- d'un système d'assurance de qualité au moins équivalent auprès des laboratoires travaillant en collaboration avec le laboratoire et auxquels sont transmis des échantillons aux fins d'analyses ;
- de la mise en œuvre d'évaluations internes.

❖ **Quant au système de support des données :**

- de la mise en œuvre des procédures opératoires concernant la sécurité des données ;
- de la confidentialité et du respect des procédures d'accès ;
- du respect de la réglementation et de l'information des patients ;
- du respect des procédures de télécommunication et transmissions électroniques ;
- de la conservation des registres et fichiers des traces du système informatique.

2.1.3.3. Évaluation externe de la qualité :

➤ **Contrôle de qualité national :**

Il s'agit d'un auto- contrôle qui doit se dérouler dans un climat de confiance réciproque. Les résultats individuels produits lors de ce contrôle sont confidentiels et ne peuvent être communiqués aux autorités sanitaires que dans les conditions prévues par les textes.

La participation au programme national d'évaluation externe de la qualité est obligatoire. Une participation loyale est indispensable pour qu'elle soit utile. Cette participation doit être un reflet exact de la pratique. Une optimisation artificielle des résultats du contrôle est inutile pour le laboratoire et nuisible pour la collectivité.

Une participation rigoureuse, reflétant la pratique du laboratoire, est indispensable pour l'utilité de cette évaluation. Les résultats de celle-ci seront en effet très importants pour l'analyse globale qui sera effectuée au niveau national.

Les résultats individuels et globaux de l'évaluation externe de la qualité sont analysés collectivement par toute l'équipe du laboratoire afin de remédier aux erreurs qui pourraient être objectivées. L'étude critique des anomalies détectées par le contrôle de qualité peut induire la remise en cause de la méthode utilisée au laboratoire. Il peut aussi être utile d'engager un dialogue avec les responsables du contrôle de qualité pour éclaircir les raisons d'un résultat discordant inexpliqué. Une trace des décisions induites par les résultats de l'évaluation externe de la qualité doit être conservée en même temps que sont archivés les comptes rendus individuels du laboratoire pendant cinq ans.

La rigueur de cette démarche se justifie parce qu'elle aboutit à une bonne information des biologistes sur la qualité de leurs prestations. Ces informations permettent aux biologistes de corriger les anomalies mises en évidence. Lorsque les résultats du contrôle de qualité d'un laboratoire présentent des anomalies répétées ou importantes au regard de leur utilisation médicale, le cas de ce laboratoire est soumis anonymement à la commission chargée du contrôle de qualité qui se prononce sur le caractère de gravité de ces anomalies. Lorsque celles-ci sont jugées graves, le laboratoire est obligatoirement signalé au

département de tutelle par le directeur de la pharmacie et du médicament. [1]

➤ **Autres contrôles de qualité :**

Il est recommandé que le laboratoire participe à des contrôles de qualité externes organisés par des sociétés scientifiques, des groupements de biologistes ou tout autre organisme présentant les garanties nécessaires.

2.1.3.4. Évaluation interne de la qualité :

Le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste qualifié chargé de l'assurance de qualité.

Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notamment l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques.

2.1.4. Documentation du laboratoire :

2.1.4.1. Rapports d'activités du service et publications :

C'est le relevé chronologique des analyses exprimées en unités B (lettre clé des analyses) effectuées par le laboratoire ou transmises par ce laboratoire à un autre laboratoire. Ce relevé doit être conservé pendant une période de dix ans.

2.1.4.2. Résultats nominatifs des analyses :

Les résultats nominatifs des analyses (bulletin d'analyse) effectuées par le laboratoire doivent être conservés pendant une période d'au moins cinq ans.

2.1.4.3. Registres de laboratoire :

Les dossiers et livres de registre doivent être conservés pendant vingt ans.

2.1.4.4. Normes et procédures :

Il sera conservé un exemplaire des procédures et modes opératoires et de leurs modifications comportant la date de leur mise en œuvre, pendant la durée de leur utilisation et au moins trois ans après la fin de leur utilisation. [3]

2.1.4.5. Résultats des contrôles de qualité et corrections :

Les résultats des contrôles de qualité externes doivent être conservés pendant cinq ans. Le compte rendu des mesures prises pour corriger les anomalies observées à la suite du résultat du contrôle national de qualité, doit être conservé pendant cinq ans. Les résultats des contrôles de qualité internes sont à conserver trois années au moins.

Les documents relatifs aux instruments et à leur maintenance ainsi que ceux relatifs aux modifications des programmes informatiques sont à conserver pendant la durée d'utilisation de ce matériel et les trois ans suivants.

2.1.4.6. Documents relatifs aux appareils, aux réactifs, petits matériels et consommables :

Les documents relatifs aux appareils, réactifs, petits matériels et consommables sont à conserver pendant la durée de leur utilisation.

2.1.4.7. Dossiers administratifs :

Les actes administratifs concernant l'établissement qui abrite le laboratoire, ainsi que ceux du laboratoire lui-même, sont à conserver pendant toute la vie de l'établissement.

Les contrats relatifs à l'enlèvement des déchets sont à conserver pendant trois ans au moins ; et tous les autres contrats aussi longtemps que possible. [1]

2.2. GÉNÉRALITÉ SUR LES INFECTIONS BACTÉRIENNES :

2.2.1. DÉFINITION :

L'infectiologie est la branche de la médecine qui concerne les maladies infectieuses. Suivant le type de germe, on parle de : bactériologie, virologie, parasitologie et mycologie.

Les pathologies infectieuses se définissent comme étant un envahissement de l'organisme par des agents infectieux (bactéries, virus, champignons et parasites) responsables de maladies dont les manifestations cliniques varient d'un organisme à un autre. [4]

2.2.2. MOYENS DE DÉFENCE DE L'ORGANISME :

2.2.2.1. Défenses non spécifiques :

L'organisme a un certain nombre de défenses « naturelles » antimicrobienne, en particulier au niveau de la peau et des muqueuses (la sécrétion de lysozyme, l'acide gastrique, les enzymes intestinales, les sécrétions vaginales).

Cependant ces systèmes non spécifiques ne sont pas entièrement adéquats et des micro-organismes pathogènes peuvent les déborder dans certaines circonstances, par exemple lors d'un traumatisme ou d'une exposition massive à des agents pathogènes. La colonisation de tissus par des agents pathogènes est alors contre-carrée par la réponse immunitaire de l'organisme. L'immunité de l'hôte s'exprime par plusieurs mécanismes différents dépendants de lymphocytes spécifiques d'antigènes et de leurs produits.

Les polynucléaires et les macrophages jouent un rôle important dans la défense contre les micro-organismes en particulier les bactéries.

2.2.2.2. Immunité spécifique :

A la différence des mécanismes de défenses non spécifiques, il faut que les lymphocytes reconnaissent la nature spécifique des substances étrangères qui doivent être attaquées.

Les micro-organismes transportent des molécules étrangères à l'hôte.

Les lymphocytes T peuvent sécréter diverses cytokines qui attirent d'autres cellules inflammatoires et immunitaires et déclenchent ainsi les activités antibactériennes, macrophages en particulier.

Des anticorps peuvent neutraliser des toxines microbiennes et se lier à la surface du micro-organisme pouvant ainsi inhiber leur dissémination.

Le complexe d'attaque de la membrane formée par le complément peut détruire certaines bactéries en particulier les Gram positif. [5]

2.2.3. LA RÉACTION INFLAMMATOIRE :

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression ayant pour origine des éléments physiques : chaleur, froid, rayonnements ionisants... ou des éléments solides exogènes ou endogènes : pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques ou biologiques, composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...). Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. La réaction inflammatoire peut être aiguë, voire suraiguë ; se manifeste immédiatement après l'intrusion des micro-organismes et dure jusqu'à 48 h environ. Elle est la réponse typique du système immunitaire inné. Pour exemple, on observe des états infectieux sévères lors de pancréatites aiguës, de brûlures... La réaction inflammatoire peut aussi être chronique et ainsi durer des semaines, voire des années. La réponse inflammatoire peut être divisée en trois phases (figure 1) :

- Une phase **d'initiation** qui fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et qui met en jeu des effecteurs primaires.
- Une phase **d'amplification** avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires.
- Une phase de **résolution** et de **réparation** qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé.

Ces trois phases mettent en action différents systèmes et impliquent de nombreux médiateurs. La nature du développement de chacune de ces trois phases et la nature des effecteurs primaires et secondaires impliqués (cellules résidentes et recrutées ; médiateurs préformés et néoformés) conditionnent le profil d'expression clinique et biologique de la réponse inflammatoire (aiguë ou chronique, locale ou systémique, protectrice ou délétère).

La réaction inflammatoire est caractérisée par les 4 signes cardinaux de Celsius (1er siècle) : « Rubor et tumor cum calore et dolore » (rougeur et gonflement avec chaleur et douleur). Quelques siècles plus tard, Galien y ajouta un 5ème signe : « functio laesa » (perte de fonction). [6]

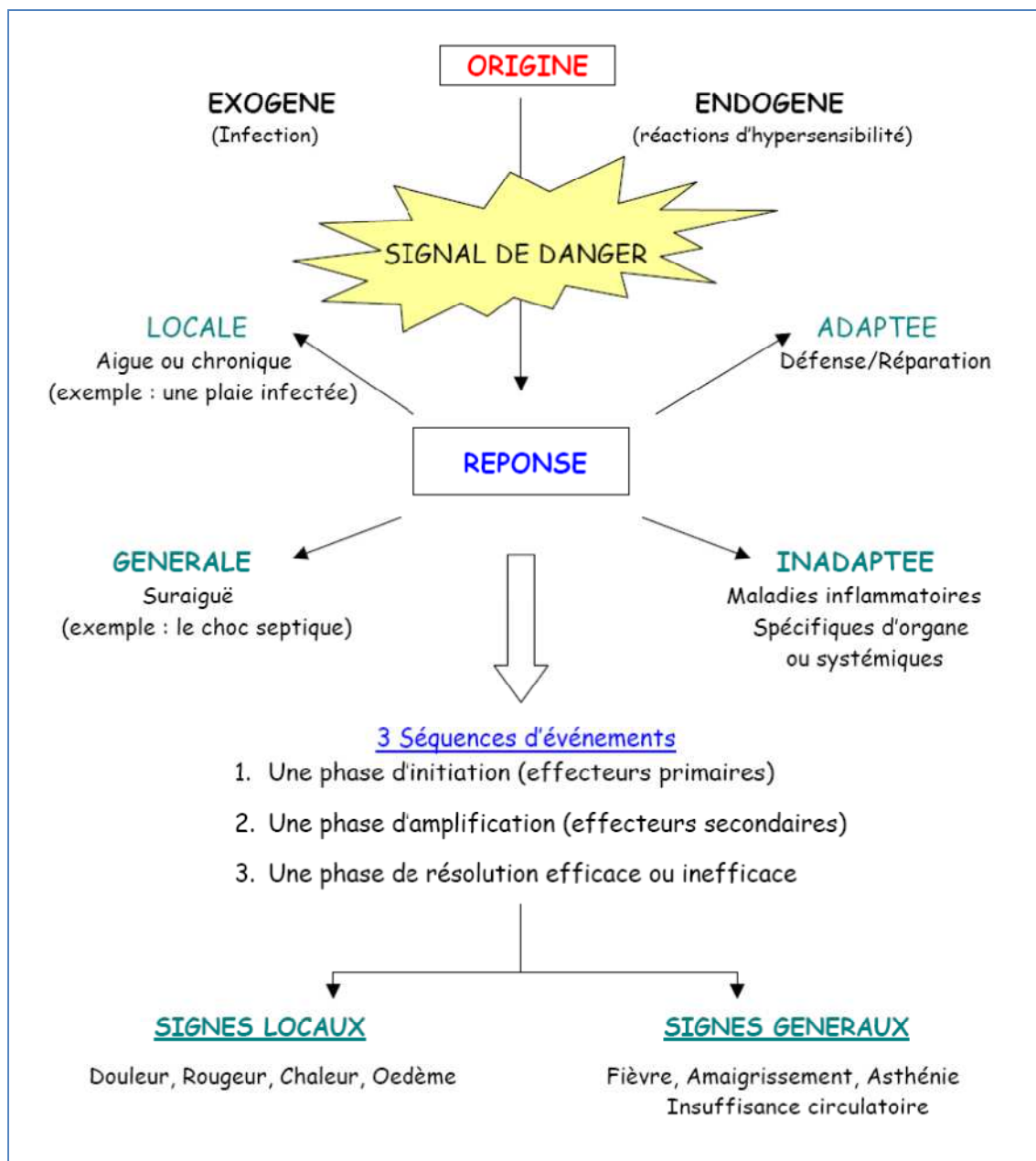


Figure 1 : La réaction inflammatoire schématisée. [7]

2.2.4. LES PROTÉINES DE L'INFLAMMATION :

2.2.4.1. Les protéines de la phase aiguë de l'inflammation :

La mesure de la vitesse de sédimentation (VS) est certes un examen peu coûteux et simple à réaliser, il n'est cependant ni spécifique ni sensible et varie très lentement dans le temps. Il est donc utile de procéder à un dosage d'une protéine de cinétique rapide et de grande amplitude de réponse. [8, 9,10]

❖ **Les protéines d'apparition précoce :**

• **La Protéine C réactive ou CRP :**

Après stimulation, on la décèle dès la 6ème heure dans le sang. Le taux sérique normal de la CRP est compris entre 5 et 10 mg/L. Elle est synthétisée par le foie. Il n'y a pas de variations nycthémérales.

La CRP n'augmente pas ou très peu au cours des infections virales. Son dosage est donc très intéressant pour distinguer les infections bactériennes des infections virales. Sa demi-vie est de 12 heures.

• **L'orosomucoïde :**

L'orosomucoïde ou α 1-glycoprotéine acide est le principal membre du groupe des séromucoïdes.

C'est une protéine très glycosylée, de masse moléculaire de 40 KDa. Elle est synthétisée par le foie mais aussi par des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes et des monocytes. La demi-vie sérique est de 48 h. Sa concentration de base chez le nouveau-né atteint 0,4 à 0,8 g/l au bout d'un mois et augmente avec l'âge jusqu'à 1,5 g/l. Elle est diminuée pendant la grossesse et en cas d'insuffisances rénales ou hépatiques. Son délai d'apparition dans le sang suite à un stimulus est de 12 h. Son taux suit un rythme circadien et culmine à midi.

❖ **Les protéines d'apparition plus tardive :**

• **L' α 1-antitrypsine :**

C'est une glycoprotéine de 54 KDa. Elle est synthétisée par le foie et les lymphocytes. Sa demi-vie sérique est de 4 jours. Son taux sérique normal est compris entre 2 et 4 g/l. La production de cette protéine est soumise à un rythme circadien.

- **L'haptoglobine :**

Elle est aussi appelée α_2 -globuline. Elle se complexe avec l'hémoglobine libre pour le recyclage du fer et est rapidement éliminée par le système des phagocytes mononucléés. Son taux sérique est compris entre 0,5 et 2 g/L et suit un rythme circadien avec un pic à 8 heures. On observe une élévation de son taux sérique 12 h après le début de l'inflammation pour atteindre son maximum 24 à 36 h plus tard. Sa demi-vie est de 3 à 6 jours. Le taux est inférieur à la normale lors d'une hémolyse, d'un traitement par Dapsone (hémolyse), d'une insuffisance hépatique sévère ou chez un nouveau-né. Il est supérieur à la normale lors d'une réaction inflammatoire chronique.

- ❖ **Les autres protéines de l'inflammation :**

- **Le fibrinogène :**

C'est une glycoprotéine de 341 KDa. Elle est synthétisée par les hépatocytes et les mégacaryocytes.

Le fibrinogène joue un rôle majeur dans la coagulation. Son taux plasmatique normal est compris entre 2 et 4 g/L et augmente avec l'âge et la grossesse. Ses variations suivent un rythme circadien avec un pic à 18 heures. On observe une augmentation du taux à la 24ème heure suite à une inflammation aiguë ; il atteint son maximum en 2 à 3 jours. C'est l'excès de fibrinogène qui est en grande partie responsable de l'augmentation de la VS.

- **La β_2 -microglobuline :**

Cette protéine de 11,8 KDa est libérée dans le sérum, est filtrée par les glomérules rénaux, réabsorbée et catabolisée dans les tubes contournés proximaux. Son taux sérique s'élève lorsque la filtration glomérulaire diminue ou lorsque sa production augmente pendant les infections virales par exemple.

- **La fraction C3 du complément :**

L'hypercomplémentémie est constante quand l'inflammation n'est pas d'origine immunologique.

Il existe deux voies d'activation, l'une initiée par le complexe Antigène-Anticorps et l'autre, initiée par des substances naturelles (paroi bactérienne, venin..). Elles aboutissent au carrefour de la fraction C3 dont le clivage aboutit à la voie terminale et à l'action biologique.

Une baisse de la fraction C3 est observée lors de l'activation du complément. Par exemple au cours d'endocardite, d'anémie hémolytique, de glomérulonéphrite ou d'insuffisance hépatocellulaire sévère. La fraction C3 augmente en cas de syndrome inflammatoire et de cirrhose biliaire primitive.

Le taux normal de la fraction C3 est de 0,15 à 2 g/L et ne varie pas avec l'âge.

- **Le composant amyloïde P :**

Le composant amyloïde P (SAP) est une glycoprotéine formée de dix peptides glycosylés organisés en deux disques pentamériques liés entre eux de façon non covalente.

Son taux sérique est de 33+/-10 mg/ml chez les sujets normaux et peut atteindre 100 mg/ml en cas de cancers ou d'inflammation.

- **La protéine SAA (serum amyloid associated) :**

C'est une apolipoprotéine de type HDL qui épure le cholestérol lors de la réaction inflammatoire.

Elle est synthétisée par le foie, les poumons, les reins, l'intestin. Son taux normal est de 2,5 mg/L et sa demi-vie est de 1 jour. On observe une élévation précoce du taux de SAA lors de réaction inflammatoire, celui-ci pouvant atteindre 50 à 1000 mg/L.

L'élévation du taux de la SAA est plus spécifique que celui de la CRP mais elle n'est malheureusement pas dosable en ville.

- **La procalcitonine :**

Cette protéine de 116 acides aminés pourrait également être un marqueur utile à doser lors des syndromes inflammatoires puisqu'elle n'augmente qu'au cours des infections bactériennes.

On retrouve une comparaison des différentes protéines lors du processus inflammatoire dans le tableau n°1.

Tableau I : Evolution des protéines de la phase aiguë au cours du processus inflammatoire

| Protéines | Délai après le début de la réponse inflammatoire | | | | |
|--------------|--|-----|-----|------|------|
| | 6H | 12H | 1J | 2-3J | 1sem |
| CRP | + | ++ | +++ | ++ | + |
| Orosomucoïde | | + | ++ | +++ | ++ |
| Haptoglobine | | + | + | +++ | + |
| Fibrinogène | | | + | ++ | + |

L'amplitude de variation est différente d'une protéine à l'autre :

- x1, 5 fraction C3, céruloplasmine
- x2-4 Orosomucoïde, alpha-1-antitrypsine, alpha-1-antichymotrypsine, fibrinogène, haptoglobine
- x1000 CRP, SAA
- Diminué : Albumine, Transferrine

- **Les cytokines :**

Il existe des trousse de dosages des cytokines de l'inflammation. En effet, l'utilisation d'anticoagulant lors du prélèvement peut entraîner la sécrétion de nouvelles cytokines in vitro et ainsi fausser le dosage.

2.2.4.2. Critères de la protéine idéale de l'inflammation :

Ses variations ne dépendent que du syndrome inflammatoire.

En effet, différents facteurs peuvent influencer la concentration sérique des protéines de la phase aiguë : par exemple, les estrogènes augmentent la concentration en α 1-antitrypsine mais diminuent la concentration en orosomucoïde. [11]

Elle est élevée quelque soit l'étiologie de l'inflammation.

Prenons le cas de la CRP : son taux est élevé lors d'une infection bactérienne mais pas dans les viroses. Dans ce cas, on préférera le dosage de l' α 1 antitrypsine qui est un meilleur marqueur d'infection d'origine virale.

Elle a une cinétique rapide.

La protéine idéale doit voir son taux s'élever très rapidement et revenir également rapidement à la normale grâce à sa demi-vie courte, permettant ainsi un meilleur suivi de l'évolution de la pathologie.

Elle s'élève fortement pour un syndrome inflammatoire modéré.

L'haptoglobine correspond bien à ce critère.

Sa détermination est simple et précise.

Evidemment, aucune protéine ne remplit tous ces critères. Il sera donc utile de doser des protéines de caractéristiques complémentaires :

- une protéine à demi-vie courte, de cinétique rapide et de grande amplitude de variations : la CRP constitue le modèle des marqueurs de la phase aiguë de l'inflammation.
- une protéine ayant une réponse plus lente et une demi-vie plus longue : l'haptoglobine et l'orosomucoïde sont de bons marqueurs de la phase chronique de l'inflammation.

La société française de biologie clinique a proposé le dosage couplé de la CRP avec celui de l'haptoglobine et/ou de l'orosomucoïde pour le diagnostic et le suivi des maladies inflammatoires.

2.2.5. LA VITESSE DE SÉDIMENTATION :

La vitesse de sédimentation ou VS reste un examen très utilisé. C'est un examen biologique simple pour détecter un syndrome inflammatoire mais dont il faut bien en connaître les limites. Des facteurs physiologiques ou des situations non inflammatoires peuvent l'augmenter. Sa normalité peut parfois rassurer à tort. [10]

De plus, il faut savoir que les cas d'une VS augmentée isolée ne sont pas rares (20%) !

En cas d'élévation de la VS, avant de conclure que cette élévation est due à un problème inflammatoire, il est indispensable de réaliser une électrophorèse des protéines sériques pour éliminer une dysglobulinémie mono ou polyclonale.

Mesure de la vitesse de sédimentation :

Cette analyse consiste à mesurer, en millimètres, la hauteur de la colonne de sédiments constitués par les éléments du sang et les protéines sériques, lorsque le sang est mis dans un étroit tube appelé tube de Westergren, dressé à la verticale.

Les protéines de l'inflammation sont responsables d'une modification de la viscosité plasmatique, qui conduit à l'empilement des hématies en "rouleaux " qui sédimentent plus vite que les hématies isolées. La première lecture de résultats se fait au bout d'une heure ; la deuxième au bout de deux heures et la troisième après vingt quatre heures. Bien que classiques, les mesures de la VS à la deuxième et vingt quatrième heure sont inutiles car elles n'apportent pas plus de renseignement

qu'une mesure à la première heure. Les valeurs standards de la VS sont données dans le tableau n°2.

Tableau II : Valeurs standards de la VS chez l'être humain

| | Homme | Femme |
|-------|-------|-------|
| Jeune | <15 | <20 |
| Agé | <20 | <25 |

La VS de la deuxième heure est considérée comme normale lorsqu'elle est inférieure à 20 mm.

Augmentation non pathologiques de la VS

- la mesure de la VS n'est pas pratiquée pendant la grossesse car à partir du 2ème trimestre, elle est régulièrement élevée et des valeurs de 40-50 mm sont habituelles.
- La prise de médicaments tels les estro-progestatifs, l'héparine... accélèrent la VS.
- Une erreur technique comme l'utilisation d'un tube non vertical ou non immobile, une température ambiante trop élevée, un prélèvement mal anti-coagulé peuvent fausser les résultats.
- Au-delà de 50 ans la VS croit avec l'âge, surtout chez les femmes ménopausées.
- Une anémie sévère entraîne une multiplication par 2 voire 3 de la VS.

Accélération pathologiques de la VS

Une accélération de la VS indique un état inflammatoire sans préjuger de sa nature ; elle peut être d'origine :

- infectieuse, qui est la cause la plus fréquente. Après guérison d'une infection grave, la VS peut rester accélérée pendant plusieurs mois mais elle doit diminuer régulièrement.

- Tumorale
- Métabolique (crise de goutte)
- Non spécifique : maladies auto-immunes, sarcoïdose

VS faussement basse

Ici, la VS reste basse alors qu'il y a un syndrome inflammatoire. On retrouve cette situation dans les cas suivants :

- une polyglobulie : par un phénomène électrostatique, les globules rouges se repoussent quand l'hématocrite croît, ce qui fait chuter la VS
- une hyperleucocytose
- un syndrome d'hyperviscosité
- des hémoglobinopathies
- un déficit de certaines protéines sériques : hypofibrinémie, hypohaptoglobulinémie...
- une prise de médicaments tels des anti-inflammatoires stéroïdiens (pas les antiinflammatoires non stéroïdiens)

En conclusion, la mesure de la vitesse de sédimentation est un examen non spécifique : si l'on rencontre des valeurs pathologiques, il faut approfondir en effectuant d'autres analyses et en étudiant la numération de la formule sanguine.

2.2.6. LA PROTÉINE C RÉACTIVE (CRP) :

2.2.6.1. Historique :

1930 : Découverte par William Tillet et Thomas Francis d'une protéine qui réagit avec le polysaccharide C du pneumocoque dans le sérum de patients présentant une inflammation aiguë. [12]

1941 : Oswald Avery et Maclyn McCarty nomment la protéine de la phase aiguë de l'inflammation, protéine C réactive. [13]

1950 : Irving Kroop met en évidence l'augmentation de la concentration de la protéine C réactive après une ischémie coronarienne ou suite à une nécrose d'une partie du myocarde. [14]

1979 : Oliveira décrit la structure primaire de la protéine.

1985 : John Volanakis et d'autres chercheurs identifient la structure pentamérique, l'importance de la présence du calcium pour la liaison de la protéine avec ses ligands, son site de production...

De nos jours : des études sont en cours pour mettre en rapport des variations du taux de protéine C réactive avec diverses pathologies : diabète, affections cardiovasculaires. [15]

2.2.6.2. Structure de la Protéine C Réactive :

La structure cristallographique de la protéine C réactive a été déterminée au rayon X avec une résolution de 3 angströms. [16]

Tout comme la SAP (serum amyloïde protein), une autre pentraxine de structure connue et ayant servi de modèle lors de la détermination de sa structure, la protéine C réactive est constituée de cinq sous-unités non covalentes, arrangées de manière symétrique autour d'un pore central (figure n°2).

Le diamètre du pentamère est de 102 angströms, le diamètre du pore central est de 30 angströms et celui d'une sous-unité est de 36 angströms.

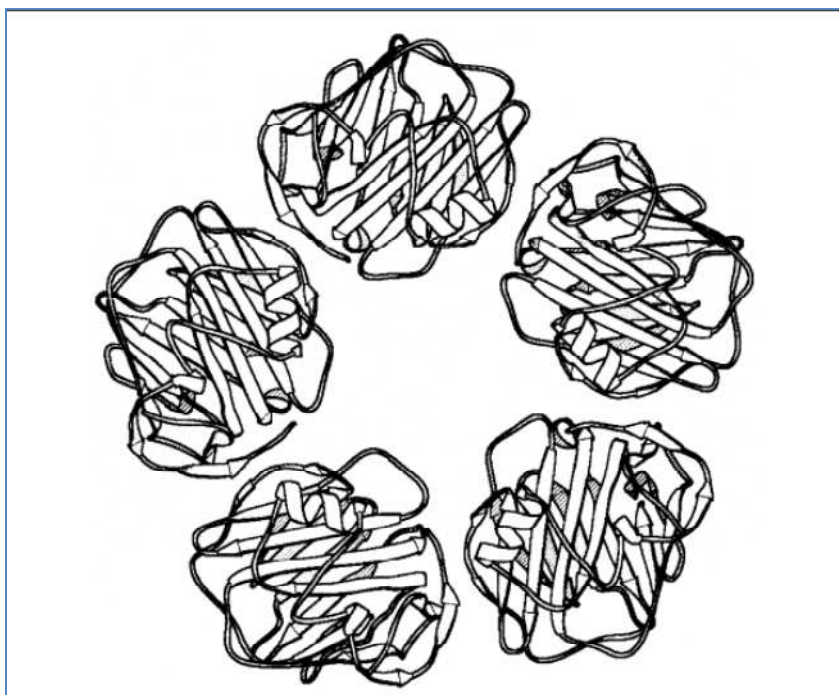


Figure 2 : Structure pentamérique de la protéine C réactive. [17]

Une sous unité est constituée de 206 acides aminés repliés en deux feuillets bêta antiparallèles. Cette structure est très similaire à celle de la SAP même si chacune garde des caractéristiques propres.

Après avoir effectué une rotation de 22° à une sous unité de la SAP afin de les avoir dans le même plan, Ribbon met en évidence les principales différences structurales de la SAP et de la CRP (figure n°3). Celles-ci se trouvent dans la longueur des feuillets bêta ainsi qu'au niveau de trois boucles (acides aminés 43-48, 68-72, 85-91).



Figure 3 : Comparaison d'une sous-unité de CRP et de SAP. [16]

En jaune : une sous-unité de SAP ; en vert : une sous-unité de CRP

En rouge : les 3 boucles de la CRP qui constituent les régions qui diffèrent le plus entre les deux protéines.

Dans la chaîne de la Protéine C réactive, on retrouve une longue hélice alpha allant des acides aminés 168 à 176 ; elle est coincée contre un des deux feuillets bêta.

L'extrémité carboxylique de l'hélice et la boucle allant de l'acide aminé 177 à 182 constituent l'un des deux cotés d'une inhabituelle cavité qui s'étend du centre de la sous unité jusqu'au pore central (figure n°4).

L'autre coté de la cavité est formé des extrémités amines et carboxyliques de la sous unité. Cette cavité est étroite et profonde à son origine puis elle devient de moins en moins profonde au fur et à mesure que l'on se rapproche du pore central du pentamère.

Les zones où se trouvent les deux acides aminés His (38 et 95) ainsi que celle où se trouve Trp205 ressortent du côté peu profond de la cavité alors que la partie de la chaîne contenant Asn160 et Asn158 est située plus au centre de la cavité.

Les sites de liaison du C1q et peut être celui du FcR sont associés à cette cavité.

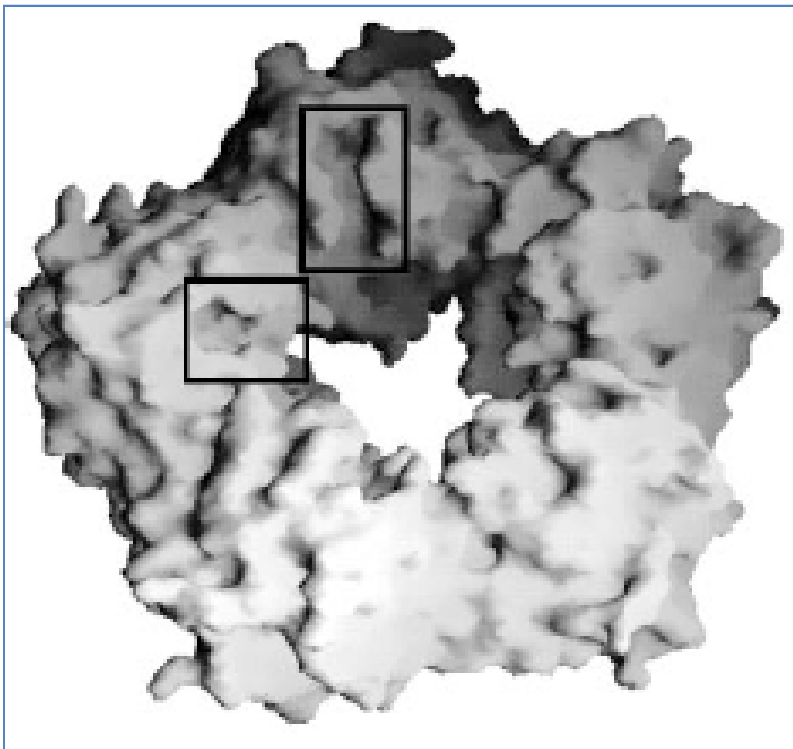


Figure 4 : Cavités présentes sur chaque sous unité. [16]

De l'autre côté des sous unités, deux ions calcium sont liés aux chaînes latérales et à la principale chaîne carbonyle de la chaîne polypeptidique à une distance de 4 angströms l'un de l'autre (figure n°5).

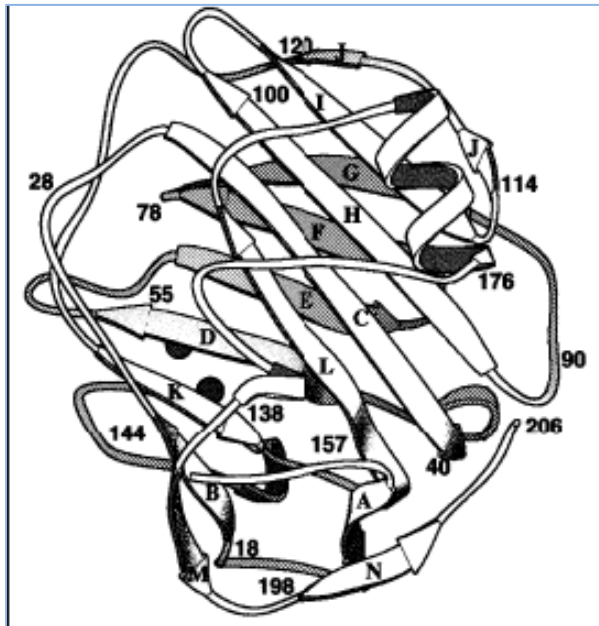


Figure 5 : Représentation par deux sphères des deux ions calcium. [17]

Les deux ions calcium sont nécessaires à la fixation d'un ligand.

Grâce à l'observation au microscope à électrons, on sait que lors de l'assemblage du pentamère, chaque sous unité a la même orientation.

Ainsi le pentamère a deux faces : une face dédiée à la reconnaissance utilisant les cinq sites de liaison à la phosphocholine et une face effectrice contenant le site de liaison au C1q et vraisemblablement celui du FcR.

Les interactions entre sous unités sont constituées de ponts salins et se situent principalement au niveau de la boucle allant du 115ème acide aminé au 123ème de la première sous unité et au niveau des 197 à 202ème de la sous unité voisine.

Chez la SAP, les interactions entre sous unités se font grâce à des liaisons de Van Der Waal et des ponts hydrogénés ; elles couvrent 1650 angstroms carré soit 20% de la surface totale de chaque sous unité.

Cette surface est quasiment la même chez la protéine C réactive.

Contrairement à la SAP où toutes les sous unités sont dans le même plan, les sous unités de la protéine C réactive sont inclinées de 15 à 20° par rapport à un axe quasiment parallèle à l'hélice alpha et allant jusqu'au centre de la sous unité. Il a été suggéré que la position de ces sous unités est stabilisée par des liaisons cristallines ce qui explique pourquoi elles peuvent tourner autour de leur axe, autorisant ainsi de nombreuses liaisons possibles au pentamère avec les cellules.

Site de liaison de la phosphocholine

La protéine C réactive se fixe aux résidus phosphocholine des bactéries et aux phospholipides des corps apoptotiques permettent ainsi l'activation de la voie classique du complément et la phagocytose. Elle agit comme une opsonine.

Par contre, la protéine C réactive ne se lie pas à la phosphorylcholine présente dans la structure phospholipidique des membranes des cellules humaines.

Le site de liaison à la phosphocholine est constitué de deux ions calcium liés à la chaîne polypeptidique qui constitue une sous unité et d'une poche hydrophobe voisine formée des acides aminés Phe66, Leu64 et Thr76.

Le 1er ion calcium est reconnu par les acides aminés Asp60, Asn61, Glu38, Asp140 et la chaîne principale carbonyle du Glu139.

Le second ion calcium est reconnu par Glu138, Asp140, Glu150 et Glu147 ; ce qui permet la fixation d'un ou deux ligands. Les deux sites ont une affinité identique pour les ions calcium.

L'analyse cristallographique du complexe protéine C réactive – phosphocholine a démontré que deux des atomes d'oxygène du groupement phosphate interagissent avec les deux ions calcium liés

alors que le groupement choline reste à l'intérieur de la poche hydrophobe (figure n°6).

On retrouve des liaisons hydrophobes entre Phe66 et les 3 groupements méthyle de la choline alors que la chaîne latérale du Glu81, qui est située de l'autre côté de la poche hydrophobe interagit avec les charges positives de l'ammonium quaternaire de la choline.

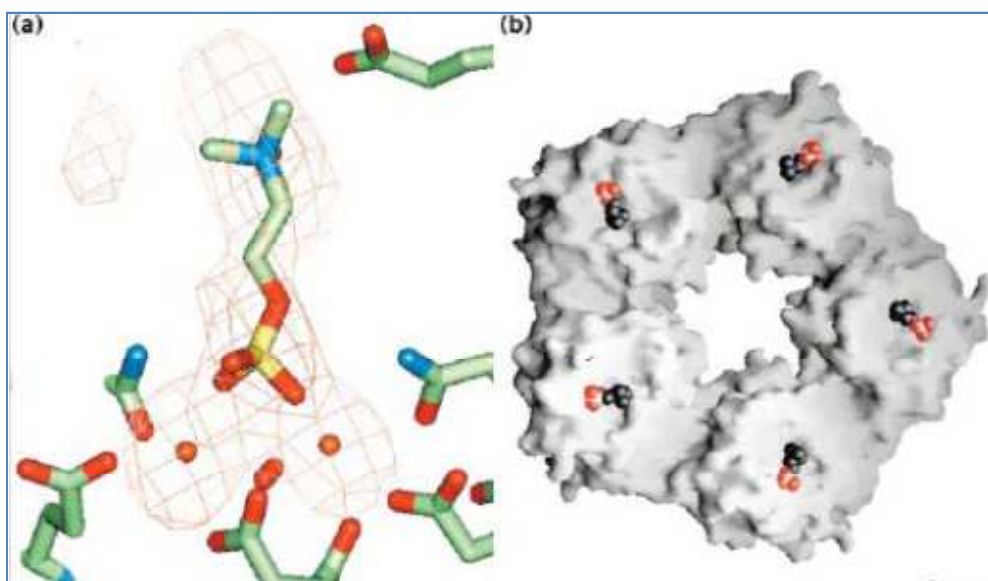


Figure 6 : a : position des deux ions calcium (orange) et d'une molécule de phosphocholine ;

b : représentation illustrant le positionnement des 5 molécules de phosphocholine (orange et noir) sur la protéine C réactive. [16]

Des études où des mutations de certains acides aminés ont été effectuées démontrent l'importance de la poche hydrophobe dans la liaison avec la phosphocholine (figure n°7).

Le remplacement de Thr176 par une Tyr entraîne une baisse importante de l'affinité des ligands pour la phosphocholine, ceci serait dû à la chaîne latérale de la Tyr qui encombrerait en partie la poche hydrophobe.

Le remplacement de la Trp67 par une Lys entraîne également une baisse de l'affinité très certainement parce que cette mutation change l'orientation de la Phe66 ; elle pourrait apparemment aussi entraîner la perte d'un des deux ions calcium.

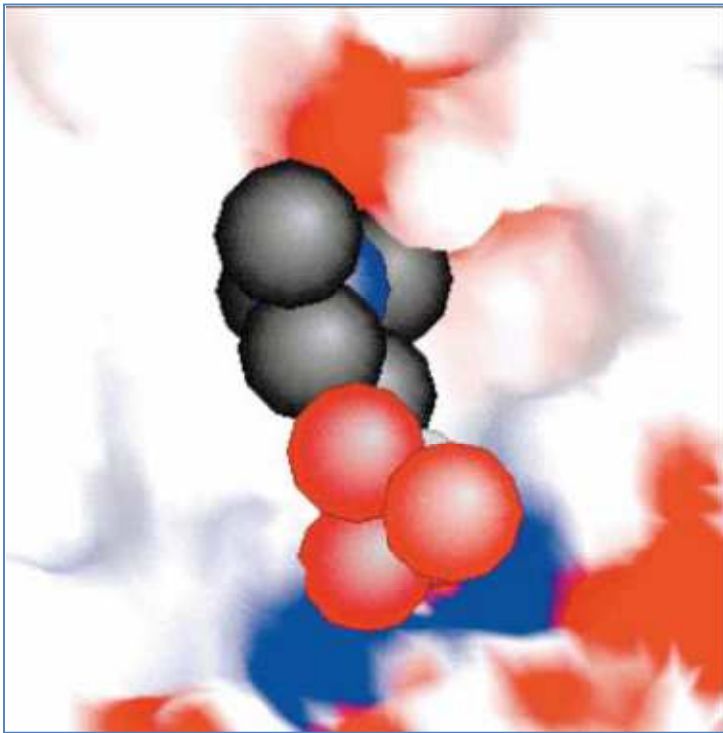


Figure 7 : Représentation GRASP du site de liaison à la phosphocholine montrant la poche hydrophobe libre. [16]

Site de liaison au C1q

La fixation de la CRP au composant C1q déclenche l'activation de la voie classique du complément.

La structure du site de liaison au C1q a elle aussi été identifiée suite à des expériences où l'on a procédé à des mutations dans la séquence polypeptidique.

Ce site se trouve du côté effecteur de chaque sous unité, au niveau de l'extrémité peu profonde de la cavité, dans une poche. Les limites de cette poche sont constituées, d'une part par les boucles allant de l'acide

aminé 86 à 92 et 112 à 114, et d'autre part, par l'extrémité C terminale de la chaîne de la sous unité ainsi que de Tyr 175. Les acides aminés Asp112 et Tyr175 permettent la liaison avec le C1q. Si on les remplace par Ala, on assiste alors à une baisse de l'affinité pour le C1q ainsi qu'à une diminution de la capacité à activer le complément. Le Glu88 semble influencer le changement de conformation du C1q nécessaire à l'activation du complément alors que Asn158 et His38 permettent certainement le maintien de la bonne configuration géométrique du site de liaison.

2.2.6.3. Régulation de l'expression du gène de la protéine C réactive :

Les deux principales caractéristiques de la CRP sont [17,18] :

- L'augmentation rapide de sa concentration dans le sérum pendant la phase d'inflammation. Celle-ci peut atteindre 1000 fois son taux basal.
- Un retour rapide au taux normal qui est très bas.

L'expression de la CRP est régulée principalement au niveau de la transcription, mais des mécanismes post-traductionnels entrent également en jeu. Le gène de la CRP est localisé sur le chromosome 1 humain entre 1q21 et 1q23 ; il comprend 2263 nucléotides et 1 intron. Le transcrit est caractérisé par la présence d'une longue région non traduite en 3', elle fait 1,2 kb.

Elle est peut être responsable de la dégradation rapide de la protéine suite à la restauration de la structure du tissu et de sa fonction.

La synthèse de la CRP se fait dans le foie. La régulation de la transcription de la CRP a été étudiée in vivo et in vitro. Les deux études démontrent que l'interleukine 6 (IL-6) est le principal inducteur du gène de la CRP, alors que l'interleukine 1 (IL-1), les glucocorticoïdes, et d'autres facteurs dont les produits de l'activation du complément

agissent en synergie avec IL-6 pour augmenter son effet (figure n°8).

[19]

L'IL-1 agit par divers mécanismes incluant certainement la modulation de la traduction de l'ARNm.

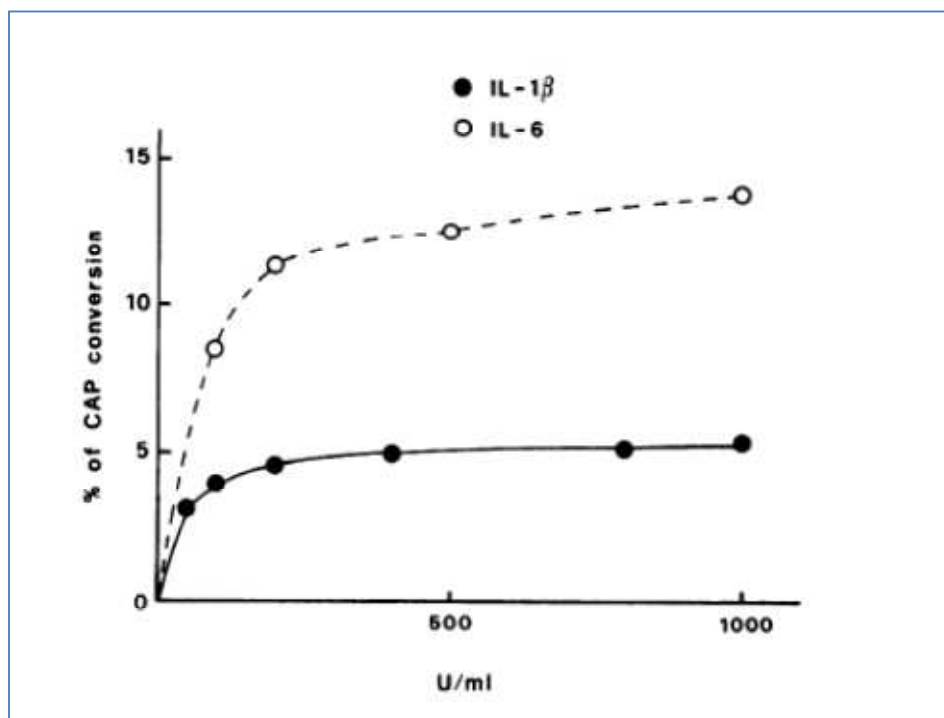


Figure 8 : Courbe dose-réponse montrant les effets de IL-6 et IL-1 sur l'activation du promoteur du gène de la CRP. [19]

De nos jours, cartographier les éléments indispensables au fonctionnement d'un promoteur eucaryote est une tâche relativement facile. Il existe des stratégies de mutagenèses rapides qui permettent de modifier les séquences des promoteurs et de les réintroduire ensuite dans des cellules en culture. Le paramètre mesuré dans ces expériences est souvent l'activité d'un gène rapporteur. Ce gène est couplé au promoteur étudié de manière à être transcrit comme l'ARN du gène d'intérêt. Les gènes rapporteurs codent le plus souvent pour une protéine dont la quantité est facilement mesurable. On utilise le gène

bactérien codant pour le chloramphénicol acétyltransferase : CAT qui acétyle un antibiotique : le chloramphénicol.

Mesurer l'activité de cette enzyme est plus simple et souvent plus sensible que de mesurer la quantité d'ARNm.

Des études ont démontré que le promoteur du gène de la CRP lié à la bactérie CAT n'est pas actif lorsqu'il est transféré dans des cellules humaines de la lignée Hep3B. Cependant, si on incube ces cellules pendant 24 à 48 h dans un milieu contenant en plus 10% de MoCM (monocyte conditioned medium), la transcription se fait correctement et on observe une importante activité de la CAT.

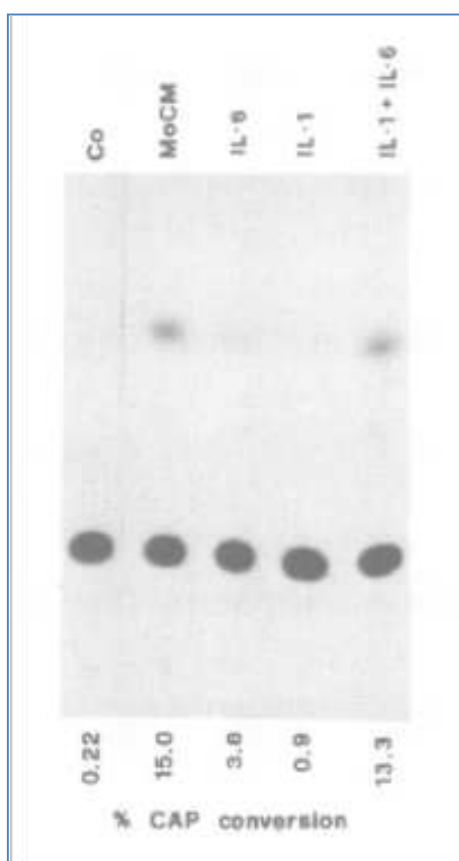


Figure 9 : Coopération entre IL-6 et IL-1. [19]

On remarque ici la coopération entre IL-6 et IL-1. On obtient un résultat pratiquement identique à IL-6 + IL-1, en utilisant MoCM (90% de MoCM).

Remarque : le « % CAP conversion » correspond au rapport de chloramphénicol acétylé sur le chloramphénicol total, et nous permet donc d'avoir une idée de l'importance de l'activation du promoteur.

L'action d'autres cytokines a été étudiée : ni le TNF (facteur tumoral nécrotique), ni l'interleukine2, ni l'interféron gamma seuls ou combinés avec IL-6 n'entraînent une augmentation de l'activité de la CAT.

L'activation du promoteur n'est pas non plus influencée par la forskoline ni par la caféine.

2.2.6.4. Métabolisme :

❖ Synthèse :

Le site de synthèse de la CRP a été étudié par Hurlimann. Lors de ses travaux, il a utilisé des tissus et organes provenant de lapins, de singes... Par hépatectomie ou par autoradiographie de coupes tissulaires avec incorporation d'acides aminés marqués au carbone 14, il a démontré que la CRP était produite par les hépatocytes.

Ce sont les bactéries qui induisent la production par les macrophages de l'IL-6 qui entraîne la synthèse des protéines de la phase aiguë de l'inflammation par les hépatocytes.

Après un stimulus, la synthèse démarre dans les hépatocytes périportaux. Puis la production s'étend successivement aux hépatocytes voisins jusqu'à la veine centrolobulaire.

L'évolution se fait concentriquement jusqu'au centre du lobule.

Grâce au microscope à électrons, on observe suite à un stimulus, une accumulation de la protéine C réactive dans les membranes et la lumière

de l'appareil de Golgi, du réticulum endoplasmique granuleux et du réticulum endoplasmique lisse. [20]

❖ **Diffusion :**

On a mis en évidence la CRP dans le sang, les liquides céphalorachidiens, synovial, amniotique, pleural... La CRP ne passe pas la barrière foeto-placentaire et ne se trouve pas dans le lait maternel. [21]

❖ **Demi-vie et catabolisme :**

La demi-vie de la CRP chez l'homme est courte : environ 12 heures. Son catabolisme n'est pas encore tout à fait connu. [22,23]

❖ **Variations physiologiques et pathologiques :**

La valeur normale de la protéine C réactive est inférieure à 5 mg/L. Néanmoins, des valeurs allant jusqu'à 10 mg/L sont acceptées et considérées comme non pathologiques.

La valeur peut être légèrement augmentée chez la femme enceinte ainsi que chez un gros fumeur.

L'obésité entraîne elle aussi une augmentation de la valeur ; en effet, les adipocytes produisent de grande quantité de CRP et d'IL-6.

Une prise de corticoïdes, d'anti-inflammatoires ou de statines entraîne une diminution de la CRP.

On observe une augmentation du taux de CRP lors de :

- D'état inflammatoire
- Pathologie bactérienne
- IR chronique (insuffisance rénale chronique) au stade de dialyse ou juste avant
- Maladie d'Alzheimer
- Cancer
- Asthme
- Arthrose

❖ Intérêt de la Protéine C Réactive :

De nombreuses études ont établi le lien entre une CRP élevée et diverses manifestations de l'athérosclérose. La CRP est augmentée dans l'angor chronique tout comme lors des syndromes coronariens aigus. Son taux est proportionnel à l'extension et à la sévérité des lésions [14,24]. Il a été démontré que chez les sujets appartenant au quantile supérieur de la distribution de la CRP, le risque relatif d'infarctus était multiplié par 3 et celui d'AVC par 2 par rapport au sujet appartenant au premier quantile.

Des études ont également démontré une corrélation entre un taux de CRP élevé et la présence de diabète. [25]

Enfin la protéine C réactive est plus augmentée lors d'inflammation d'origine bactérienne que lors d'infection d'origine virale. Le dosage de celle-ci permet au médecin, après validation ou non de son hypothèse initiale, de s'orienter quant au choix du traitement et des autres examens biologiques à effectuer. Il existe 3 problèmes ne permettant pas l'affirmation d'une infection bactérienne qui nécessite des investigations complémentaires :

- De nombreuses pathologies différentes d'une infection bactérienne entraînent une augmentation de la CRP.
- L'augmentation de la CRP ne se voit qu'après plusieurs heures après le début de l'infection : si la valeur est prise dans les 24 premières heures, la sensibilité ne sera pas très bonne.
- Certaines bactéries telles les mycobactéries n'entraînent que très rarement une élévation de la CRP. [26]

Les examens à effectuer pour affirmer le diagnostic bactérien et guider l'antibiothérapie sont :

- Des hémocultures

- Un examen bactériologique du LCR
- Un examen cyto bactériologique
- Le test du streptocoque A. [26]

Au final, le dosage de la CRP permet de raccourcir la prise en charge des patients et de suivre l'évolution d'un traitement par antibiothérapie. En effet, un traitement efficace permet la diminution par moitié du taux de CRP toutes les 24 h. Il permet également de réduire les coûts de prise en charge d'un patient et d'éviter toute antibiothérapie lourde et inutile chez le jeune enfant. [27]

2.2.6.5. Méthodes de dosages de la CRP :

Le choix d'une technique se fait en fonction de :

- la sensibilité,
- la spécificité,
- le matériel disponible,
- le coût,
- le nombre de test à effectuer (automatisation, au coup par coup)
- le temps
- la nature du prélèvement
- la recherche d'anticorps ou d'antigène
- le résultat : qualitatif, semi quantitatif, quantitatif

❖ Techniques basées sur l'immunoprécipitation:

Il s'agit de deux techniques d'immunoprécipitation en milieu liquide : La technique d'immunonephélométrie et celle d'immunoturbidimétrie. Ces deux techniques sont rapides et automatisées ; elles permettent un dosage quantitatif précis.

La mesure par turbidimétrie est basée sur l'absorption de la lumière par des complexes immuns en milieu liquide. Elle nécessite, à la sortie, un spectrophotomètre d'une grande sensibilité. Les deux principaux

problèmes rencontrés sont : l'excès d'antigène et les interférences (hémolyse, hyperlipémie).

La mesure par néphélométrie, quant à elle, est basée sur la propriété de déviation de la lumière d'un rayon laser par les complexes immuns en milieu liquide. Un rayon laser traverse le tube et la diffraction de la lumière est mesurée à la sortie. Plus il y a de complexes immuns plus le signal sera important sur le photomultiplicateur (appareil mesurant la diffraction). [29]

❖ **Le réactif CRP Latex :**

Le réactif latex est une suspension de particules de latex de polystyrène de dimension uniforme sensibilisée à la fraction IgG d'un sérum spécifique anti-CRP humain. Les particules de latex permettent une observation visuelle de la réaction antigène-anticorps (CRP-IgG anti-CRP). Si la réaction a lieu, due à la présence de protéine C-réactive dans le sérum, la suspension de latex change son apparence uniforme et une agglutination claire devient évidente. Cette modification a lieu car la protéine C-réactive présente dans le sérum réagit avec les IgG fixées sur les particules de latex, formant un tissu entre elles. Quand on mélange le réactif latex avec le sérum, si celui-ci contient plus de 6mg/l de protéine C-réactive, une agglutination nette apparaît.

3. MÉTHODOLOGIE :

3.1. Cadre d'étude :

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

3.1.1. Historique du CHU Gabriel TOURÉ.

Le CHU Gabriel TOURÉ est situé à Bamako capitale du MALI à cheval entre les communes II et III au centre commercial de la ville. Il est bâti sur une superficie de 3,1hectares.

En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURÉ» en hommage au sacrifice d'un jeune Soudanais stagiaire en 4^{ème} année de médecine de Dakar (SÉNÉGAL). Il était venu faire son stage de vacances au dispensaire central de Bamako. Cela a coïncidé avec une épidémie de peste au Soudan Français. Le jeune étudiant en médecine fut des actions sacerdotales pour sauver les victimes. Il contracta lui-même la peste lors de cette épidémie et mourut en 1934.

3.1.2. Organisation :

L'Hôpital Gabriel TOURÉ a été érigé en Etablissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. C'est l'un des onze (11) Etablissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU).

3.1.3. Laboratoire :

L'ancienne pharmacie de l'hôpital a été réaménagée en laboratoire de biologie médicale lui-même faisant partie du Département médico-technique.

Il comprend :

- deux grandes salles de travail pour l'hématologie et la biochimie,

- une salle de prélèvement et de parasitologie,
- une salle de stérilisation,
- une salle de garde avec toilette,
- un bureau de chef de service,
- trois salles aménagées récemment pour les activités de bactériologie et équipées en matériels de bactériologie (3 automates d'hémoculture BACTEC® 9050, 2 hôtes, des congélateurs des réfrigérateurs, des micro-ordinateurs avec une communication sur Internet).

Les activités sont regroupées par section, chaque section est dirigée par un interne :

- section de biochimie équipée d'un Spectrophotomètre,
- section d'immuno- hématologie équipée d'un Counter ABX micros 60 et d'un CELL-DYN 1700,
- section de parasitologie équipée de Microscopes,
- section de bactériologie pour la recherche,
- section pour les taux de CD4 équipée d'un BD FACS Count™, etc.

Le personnel comprend :

- un pharmacien biologiste,
- Trois internes en pharmacie et un interne en médecine,
- des techniciens de laboratoire repartis entre les différentes sections du laboratoire, un personnel de surface.

Les activités de recherche bactériologique sont supervisées par un professeur de bactériologie virologie. L'équipe technique de bactériologie est appuyée par une technicienne supérieure de l'Institut national de Recherche en Santé Publique (INRSP) et comprend en outre des pharmaciens biologistes, deux techniciens supérieurs et des internes en pharmacie et médecine.

3.2. Population d'étude :

Notre échantillonnage a été constitué à partir des prélèvements des patients référés au laboratoire pour la détermination de la protéine C réactive, qu'ils soient hospitalisés ou non.

3.3. Type d'étude :

Il s'agissait d'une étude transversale, rétrospective (2011 à 2012) et descriptive pour la détermination de la CRP chez les personnes malades hospitalisées ou non, référées au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ. Elle est analytique.

Elle est qualitative et quantitative.

3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion.

3.4.1. Critères d'inclusion.

Sont inclus dans notre étude tous les patients reçus au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ pour la détermination de la CRP, en interne (hospitalisés) ou en externe.

3.4.2. Critères de non inclusion.

-N'était pas inclus dans notre étude tout prélèvement non conforme.

3.5. Aspects éthiques.

3.5.1. Confidentialité.

Les noms des patients ne figurant pas dans l'étude, l'anonymat a été respecté.

3.5.2. Risques liés à l'étude.

Les malades ont été informés des risques qu'ils courent, tels que la douleur aux points de piqûre et les possibles infections du site de prélèvement.

3.5.3. Respect des références bibliographiques.

Les textes des références bibliographiques n'ont pas fait l'objet de modifications. La propriété intellectuelle des auteurs de nos références bibliographiques a été respectée.

3.6. Échantillonnage.

3.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage.

L'échantillonnage utilisé dans cette étude était exhaustif. Il concernait l'ensemble des prélèvements des patients référés au laboratoire pour la détermination de la CRP dans le cadre d'un bilan systématique pendant la période d'étude.

3.6.2. Taille de l'échantillon.

Durant la période d'étude allant du 6 mai 2011 au 18 février 2012, l'effectif des prélèvements testés au laboratoire a été de 1000 prélèvements qui ont constitué notre échantillon.

3.6.3. Variables étudiées.

Les variables sélectionnées pour atteindre les objectifs fixés sont : l'âge (Adultes, Enfants, Nourrisson et Nouveau-nés) et le sexe.

3.6.4. Collecte des données.

Les renseignements concernant la CRP ont été recueillis à partir des registres de données du laboratoire. Ceux concernant l'évaluation du laboratoire à partir du logiciel Microsoft Excel –Logi-Evaluat-labo.xls.

3.6.5. Saisie et analyse des données.

Les données ont été saisies, traitées et analysées sur Microsoft Office Excel 2007 pour Windows.

Word 2007 a été utilisé pour le traitement de texte.

Microsoft Excel –Logi-Evaluat-labo.xls a été utilisé pour évaluer le laboratoire.

Pour l'évaluation du laboratoire nous avons choisi une grille d'intervalle pour apprécier les paramètres étudiés :

<50% c'est insuffisant,

De 50 à 69% c'est passable,

De 70 à 79% c'est assez bon,

De 80 à 100% c'est bon.

3.7. Conditions de sécurité au laboratoire.

- port de gant et blouse,
- lavage des mains après élimination des gants,
- eau de javel pour effluents (sérum – lavage),
- pas de contact des substrats avec la peau,
- nettoyage des paillasses à l'eau de javel puis à alcool à 70°,
- utilisation de 2 sortes de poubelles :
 - une pour cartons d'emballage, papiers...
 - une pour déchets contaminés pour incinération,
- élimination des pipettes après une nuit en eau de javel (containers spéciaux),
- lavage des mains avant de quitter le labo,
- toute plaie doit être protégée (pansement),
- blessures avec sang :
- nettoyage à l'eau de javel et au savon,
- rinçage,
- désinfection avec l'alcool à 70° pendant 3 minutes ou eau de Javel diluée au 1/10,
- projection dans les yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique),

- déclaration des accidents de travail sur le registre et suivi sérologique (faire une sérologie dès l'accident puis contrôler à 3 semaines et à 3 mois),
- la mise à la disposition de médicaments anti- rétroviraux pour le personnel de l'hôpital en cas de risque important doit être réfléchi en fonction des disponibilités.

3.8. Optimisation des conditions opératoires.

- Avant l'utilisation du kit :
 - laisser équilibrer les réactifs d'un kit pendant 30 minutes à la température ambiante (se conformer aux recommandations du fabricant),
 - vérifier que le kit n'a pas atteint la date de péremption,
 - ne jamais mélanger les réactifs de lots différents.
- Pendant l'utilisation du kit :
 - respecter les dilutions,
 - vérifier le volume de « dispense » et l'utilisation correcte des micropipettes. (Vérifier le calibrage de ces pipettes),
 - s'assurer que la verrerie a bien été rincée à l'eau distillée avant utilisation puis séchée.

3.9. Méthodes de laboratoire.

Procédure de la détermination de la protéine C réactive (CRP)

Phase pré analytique :

- Identification du patient
- Vérification de la demande d'examen
- Enregistrement du patient (nom et prénoms, âge, sexe, résidence, profession, ethnie, autres renseignements si besoin)
- Choix des matériels de prélèvement
- Identification des matériels de prélèvement

- Prélèvement proprement dit
- Traitement (centrifugation...), Transport et conservation des échantillons

Phase analytique :

- Choix des tests, contrôles de qualités
- Exploitation des modes opératoires

Phase post analytique :

- vérification des résultats des contrôles et du patient
- Validation technique /analytique des résultats par le technicien
- Validation biologique des résultats par le biologiste
- Exploitation des résultats, enregistrement
- Conservation des prélèvements
- Rendu des résultats aux prescripteurs/clients
- Archivage des résultats
- Gestion des déchets biomédicaux

3.9.1. Le prélèvement sanguin.

Principes- Indications

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes à suivre pour réaliser les prélèvements sanguins. Il s'applique à l'ensemble des prélèvements sanguins réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

Prélèvements

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

Matériel et Réactifs

- Corps et aiguille de système de prélèvement sous vide.
- tubes de prélèvement sous vide.
- Seringues à usage unique avec aiguille : 5, 10 et 20 ml.
- Tubes pour prélèvement traditionnel : conditionnements standards (5 ou 7ml) et pédiatriques (2ml).
- Garrot.
- Coton hydrophile.
- Alcool à 70° ou Alcool iodé, Polyvidone Iodée (Bétadine® solution)...
- Pansements.
- Boîte récupératrice d'aiguilles, poubelle pour déchets contaminés et poubelle pour déchets non contaminés.

NB : avant d'appeler le patient, il est nécessaire de vérifier la présence de tout le matériel indispensable au prélèvement.

Mode opératoire

Déroulement du prélèvement sanguin.

Le préleveur, muni du bulletin de demande d'analyse s'assure de l'identité du patient (nom, prénom et date de naissance).

Il s'assure de la conformité des conditions de prélèvement :

- État de jeun.
- Dernière prise de médicaments.
- Autres conditions si nécessaires.

Il s'enquiert de l'existence d'une éventuelle thérapeutique et sollicite, si nécessaire, des informations cliniques complémentaires et note ces informations sur le bulletin de demande d'analyse.

Il sélectionne les tubes à prélèvements (nature, contenance et nombre) en fonction des analyses prescrites (Cf. Instructions « Choix des tubes »).

Il identifie les tubes en inscrivant le nom, le prénom, le numéro d'identification et la date.

- Antisepsie de la peau à l'aide d'un coton imprégné de solution antiseptique.
- Pose du garrot et recherche de la veine, à prélever rapidement.
- Utilisation d'aiguille stérile à usage unique obligatoire. Utiliser les tubes à prélèvement en fonction des analyses prescrites (Cf. Instructions « Choix des tubes »).
- Desserrer le garrot avant de retirer l'aiguille.
- Retirer l'aiguille tout en comprimant la veine avec un coton sec.
- Le patient assure la compression (et non pas la friction) pendant 2 à 3 minutes.

NB : En cas de prélèvement sur différents types de tubes, l'ordre de prélèvement suivant doit être respecté (le code couleur correspond aux anticoagulants décrits dans le document Instructions

« Choix des tubes »

ROUGE → BLEU → VERT → VIOLET et/ou NOIR → GRIS

Élimination de l'aiguille :

Les aiguilles doivent être obligatoirement éliminées dans le récipient prévu à cet effet (boîte de sécurité), immédiatement après le prélèvement et au vu du patient. Le recapuchonnage est interdit.

3.9.2. Détermination de la CRP par le réactif CRP Latex :

Objectif :

Diagnostiquer un processus inflammation.

Choix du réactif :

Le réactif CRP Latex est un test rapide pour la détection qualitative et semi-quantitative de la protéine C réactive. Ce test est conçu pour

donner un résultat dans un délai court (environ 15 minutes) après l'analyse de 50µL de sérum, de plasma ou d'urine.

Le choix du test à utiliser repose sur deux critères :

- 1- la sensibilité du test utilisé
- 2- La spécificité du test utilisé

La sensibilité et la spécificité sont deux éléments de première importance qui permettent de déterminer l'exactitude avec laquelle un test peut faire la distinction entre un patient positif et patient négatif. Un test dont la sensibilité est élevée donne peu de résultats faussement négatifs. Aussi, seuls les tests ayant la sensibilité la plus élevée possible seront utilisés lorsqu'il est nécessaire de réduire au minimum le taux de résultats faussement négatifs.

Composition:

- Réactif latex : suspension de particules de latex sensibilisées avec des IgG de chèvre anti-CRP humain dans un tampon, azide de sodium 0,95g/l.
Réf. 20301: 1x2, 5ml- Réf. 20302: 1x5ml
- Contrôle positif : Sérum humain immunisé, azide de sodium 0,95g/l
Réf. 20301 : 1x1ml- Réf. 20302 : 1x1ml
- Contrôle négatif : Sérum animal, azide de sodium 0,95g/l
Réf. 20301 : 1x1ml- Réf. 20302 : 1x1ml
- Lames
Réf. 20301 : 8x6 unités- Réf. 20302 : 16x6 unités
- Cure-dents plastiques
Réf. 20301:25 unités- Réf. 20302: 2x25 unités

Précautions:

- Le test est réservé uniquement à un diagnostic *in vitro*.

- Se protéger avec des gants et une blouse de laboratoire.
- Suivre les consignes de sécurité de travail en laboratoire pour la manipulation d'urine, de sérum, ou plasma humains.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Tout échantillon testé et tout autre matériel utilisé doit être traité et éliminé en tant que déchet à risque biologique.
- Ne pas utiliser les tests au-delà de leur date de péremption.
- Le contrôle positif contient de l'azide de sodium comme conservateur. Les azides peuvent réagir avec des canalisations métalliques et former des composants explosifs. Après élimination, rincer abondamment avec de l'eau.

Conservation:

Les réactifs restent stables jusqu'à la date limite indiquée sur le coffret, lorsque ceux-ci sont conservés à une température d'entre 2 et 8°C. Ne pas congeler. Toute exposition de l'antigène à des températures supérieures à 30°C doit être évitée. En effet, l'exposition à de haute température peut donner lieu à un aspect plus rugueux de l'antigène lorsque des sérums négatifs sont testés.

Matériels requis mais non fourni:

- Agitateur rotatif
- Chronomètre
- Solution saline 9g/l

Prélèvement des échantillons:

Utiliser du sérum frais. Si le test ne peut être réalisé le jour même, le sérum peut être conservé pendant 7 jours à une température d'entre 2 et 8°C. Pour de plus longues périodes de conservation, le sérum devra être congelé (-20°C).

Mode opératoire:

- **Contrôle de qualité :**

Avant de réaliser une série de déterminations, tester le réactif latex avec chaque contrôle, inclus dans le coffret. Les deux contrôles seront utilisés selon les étapes décrites dans le Test qualitatif. La réaction entre le contrôle positif et le réactif doit donner une agglutination nette différente de l'apparence uniforme du contrôle négatif. Si ces résultats ne sont pas obtenus, ne pas utiliser le kit.

Pour assurer une bonne distribution du réactif, tenir le compte-gouttes de réactif en position verticale et verser une seule goutte.

Test qualitatif:

- Attendre que les réactifs atteignent la température ambiante (23-29°C).
- Déposer, avec une pipette automatique, 50µl de l'échantillon sur un des cercles de la lame et une goutte de chaque contrôle sur deux autres cercles.
- Agiter légèrement le réactif latex pour le remettre en suspension. Déposer alors une goutte de réactif dans chacun des cercles (échantillon+contrôles).
- A l'aide d'un cure-dent, mélanger les réactifs en étalant sur toute la surface du cercle (utiliser un cure-dent différent pour chaque échantillon).
- Agiter la lame pendant deux minutes manuellement ou à l'aide d'un agitateur rotatif à 80-100 rpm.
- Vérifier la présence ou l'absence d'une agglutination.

Interprétation des résultats :

La présence d'agglutination indique la présence de protéine C réactive dans le sérum à une concentration supérieure ou égale à 6mg/l.

- **Réaction positive :**

- Grands agrégats sur fond transparent.
- Agrégats modérés sur fond légèrement opaque.
- Agrégats fins sur fond opaque.

- **Réaction négative :**

Absence d'agrégats. Suspension uniforme.

Test semi-quantitatif :

- Déposer 50µl de solution saline 9g/l sur chacun des cercles 2 à 6 de la lame.
- Avec une pipette automatique, déposer 50µl d'échantillon sur le cercle 1 et 50µl directement sur la goutte de solution saline du cercle 2.
- À l'aide de la même pipette, aspirer et expulser à plusieurs reprises le mélange obtenu dans le cercle 2, jusqu'à obtention d'un mélange homogène.
- Prélever 50µl du mélange obtenu dans le cercle 2 et les transférer dans le cercle 3.
- Procéder aux mêmes opérations que celles précédemment décrites en vue d'obtenir le mélange correct des réactifs jusqu'au cercle 6, puis en jeter 50µl.
- Déposer le réactif latex sur chaque dilution tel que décrit dans la section Test qualitatif.

Interprétation des résultats :

Le titre de l'échantillon correspond à celui de la dilution la plus élevée présentant un résultat encore nettement positif (principe de calcul : 6x titre de la dilution=mg/l).

Limite:

La lecture des résultats ne doit pas être faite après 2 minutes. La lecture obtenue après cette période peut être incorrecte. L'intensité de l'agglutination n'est pas nécessairement indicative de la concentration de protéine C réactive. Si la concentration de protéine C réactive est supérieure à 200mg/l de plus faibles réactions peuvent être obtenues en raison de l'excès d'anticorps. Si l'on s'attend à des concentrations de protéine C réactive supérieure à 400mg/l, des échantillons doivent être dilués.

Performances:

- Sensibilité analytique : 6mg/l
- Effet prozone : 1600mg/l
- Sensibilité diagnostique : 95,6%
- Spécificité diagnostique : 96,2%

Interférences:

Les substances suivantes ont été testées sans qu'aucune interférence ne soit constatée sur les résultats attendus : hémoglobine (10g/l), bilirubine (20mg/dl), lipides (10g/l). En revanche, il existe des interférences pour des concentrations de facteurs rhumatoïdes supérieures à 100UI/ml.

Valeurs attendues :

La présence de protéine C réactive dans un sérum ou plasma humain à longtermis été utilisée comme un indicateur sensible de processus inflammatoire et nécrotique. La concentration de protéine C réactive augmente dans beaucoup de maladies pulmonaire et respiratoire aiguës, maladies abdominales aiguës, maladies rénales et de l'appareil urinaire, fièvre rhumatoïde et arthrite rhumatoïde, maladies cardiovasculaires, maladies du système digestif, troubles métaboliques

et endocrines, maladies du sang, quelques maladies virales, tumeurs malignes et bénignes et quelques maladies de peau. Des concentrations de protéine C réactive entre 0,02 et 13,5mg/l ont été régulièrement trouvées chez des enfants et des adultes des deux sexes apparemment en bonne santé. C'est pourquoi, la protéine C réactive doit être considérée comme un constituant normal du sérum. Une faible corrélation a été observée entre la concentration de protéine C réactive et l'âge. Il n'y a pas de différence significative entre la concentration de protéine C réactive chez l'homme et celle chez la femme non-enceinte. La valeur moyenne de protéine C réactive chez l'adulte est de 0,47mg/l.

3.9.10. Définition des termes :

Laboratoire de biologie médicale

C'est le site où sont effectués les actes d'analyses de biologie médicale par des personnels qualifiés, dans des locaux adaptés et avec un matériel approprié.

Analyses de biologie médicale

Les analyses de biologie médicale sont les examens biologiques qui concourent au diagnostic, au traitement ou à la prévention des maladies humaines ou qui font apparaître toute autre modification de l'état physiologique, à l'exclusion des actes d'anatomie et de cytologie pathologiques.

Assurance qualité :

Ensemble des mesures prises dans le laboratoire qui garantissent que les résultats finaux rendus par le laboratoire sont aussi exacts que possible. Ceci nécessite un contrôle des prélèvements, une mise en place des MON (Modes Opératoires Normalisés) une révision des procédés de transcription, l'utilisation des réactifs les plus fiables et la vérification des comptes rendus des résultats du jour au jour;

- **Contrôle de Qualité (CQ)** : Comprend les mesures prises lors de la réalisation de chaque analyse afin de vérifier qu'elle se déroule correctement. Ceci comprend la vérification des conditions de température correctes, de l'existence de témoin de contrôle, etc. Ce CQ indique si l'analyse en cours est valable et donne des résultats acceptables. Le contrôle de qualité n'indique pas cependant si les résultats sont exacts, ni s'ils ont été correctement enregistrés ;

- **Évaluation de la Qualité (EQ)** : Est le moyen de déterminer la qualité des résultats. Ceci consiste à envoyer les échantillons dans d'autres laboratoires pour évaluation.

L'évaluation de la qualité est mise en œuvre en vue de déterminer l'efficacité du programme d'assurance de la qualité.

- **Contrôle de qualité interne ou CQI** : ensemble des procédures mises en œuvre dans un laboratoire en vue de garantir la qualité des résultats des analyses au fur et à mesure de leur exécution.

- **Contrôle de qualité externe ou CQE** : également connu sous le nom d'évaluation externe de qualité. Il correspond au contrôle, par un organisme extérieur, de la qualité des résultats fournis par un laboratoire. Ce contrôle rétrospectif permet une confrontation inter laboratoires en vue d'améliorer la qualité du travail de l'ensemble des participants. L'organisme extérieur adresse les mêmes échantillons aux différents laboratoires, collecte les résultats obtenus, en fait l'étude et les transmet avec commentaires aux laboratoires participants.

- **Qualité** : la qualité est l'aptitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur. Dans le domaine de la biologie médicale, c'est l'adéquation entre les moyens mis en œuvre et les informations attendues par le médecin prescripteur, ainsi que la réponse aux attentes du patient.

- **Maîtrise de la qualité** : ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour qu'un produit ou un service satisfasse aux exigences de qualité. Dans le domaine de la biologie médicale, l'assurance de qualité permet de maîtriser l'organisation des tâches conduisant à la qualité et couvre notamment les étapes pré-analytiques, analytiques et post-analytiques.

Echantillons et prélèvements

- **Prélèvement** : acte permettant l'obtention d'un échantillon biologique.

-**Echantillon biologique** : échantillon obtenu par recueil ou acte de prélèvement et sur lequel vont être effectuées des analyses de biologie médicale.

- **Echantillon de calibrage** : échantillon de composition définie qualitativement et quantitativement, adapté à la méthode utilisée, pour un ou plusieurs constituants, souvent par rapport à des étalons de référence et destiné au calibrage des analyses dans certaines disciplines biologiques.

- **Echantillon de contrôle** : échantillon adapté à la méthode utilisée et destiné à apprécier l'exactitude et la précision des résultats

Procédures

Opérations à effectuer, précautions à prendre et mesures à appliquer figurant sur des documents propres à chaque laboratoire. Ces procédures peuvent comporter des modes opératoires détaillés ou Modes Opératoires Normalisés (MON).

3.9.11. Chronogramme des activités :

Tableau III : Diagramme de Gantt

| Temps Activités | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 |
|------------------------|------|------|--------------------------------------|---------|
| | | | A S O N J F M A M J J A D S O N D | |
| Paillasse | | | A____D | |
| Bibliographies | | | J_F M_J | |
| Protocole | | | F_M | |
| Analyse des données | | | | M____J |
| Rédaction de la thèse | | | | J_____A |
| Lecture de la thèse | | | | O__D |
| Correction de la thèse | | | | J_A |
| Soutenue et archivée | | | | M_J |

J: Janvier, F: Février, M: Mars, A: Avril, M: Mai, J: Juin, J: Juillet, A: Août,
S: Septembre, O: Octobre, N: Novembre, D: Décembre.

4. RÉSULTAT :

4.1. Résultat d'évaluation du laboratoire :

Tableau IV : Évaluation des conditions du bâtiment, fluides et généralité

| | |
|---|------------|
| Bâtiments, fluides et généralités..... | 93% |
| Conditions du bâtiment..... | 100% |
| Approvisionnement en fluides..... | 100% |
| % de pièces techniques utilisées..... | 100% |
| Nombre de pièces techniques (niveau dépendant)..... | 100% |
| Possibilité de communication..... | 100% |
| Couverture des maladies infectieuses..... | 56% |

Les conditions générales du bâtiment sont à 100 % avec une couverture des maladies infectieuses à 56%.

Tableau V: Évaluation de la biosécurité et de l'hygiène du laboratoire

| | |
|---|------------|
| Biosécurité et hygiène..... | 90% |
| Utilisation de moyens de protections..... | 60% |
| Procédures en biosécurité..... | 100% |
| Formations en biosécurité..... | 100% |
| Conditions de biosécurité..... | 100% |
| Sécurité des équipements..... | 67% |
| Elimination des déchets..... | 100% |
| Documentation en biosécurité..... | 100% |

La biosécurité et l'hygiène sont assurées à 90% pour le laboratoire. Parmi les paramètres étudiés, les mesures de protection du personnel et la sécurité des l'équipements sont assurées respectivement à 60% et 67%. En dehors de ceux-ci, les autres paramètres de biosécurité sont assurés à un taux satisfaisant (100%).

Tableau VI: Évaluation des prélèvements et de l'hygiène

| | |
|---|------------|
| Prélèvements et hygiène..... | 95% |
| Qualité des prélèvements reçus..... | 90% |
| Procédures de prélèvement..... | 100% |
| Qualité du formulaire de demande d'examen..... | 90% |
| Esprit critique vis-à-vis des prélèvements..... | 100% |
| Qualité des registres..... | 78% |
| Examen macroscopique..... | 100% |
| Devenir des spécimens..... | 100% |
| Qualité de la traçabilité des spécimens..... | 100% |

Dans l'ensemble l'évaluation des prélèvements et l'hygiène est à 95% avec une qualité des registres à 78%.

Tableau VII : Quantité minimum des équipements présents dans le laboratoire de sérologie (GBEA MALI).

| Désignation | Quantité disponible |
|-----------------------------|----------------------------|
| Bain marie | 1 |
| Balance de précision | 0 |
| Centrifugeuse | 2 |
| Congélateur -20°C | 1 |
| Congélateur-70°C | 2 |
| Connexion internet/an | 1 |
| Chronomètre | 3 |
| Etuve | 2 |
| Four | 0 |
| Générateur de secours | 1 |
| Equipement ELISA | 1 |
| Incubateur de grosse taille | 1 |
| Incubateur de petite taille | 0 |
| Machine à laver | 1 |
| Microscope binoculaire | 2 |
| Ordinateur+imprimante | 3 |
| Spectrophotomètre | 2 |
| Réfrigérateur 6°C | 4 |
| Moyenne | 73% |

L'équipement présent dans le laboratoire de sérologie est estimé à 73%.

Tableau VIII: Évaluation des réactifs et approvisionnement.

| | |
|--|------------|
| Réactifs et approvisionnement..... | 80% |
| Préparation de réactifs faits maison..... | 0% |
| Qualité de la gestion des réactifs..... | 80% |
| Disponibilité de fonds pour les réactifs..... | 100% |
| Utilisation de réactifs périmés..... | 100% |
| Disponibilité du réactif | 100% |
| Disponibilité de réactifs pour autres sérologies | 90% |

L'évaluation des réactifs et l'approvisionnement du laboratoire à donner 80% dans l'ensemble. La disponibilité de fonds pour l'achat des réactifs est assurée à 100%.

Tableau IX : Évaluation de la qualité totale

| | |
|---|------------|
| Qualité totale..... | 85% |
| Disponibilité de procédures d'analyse..... | 100% |
| Présence de contrôle de qualité interne..... | 100% |
| Participation à un contrôle de qualité externe..... | 100% |
| Présence de relevés de températures..... | 100% |
| Qualité de la maintenance préventive..... | 60% |
| Réparation et réglage des instruments..... | 33% |
| Disponibilité de documentation et de pièces détachées | 100% |

L'évaluation de la qualité totale est de 85% avec une disponibilité de procédures d'analyse, la présence de contrôle de qualité interne et la participation à un contrôle de qualité externe à 100%. Parmi les paramètres étudiés la réparation et réglage des instruments et la qualité de la maintenance préventive sont respectivement de 33% et 60%.

Tableau X : Récapitulatif de tous les paramètres étudiés avec les appréciations

| PARAMETRES | TAUX | APPRÉCIATIONS |
|-------------------------------------|-------------|----------------------|
| Bâtiment, fluides et généralités | 93% | Bon |
| Biosécurité et hygiène | 90% | Bon |
| Prélèvement et hygiène | 95% | Bon |
| Équipements | 73% | Assez bon |
| Réactifs et approvisionnement | 80% | Bon |
| Qualité totale | 85% | Bon |
| Rapports analyses et communications | 96% | Bon |
| MOYENNE GÉNÉRALE | 87% | Bon |

Ce tableau nous donne une idée générale sur l'assurance qualité au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ en fonction des paramètres évalués dont la moyenne est de 87% dans la détermination de la protéine C réactive.

Source : logi-Evaluat-labo.xls

4.2. Nombre de test effectués au laboratoire.

Notre étude a porté sur les résultats de 1000 échantillons de sérums analysés et répartis comme suit : 361 échantillons de sérums étaient positifs ; 625 échantillons de sérums négatifs et 14 résultats non renseignés.

Les résultats des tests effectués dans le cadre de notre étude sont consignés dans les tableaux et figures suivants :

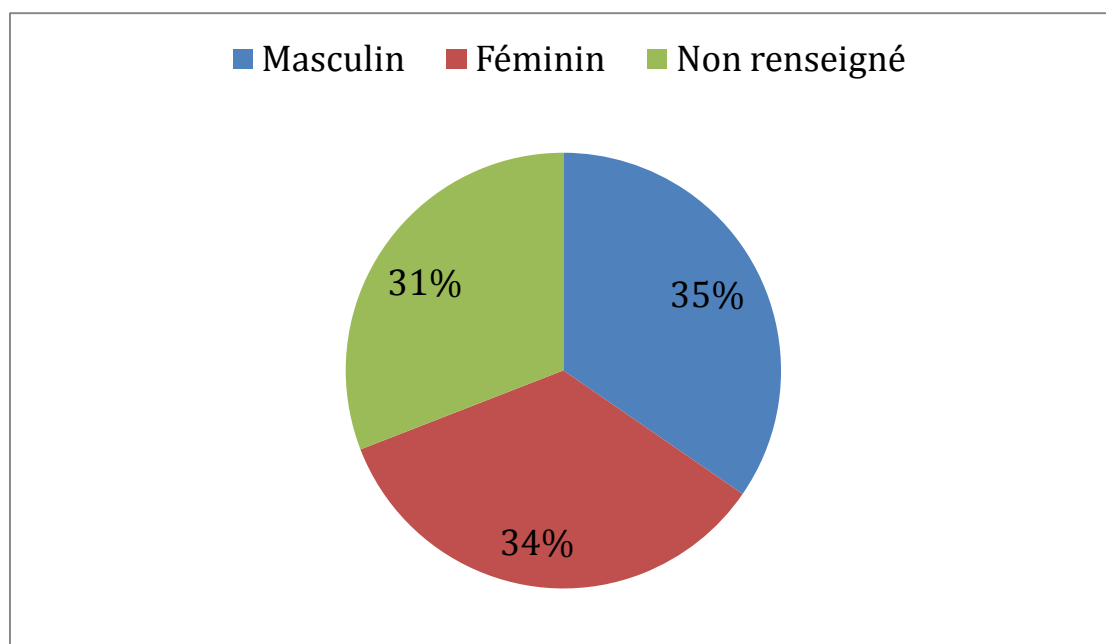


Figure n°10: Répartition des patients selon le sexe. Le sexe ratio est sensiblement égal à 1.

31% des sexes n'étaient pas renseignés.

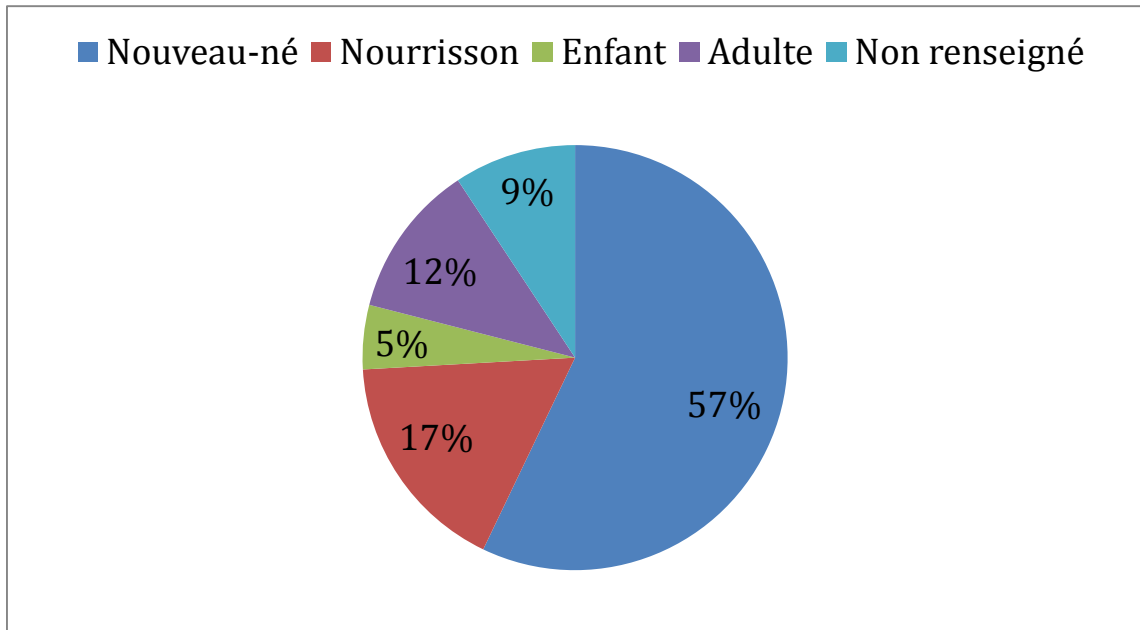


Figure n°11 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

La pédiatrie est le service le plus représenté avec 79% (57% pour les nouveau-nés ; 17% pour les nourrissons ; 5% pour les enfants).

9% de tranche d'âge n'étaient pas renseignés.

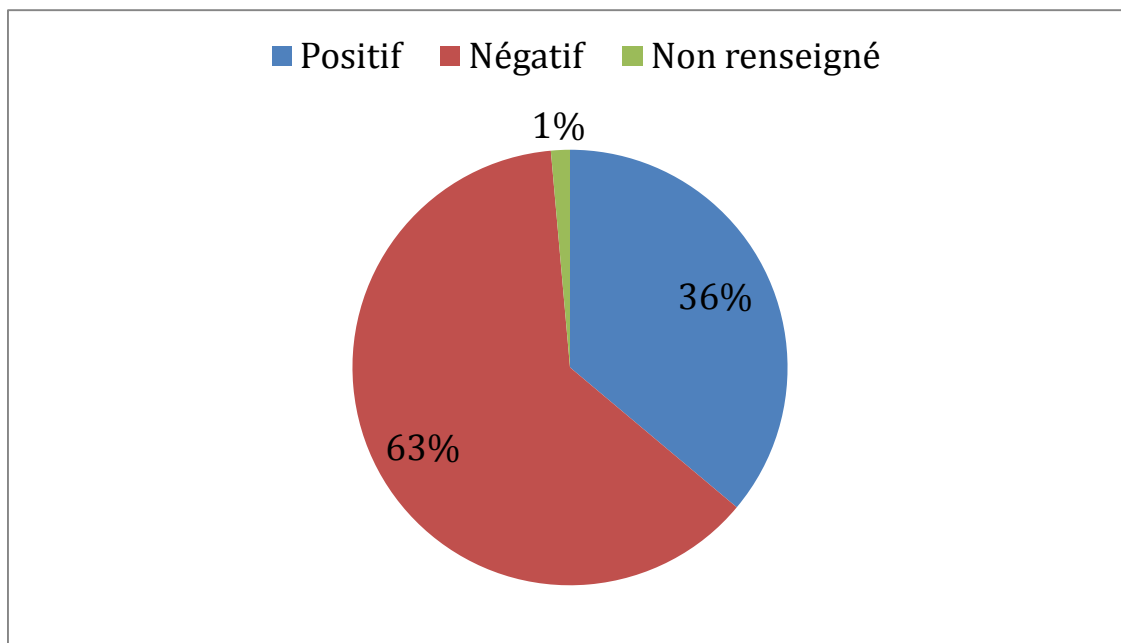


Figure n°12 : Répartition des patients selon le résultat obtenu.

Parmi les sérums testés, il ya 361 résultats positif soit 36%.

1% des résultats n'était pas renseigné.

4.3 Résultats des contrôles de qualité.

4.3.1. Contrôles de qualité internes.

Tableau XI: Nombre de contrôles de qualité internes effectués au laboratoire.

| Contrôle de qualité interne | Nombre de CQI | Résultats Normaux | Résultats discordants |
|-----------------------------|---------------|-------------------|-----------------------|
| | 40 | 40 | 0 |

Les contrôles de qualité internes ont été faits à partir des contrôles (positif et négatif) contenus dans le coffret du réactif CRP Latex, il a été

réalisé 40 tests de contrôle de qualité interne durant la période d'étude qui étaient tous normaux, il n'y avait pas de résultat discordant.

4.3.2 Contrôles de qualité externes.

Les contrôles de qualité externes auxquels le laboratoire a participé ne concernaient pas la détermination de la protéine C réactive.

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION :

La présente étude qui a porté sur la contribution à l'assurance qualité dans la détermination de la protéine C réactive (CRP) au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ a concerné 1000 échantillons reçus du 6 mai 2011 au 18 février 2012. L'objectif de cette étude descriptive a été atteint, car l'importance de la détermination de la CRP dans les processus inflammatoires et infectieux a été démontré ; surtout en pédiatrie qui est le service le plus représenté avec 79% des sérums testés. Les problèmes affectant les activités de détermination de la CRP ont été identifiés au cours de la période indiquée, ceci à travers le respect rigoureux de la méthodologie adoptée. Cette étude sur l'assurance qualité dans la détermination de la CRP a été faite sur la base d'un traitement manuel, de saisies sur Word, de données enregistrées dans le logiciel Excel et les variables comme le sexe et l'âge ont été étudiés. Les résultats de cette étude qui a porté sur 1000 prélèvements reçus durant la période indiquée permettent d'avoir une image relativement claire de la détermination de la CRP au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

L'étude sur La contribution à l'assurance qualité dans la détermination de la CRP est une action continue basée sur la détermination de la CRP au cours des processus inflammatoires et infectieux.

Le dosage rapide de la CRP va permettre de renforcer ou non l'hypothèse initiale émise quant à l'origine de la pathologie, il en découlera une prise en charge différente selon la probabilité d'une origine bactérienne ou virale.

Des études ont montrées, que 100% des enfants ayant une CRP supérieure à 100 mg/L étaient atteints d'une pathologie bactérienne. A contrario la majorité des enfants ayant une CRP inférieure à 50 mg/L

avait des pathologies d'origine virale. Pour des valeurs extrêmes la CRP est un assez bon indicateur de l'origine présumée de la pathologie. [27] Cette étude permet d'avoir une description plus précise et détaillée de l'importance de la détermination de la CRP dans les formations sanitaires. Sur un échantillon total de 1000 personnes testées, il a été enregistré 361 cas de positivité au test CRP Latex, soit 36 %.

5.1. Du point de vue de la méthode.

La démarche qualité dans notre laboratoire a permis la mise en œuvre d'un ensemble de dispositions préétablies et systématiques destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité et qui tournent autour des points suivants :

- Assurance de la Qualité (**AQ**)
- Contrôle de Qualité (**CQ**)
- Évaluation de la Qualité (**EQ**)

5.1.1. Avantage du test rapide.

Ce test rapide nécessite une quinzaine de minutes de manipulation. Il se fait de façon unitaire. Cette simplicité d'emploi permet d'utiliser ce test dans de nombreux pays en développement.

5.1.2. Limite du test utilisé.

La lecture des résultats ne doit pas être faite après 2 minutes. La lecture obtenue après cette période peut être incorrecte. L'intensité de l'agglutination n'est pas nécessairement indicative de la concentration de protéine C réactive. Si la concentration de protéine C réactive est supérieure à 200mg/l de plus faibles réactions peuvent être obtenues en raison de l'excès d'anticorps. Si l'on s'attend à des concentrations de protéine C réactive supérieure à 400mg/l, des échantillons doivent être dilués.

5.2. Du point de vue des résultats.

La couverture des maladies infectieuses, l'utilisation de moyens de protection par le personnel et la sécurité des équipements sont assurées respectivement à (56%, 60%, 67%) ce qui est peu satisfaisant et expose le personnel.

La qualité des registres est 78% ce qui est aussi peu satisfaisant et interpelle non seulement les prescripteurs mais aussi tout le personnel du laboratoire.

La qualité de la maintenance préventive et le réglage et réparation des instruments sont assurés respectivement à (60% et 33%). Ces taux sont peu satisfaisants et donc influent sur la qualité des résultats obtenus par le laboratoire.

La quasi-totalité des prélèvements testés ainsi que des résultats positifs obtenus provenaient de la pédiatrie. Cela rend-compte de la susceptibilité des enfants aux infections et informe sur la prévalence des infections en pédiatrie.

Les difficultés rencontrées

• Difficultés liées au prélèvement

- Les bulletins non- conformes n'authentifient pas la provenance de ces derniers et indirectement les qualificatifs du prescripteur.
- Les données sociodémographiques incomplètes ne nous permettaient pas de bien situer la tranche d'âge concernée.

• Difficultés liées au local et à la gestion des déchets biomédicaux

- Manque de locaux pour les activités
- Paillasse non-conformes (anciennes paillasse de rangements de médicaments).
- Insuffisances dans la gestion des déchets.

- Manque de local approprié pour le stockage des consommables et réactifs.

- **Difficultés liées au personnel**

- Manque de motivation du personnel
- Charge énorme de travail
- Niveau bas de formation du personnel technique
- Manque de personnel surtout de biologiste

- **Difficultés liées à la technique**

- Mauvais circuit d'acquisition des équipements qui sont réalisés sans associer les techniciens de la biologie.
- Mauvais circuit d'acquisition des consommables et réactifs qui sont réalisés sans associer les techniciens de la biologie.
- Ruptures en consommables et réactifs de laboratoire.
- Mauvaise gestion des consommables et réactifs au niveau des dépositaires et sur les sites d'utilisation.

- **Difficultés liées au rendu des résultats**

- Non retrait des résultats par les patients et les prescripteurs
- Manque de moyens de transmission des résultats

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :

La présente étude, portant sur la contribution à l'assurance qualité dans la détermination de la protéine C réactive a été mise en œuvre par la réalisation d'un test rapide chez les patients dont les prélèvements ont été reçus au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel TOURÉ.

Le test de dépistage que nous avons utilisé au cours de notre étude est le réactif CRP Latex.

- L'assurance qualité au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ est assurée à 88% dans la détermination de la protéine C réactive.

Le nombre de résultat positif obtenus était de 36%.

La détermination de la protéine C réactive reste une activité essentielle dans le processus de prise en charge des patients; ceci impose une résolution permanente des problèmes (technique et organisationnel) qui entravent le bon déroulement et la qualité du test au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

Cependant beaucoup reste à faire pour assurer la qualité totale dans la détermination de la protéine C réactive.

Ce faisant, nous recommandons :

Au personnel du laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ

- Assurer une démarche qualité dans leurs activités de tous les jours ;
- Mettre en application le Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) dans le laboratoire.

Aux autorités de tutelle du CHU Gabriel TOURÉ

- Assurer la formation continue du personnel du laboratoire.
- Équiper un laboratoire de niveau hospitalo- universitaire.
- Mettre en place un système d'assurance qualité comprenant un cadre stratégique et les textes d'applications des normes d'accréditations.

- Elaborer un plan de formation des techniciens à la maintenance des équipements.

7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- 1. Guide de Bonne Exécution des Analyses** de biologie médicale (décision 09-472/MS-SG du 02 Avril 2009 relatif à la bonne exécution des analyses biomédicales du Ministère de la santé Bamako Rép. MALI).
- 2. Guide de Bonne Exécution des Analyses** de biologie médicale (Arrêté du 2 Novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses biomédicales du Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville - France).
- 3. World Health Organization** on behalf of the U.S. Centers for Disease Control and Prevention ; the World Health Organization; the Clinical and Laboratory Standards Institute®.2009 Laboratory Quality Management System - Training toolkit.
- 4. Kaplan B S, Proesmans W.** The hemolytic and uremic syndrome of child hood and its variants. Hematol. 1987, 24:148-60
- 5. Haslett C, Chilvers E R, Hunter J A, Boon Davidson A N A.** Médecine interne principe et pratique traduite de la 18è édition anglaise Maloine P123-124,
- 6. Russo-Marie F, Peltier A, Polla BS.** 1998. L'inflammation. Paris : John Libbey Eurotext. 565p.
- 7. Prin L, Hachulla E, Hennache B, Dubucquoi S, Abbal M, Faure G, Bouletreau P ;** 2009 ; Available from : <http://w3med.univlille2.fr/inflammation/documents/immuno1.pdf>
- 8. Autier J, Miyara M, Buyse S.** 2004. Module-8 : immunopathologie, réaction inflammatoire. item112, editor. Issy-les-Moulineaux: Estem. 192 p.
- 9. Caquet R.** 2008. 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation. Paris: Elsevier Masson. 437 p.

- 10. Weill B, Batteux F.** 2003. Immunopathologie et réaction inflammatoire. Bruxelles: De Boeck 310 p.
- 11. Chabanne L, Ponce F, Prélaud P.** 2006. Immunologie clinique du chien et du chat: Elsevier Masson. 374 p.
- 12. Abliz H.** 2002. C-reactive protein: history and revival. Eur. J. Intern. Med. 13(7):412-22.
- 13. Black S, Kushner I, Samols D.** 2004. C reactiv protein. J Biol Chem 279(47):48487-90.
- 14. Ridker P.** 2008. CRP: eighty years from discovery to emergence as a major risk marker for cardiovascular disease. Clin Chem 55(2):209-15.
- 15. Agrawal A, Shrive A, Greenhough T, Volanakis J.** 2001. Topology and Structure of the C1q-Binding Site on C-Reactive Protein. J Immunol 166(6):3998-4004.
- 16. Thompson D, Pepys MB, Wood S.** 1999. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine Structure 7(2):169-77.
- 17. Volanakis J.** 2001. Human C-reactive protein: expression, structure, and function Mol Immunol 38(2-3):189-97.
- 18. Murphy C, Beckers J, Rüther U.** 1995. Regulation of the Human C-reactive Protein Gene in Transgenic Mice ASBMB 270(13):704-8.
- 19. Ganter U, Arcone R, Toniatti C, Morrone G, Ciliberto G.** 1989. Dual control of c reactive protein gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. EMBO J 8:3773-9.
- 20. Kushner I, Feldmann G.** 1978. Control of the acute phase response. Demonstration of creactiv protein synthesis and secretion by hepatocytes during acute inflammation in the rabbit. J Exp Med 148(2):466-77.

- 21. Mery Pignon L.** 1992. La PCR : protéine de l'inflammation (thèse d'exercice) [Pharmacie]. Marseille: Faculté de pharmacie de Marseille.
- 22. Mauris A, Morandi PA, Borghini T, Deom A.** 2005. Fiche technique 6. Chene-Bourg: Centre Suisse de Controle de Qualité. p 2.
- 23. Villiamier F.** 1989. La C réactive protéine. Paris: Faculté de Pharmacie de Paris V.
- 24. Deron S.** 2003. C-reactive protein: everything you need to know about CRP and why it's more important than cholesterol to your health. New York: McGraw-Hill Professional. 208 p.
- 25. Marcovecchio M, Giannini C, Widmer B, Dalton RN, Martinotti S, Chiarelli F, Dunger DB.** 2008. C-Reactive Protein in Relation to the Development of Microalbuminuria in Type 1 Diabetes Diabetes care 31(5):974-6.
- 26. Bourrillon A.** 2005. Pédiatrie. Paris: Masson. 837 p.
- 27. Zerbato M.** 2009. Intérêt du dosage par microméthode de la protéine C réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse Pharm. N °3185. P-62. Nancy FRANCE.
- 28. SANGARE. S.A.,** 2006 Démarche qualité au laboratoire de bactériologie CVD de l'hôpital Gabriel TOURE Février à Mars 2006. Thèse de Pharm., Bamako, N°75.
- 29. Cerba L.** 2007. Guide des analyses spécialisées. Paris: Elsevier Masson. 1041 p.

8. ANNEXES :

8.1. Annexe 1.

CHU GABRIEL TOURÉ

MODE OPÉRATOIRE NORMALISÉ

TITRE : Prélèvement sanguin

Rédigé le : Par : MAIGA Hamadoun Visa :

Vérifié le : Par : TOURÉ Issaka Visa :

Approuvé le : Par : Dr Souleymane DIALO Visa :

Modifié le : Par : Visa :

Vérifié le : Par : Visa :

Approuvé le : Par : Visa :

Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par

Document provisoire

Document

opérationnel

Destinataires

| | | | |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------|
| Le biologiste Responsable | Responsable assurance qualité | Techniciens biologistes | Étudiants FFI |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------|

Exemplaires :

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie, Biochimie, Hématologie, Parasitologie

Documents Qualité liés

MAQ : MQ

P : Procédure d'hygiène et sécurité

MO : Mode opératoire des prélèvements sanguins

E : Registre central

1. Buts :

Décrire le mode opératoire de la réalisation des prélèvements sanguins.

2. Domaines et personnels concernés :

Secteur pré-analytique. Les médecins, les biologistes, les pharmaciens, les infirmiers et les techniciens de laboratoire.

3. Abréviations/Définitions :

4. Références :

GBEA.

5. Contenu :

MODE OPÉRATOIRE DES PRÉLÈVEMENTS SANGUINS

1. Principes- Indications :

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes à suivre pour réaliser les prélèvements sanguins. Il s'applique à l'ensemble des prélèvements sanguins réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

2. Prélèvements :

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

3. Matériel et Réactifs :

- Corps et aiguille de système de prélèvement sous vide.
- tubes de prélèvement sous vide.
- Seringues à usage unique avec aiguille : 5, 10 et 20 ml.
- Tubes pour prélèvement traditionnel : conditionnements standards (5 ou 7ml) et pédiatriques (2ml).
- Garrot.
- Coton hydrophile.

- Alcool à 70° ou Alcool iodé, Bétadine® ...
- Pansements.
- Boîte récupératrice d'aiguilles, poubelle pour déchets contaminés et poubelle pour déchets non contaminés.

NB : avant d'appeler le patient, il est nécessaire de vérifier la présence de tout le matériel indispensable au prélèvement.

4. Mode opératoire :

Déroulement du prélèvement sanguin.

Le préleveur, muni du bulletin de demande d'analyse s'assure de l'identité du patient (nom, prénom et date de naissance).

Il s'assure de la conformité des conditions de prélèvement :

- État de jeun.
- Dernière prise de médicaments.
- Autres conditions si nécessaires.

Il s'enquiert de l'existence d'une éventuelle thérapeutique et sollicite, si nécessaire, des informations cliniques complémentaires et note ces informations sur le bulletin de demande d'analyse.

Il sélectionne les tubes à prélèvements (nature, contenance et nombre) en fonction des analyses prescrites (Cf Instructions « Choix des tubes »).

Il identifie les tubes en inscrivant le nom, le prénom, le numéro d'identification et la date.

- Antisepsie de la peau à l'aide d'un coton imprégné de solution antiseptique.
- Pose du garrot et recherche de la veine, à prélever rapidement.
- Utilisation d'aiguille stérile à usage unique obligatoire. Utiliser les tubes à prélèvement en fonction des analyses prescrites (Cf Instructions « Choix des tubes »).
- Desserrer le garrot avant de retirer l'aiguille.

- Retirer l'aiguille tout en comprimant la veine avec un coton sec.
- Le patient assure la compression (et non pas la friction) pendant 2 à 3 minutes.

NB : En cas de prélèvement sur différents types de tubes, l'ordre de prélèvement suivant doit être respecté (le code couleur correspond aux anti-coagulants décrits dans le document Instructions

« Choix des tubes »

ROUGE → BLEU → VERT → VIOLET et/ou NOIR → GRIS

Élimination de l'aiguille :

Les aiguilles doivent être obligatoirement éliminées dans le récipient prévu à cet effet (boîte de sécurité), immédiatement après le prélèvement et au vu du patient. Le recapuchonnage est interdit.

5. Hygiène et Sécurité :

Le respect des mesures usuelles de précaution est obligatoire pour la manipulation des échantillons biologiques et des réactifs.

Les déchets biologiques sont détruits selon la législation en vigueur.

8.2. Annexe 2.

CHU GABRIEL TOURÉ MODE OPÉRATOIRE NORMALISÉ

TITRE : Test de détermination de la protéine C réactive (CRP):

Rédigé le : Par : MAIGA Hamadoun Visa :

Vérifié le : Par : TRAORÉ Allaye Visa :

Approuvé le : Par : Pr Souleymane DIALLO Visa :

Modifié le : Par : Visa :

Vérifié le : Par : Visa :

Approuvé le : Par : Visa :

Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par

**Document provisoire
opérationnel**

Document

Destinataires

| | | | |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------|
| Le biologiste Responsable | Responsable assurance qualité | Techniciens biologistes | Étudiants FFI |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------|

Exemplaires : classeur de sérologie

- **Classeur Assurance Qualité**
- **Classeur Laboratoire de sérologie**

Documents Qualité liés

MAQ : Manuel Qualité

P : Procédure d'hygiène et sécurité

MO : Mode opératoire du réactif CRP Latex.

E : Registre central

1. Buts :

Décrire le mode opératoire du réactif CRP Latex.

2. Domaines et personnels concernés :

Secteur analytique. Les médecins, les biologistes, les pharmaciens, les infirmiers et les techniciens de laboratoire.

3. Abréviations/Définitions :

4. Références :

GBEA.

Mode opératoire:

- **Contrôle de qualité :**

Avant de réaliser une série de déterminations, tester le réactif latex avec chaque contrôle, inclus dans le coffret. Les deux contrôles seront utilisés selon les étapes décrites dans le Test qualitatif. La réaction entre le contrôle positif et le réactif doit donner une agglutination nette différente de l'apparence uniforme du contrôle négatif. Si ces résultats ne sont pas obtenus, ne pas utiliser le kit.

Pour assurer une bonne distribution du réactif, tenir le compte-gouttes de réactif en position verticale et verser une seule goutte.

Test qualitatif:

- Attendre que les réactifs atteignent la température ambiante (23-29°C).
- Déposer, avec une pipette automatique, 50µl de l'échantillon sur un des cercles de la lame et une goutte de chaque contrôle sur de autres cercles.

- Agiter légèrement le réactif latex pour le remettre en suspension. Déposer alors une goutte de réactif dans chacun des cercles (échantillon+contrôles).
- A l'aide d'un cure-dent, mélanger les réactifs en étalant sur toute la surface du cercle (utiliser un cure-dent différent pour chaque échantillon).
- Agiter la lame pendant deux minutes manuellement ou à l'aide d'un agitateur rotatif à 80-100 rpm.
- Vérifier la présence ou l'absence d'une agglutination.

Interprétation des résultats :

La présence d'agglutination indique la présence de protéine C-réactive dans le sérum à une concentration supérieure ou égale à 6mg/l.

- **Réactions positives :**
 - Grands agrégats sur fond transparent.
 - Agrégats modérés sur fond légèrement opaque.
 - Agrégats fins sur fond opaque.
- **Réaction négative :**
Absence d'agrégats. Suspension uniforme.

Test semi-quantitatif :

- Déposer 50µl de solution saline 9g/l sur chacun des cercles 2 à 6 de la lame.
- Avec une pipette automatique, déposer 50µl d'échantillon sur le cercle 1 et 50µl directement sur la goutte de solution saline du cercle 2.
- À l'aide de la même pipette, aspirer et expulser à plusieurs reprises le mélange obtenu dans le cercle 2, jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

- Prélever 50µl du mélange obtenu dans le cercle 2 et les transférer dans le cercle 3.
- Procéder aux mêmes opérations que celles précédemment décrites en vue d'obtenir le mélange correct des réactifs jusqu'au cercle 6, puis en jeter 50µl.
- Déposer le réactif latex sur chaque dilution tel que décrit dans la section Test qualitatif.

Interprétation des résultats :

Le titre de l'échantillon correspond à celui de la dilution la plus élevée présentant un résultat encore nettement positif (principe de calcul : $6x$ titre de la dilution=mg/l).

Limite:

La lecture des résultats ne doit pas être faite après 2 minutes. La lecture obtenue après cette période peut être incorrecte. L'intensité de l'agglutination n'est pas nécessairement indicative de la concentration de protéine C-réactive. Si la concentration de protéine C-réactive est supérieure à 200mg/l de plus faibles réactions peuvent être obtenues en raison de l'excès d'anticorps. Si l'on s'attend à des concentrations de protéine C-réactive supérieure à 400mg/l, des échantillons doivent être dilués.

Performances:

- Sensibilité analytique : 6mg/l
- Effet prozone : 1600mg/l
- Sensibilité diagnostique : 95,6%
- Spécificité diagnostique : 96,2%

Interférences :

Les substances suivantes ont été testées sans qu'aucune interférence ne soit constatée sur les résultats attendus : hémoglobine (10g/l), bilirubine (20mg/dl), lipides (10g/l). En revanche, il existe des interférences pour des concentrations de facteurs rhumatoïdes supérieures à 100UI/ml.

Valeurs attendues :

La présence de protéine C-réactive dans un sérum ou plasma humain à longtermis été utilisée comme un indicateur sensible de processus inflammatoire et nécrotique. La concentration de protéine C-réactive augmente dans beaucoup de maladies pulmonaire et respiratoire aiguës, maladies abdominales aiguës, maladies rénales et de l'appareil urinaire, fièvre rhumatoïde et arthrite rhumatoïde, maladies cardiovasculaires, maladies du système digestif, troubles métaboliques et endocrines, maladies du sang, quelques virales, tumeurs malignes et bénignes et quelques maladies de peau. Des concentrations de protéine C-réactive entre 0,02 et 13,5mg/l ont été régulièrement trouvées chez des enfants et des adultes des deux sexes apparemment en bonne santé. C'est pourquoi, la protéine C-réactive doit être considérée comme un constituant normal du sérum. Une faible corrélation a été observée entre la concentration de protéine C-réactive et l'âge. Il n'y a pas de différence significative entre la concentration de protéine C-réactive chez l'homme et celle chez la femme non-enceinte. La valeur moyenne de protéine C-réactive chez l'adulte est de 0,47mg/l.

Elimination des déchets

Traiter et éliminer les échantillons testés et tout autre matériel utilisé (les contrôles, les embouts de pipette, les gants, et les plaques) en tant que déchets à risque biologique.

8.3. Annexe 3 :**Tableau XII:** Durée et température de conservation après analyse de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés

| Examens Biologiques et échantillons | Température de Conservation | Durée |
|---|------------------------------------|--------------|
| Marqueurs tumoraux | - 18°C | 1 an |
| Sérologie bactérienne | - 18°C | 1 an |
| Sérologie virale | - 18°C | 1 an |
| Sérologie parasitaire | - 18°C | 1 an |
| Biologie moléculaire : | | |
| Mycobactéries | - 80°C | 1 an |
| Virus de l'hépatite B | - 80°C | 1 an |
| Virus de l'hépatite C | - 80°C | 1 an |
| Chlamydia | - 30°C | 1 an |
| Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) | - 80°C | 1 an |
| Diagnostic prénatal : | | |
| Dosage des marqueurs sériques de la trisomie 21 fœtale dans le sang maternel. | - 18°C | 1 an |
| Diagnostic des Embryofœtopathies infectieuses. | - 80°C | 3 ans |
| Souches bactériennes | - 80°C | 3 ans |

8.4. Annexes : Autres définitions

Ressources humaines

Ensemble des personnes occupant une fonction au sein du laboratoire. Le personnel doit avoir une qualification conforme aux textes réglementaires. Ce personnel a le devoir de se tenir constamment informé de l'évolution de la biologie médicale en participant aussi régulièrement que possible aux conférences, congrès, séminaires, ateliers organisés par les universités, les sociétés savantes et les associations professionnelles. Il doit participer aux programmes de formation continue destinés aux personnels sanitaires.

Les directeurs et responsables de laboratoires ont le devoir d'assurer la formation permanente de leur personnel dans le domaine de la biologie médicale. Tout le personnel exerçant dans un laboratoire d'analyses de biologie médicale public ou privé est soumis aux règles du secret professionnel et doit respecter les dispositions de ce guide.

-Biologiste

Toute personne titulaire des diplômes ou titres nécessaires, requis par la législation en vigueur, pour exercer la spécialité ou pour assurer la direction d'un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale.

Les dispositions de ce guide concernent également toutes les personnes médecin, pharmacien ou vétérinaire, qui participent à la production des actes de biologie médicale dans le respect de la réglementation en vigueur.

-Technicien

Toute personne titulaire d'un diplôme ou d'une qualification reconnue réglementairement pour assurer, sous la responsabilité du biologiste, l'exécution des analyses de biologie médicale. Sont considérés comme

techniciens : les assistants médicaux, les techniciens supérieurs de laboratoire et les techniciens de laboratoire.

-Secrétaire

Toute personne contribuant à l'accueil des patients, à la mise en forme des documents utilisés ou établis par le laboratoire et à la remise des résultats.

- Personnel de surface

Toute personne qui, dans le laboratoire, assure, sous le contrôle des techniciens, la préparation et l'entretien des matériels nécessitant une attention particulière dans leur maniement et l'entretien des locaux.

Résultats ou comptes rendus d'analyses

Documents écrits, validés et signés par le biologiste ou le responsable du laboratoire comportant les résultats d'analyses qualitatifs et/ou quantitatifs accompagnés de commentaires aussi souvent que cela est nécessaire ou est prévu par la réglementation.

Confidentialité

Toutes les informations relatives aux patients sont confidentielles et doivent être protégées par le secret professionnel. Les résultats des analyses de biologie médicale ne peuvent être communiqués qu'au patient lui-même, à une tierce personne dûment mandatée par le patient, au praticien prescripteur et à tout autre praticien désigné par le patient sauf dérogations ou règles spécifiques prévues par la loi et les règlements en vigueur.

Evaluation

Etude des qualités d'un procédé, d'une technique ou d'un instrument permettant d'en préciser les caractéristiques et l'adaptation au but recherché.

Qualification

Opération destinée à démontrer qu'un système analytique ou un instrument fonctionne correctement et donne les résultats attendus. Pour le personnel, la qualification correspond à la formation acquise et requise par la réglementation en vigueur. Elle est entretenue par la formation continue interne ou externe à laquelle le personnel du laboratoire est tenu de participer.

Système analytique

Ensemble des moyens analytiques constitués d'une méthode, d'un appareil, d'un (ou plusieurs) logiciel(s), d'un (ou plusieurs) réactif(s), d'un (ou plusieurs) échantillon(s) de calibrage, d'un (ou plusieurs) échantillon(s) de contrôle, qui permet de déterminer la nature d'un constituant ou sa concentration selon un mode opératoire défini.

Transférabilité

Qualité d'un procédé analytique permettant à celui-ci d'être utilisé dans un grand nombre de laboratoires ;

Qualité d'un résultat analytique permettant de comparer celui-ci avec ceux obtenus dans d'autres laboratoires.

Valeurs de référence

Résultats obtenus pour un constituant donné dans une population de référence dont les individus sont exempts de pathologie ou de traitement susceptibles de modifier leurs valeurs.

Les valeurs de référence peuvent varier notamment en fonction de l'origine géographique, du sexe et de l'âge des individus. Elles sont exprimées généralement en tenant compte des limites inférieures et supérieures déterminées par étude statistique. Elles peuvent être établies par le biologiste, en fonction des techniques analytiques qu'il

utilise, ou éventuellement vérifiées lorsqu'il emploie les données des publications scientifiques.

L'expression «valeur de référence» est préférable à celles de «valeur usuelle» ou de «valeur normale».

Validation

Opération permettant d'assurer qu'un résultat a été obtenu dans des conditions techniques satisfaisantes et que celui-ci est compatible avec le dossier biologique du patient. Cette validation est à la fois analytique et biologique.

- **La validation analytique** comporte la vérification de la conformité des conditions d'exécution aux procédures et tient compte notamment des résultats obtenus avec les échantillons de contrôle.

- **La validation biologique** est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats des analyses d'un même dossier, et leur confrontation avec les résultats antérieurs.

Elle peut nécessiter la connaissance de l'état clinique du patient et les traitements mis en œuvre.

Elle est assurée par un biologiste ou le responsable du laboratoire.

Traçabilité

Mécanisme permettant de conserver les traces des analyses de biologie médicale, des contrôles effectués et les mesures correctives.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès sa conception. Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.