



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1
FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

2014

THESE n° 104.

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 2 octobre 2014

par

M. CACCIAPUOTI Clément

Né le 25 Juin 1990 à Annecy

**RAPPORT QUALITE SUR LE GENOTYPAGE DE LA THIOPURINE S-METHYL
TRANSFERASE DANS LE CADRE D'UNE ACCREDITATION PARTIELLE SELON LA
NORME ISO 15 189 A L'HOPITAL EDOUARD HERRIOT**

JURY

M. COHEN Richard, Praticien Hospitalier- Professeur des Universités

Mme GAGNIEU Marie-Claude, Docteur en Biologie -Praticien Hospitalier

M. PARANT François, Pharmacien-Biologiste

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- Président de l'Université M.François-Noël GILLY
- Vice-Président du Conseil d'Administration M. Hamda BEN HADID
- Vice-Président du Conseil Scientifique M. Germain GILLET
- Vice-Président du Conseil des Etudes M. Philippe LALLE
et de la Vie Universitaire

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- UFR de Médecine Lyon Est Directeur : M. Jérôme ETIENNE
- UFR de Médecine Lyon Sud Charles Directeur : Mme Carole BURILLON
Mérieux
- Institut des Sciences Pharmaceutiques Directrice :Mme Christine VINCIGUERRA
et Biologiques
- UFR d'Odontologie Directeur : M.Denis BOURGEOIS
- Institut des Techniques de Réadaptation Directeur : M. Yves MATILLON
- Département de formation et centre de Directeur : M. Pierre FARGE
Recherche en Biologie Humaine

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- Faculté des Sciences et Technologies Directeur : Fabien DE MARCHI
- UFR de Sciences et Techniques des Directeur : M. Claude COLLIGNON
Activités Physiques et Sportives (STAPS)
- Ecole Polytechnique Universitaire de Directeur : M. pascal FOURNIER
Lyon (ex ISTIL)
- I.U.T LYON 1 Directeur : M. Christophe VITON
- Institut des Sciences Financières et Directeur : Mme Véronique MAUME-
d'Assurance (IFSA) DESCHAMPS
- I.U.F.M Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE

ISPB- Faculté de Pharmacie de Lyon
Directrice : Madame la Professeure Christine VINCIGUERRA
Directeurs Adjoints : Madame S. BRIANCON, Monsieur P. LAWTON,
Monsieur P.NEBOIS, Madame S.SENTIS, Monsieur M. TOD

Directrice Administrative : Madame P. SILVEIRA

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIE ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Jean-François SABOT (Pr)
Monsieur Alain BANNIER (MCU)
Monsieur Philippe BERNARD (MCU)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Raphaël TERREUX (MCU-HDR)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr-PAST)

- **PHARMACIE GALENIQUE-COSMETOLOGIE**

Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Mdame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Madame Joëlle BARDON (MCU-HDR)
Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (MCU-HDR)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU)
Monsieur Plawen KIRILOV (MCU)
Monsieur Fabrice PIROT (MCU-PH-HDR)
Monsieur Fabrice SEBERT (MCU-HDR)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU-PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU-PH)
Madame Sophie LANCELOT (MCU-PH)
Monsieur Cyril PAILLIER-MATTEI (MCU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU-PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU-HDR)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU-HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)
Madame Carole SIANI (MCU-HDR)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU-HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU-PH)

- **DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Gilles AULAGNER (PU-PH)

Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

- **QUALITOLOGIE- MANAGEMENT QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)

Monsieur François COMET (MCU)

Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)

Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

- **MATHEMATIQUES-STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)

Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)

Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)

Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)

Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU- HDR)

Madame Christelle MARMINON (MCU)

Madame Sylvie RADIX (MCU-HDR)

Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU-HDR)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Roland BARRET (Pr)

Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)

Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU-HDR)

Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU-HDR)

Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)

Madame Anne-Emmanuelle DE BETTIGNIES (MCU)

Madame Isabelle KERZAON (MCU)

Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU-PH)

Madame Magali BOLON-LARGER (MCU-PH)

Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)

Madame Catherine RIOUFOL (MCU-PH)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Madame Léa PAYEN (MCU-HDR)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (AHU)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU-HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Bernard RENAUD (Pr)
Monsieur Michel TOD (PU-PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU-PH)
Madame Bernadette ASTIER (MCU-HDR)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicol KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL-CHATELAIN (MCU-HDR)
Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)
Monsieur Pascal THOLLOT (MCU PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU-PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU-HDR)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU-PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU-PH)
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALES ET APPLIQUEE
AUX BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Madame Ghislaine DESCOURS (AHU)
Monsieur Jean FRENEY (PU-PH)
Madame Florence MORFIN (PU-PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU)
Madame Emilie FROBERT (MCU-PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Madame Anne-Françoise PETAVYS (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLO (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU-HDR)
Monsieur Philippe LAWTON (MCU-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCIMIE-BIOLOGIE MOLECULAIRE-BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU-PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU-PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU-PH)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU-HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Monsieur Benoit DUMONT (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU-HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Monsieur Philippe LAWTON (MCU-HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Monsieur Patrice SEBERT (MCU-HDR)
Madame Valérie VOIRON (MCU-PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Madame Emile BLOND
Madame Christelle MOUCHOUX
Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Monsieur Eyad AL MOUAZEN 85ème section
Monsieur Boyan GRIGOROV 87ème section
Madame Faiza LAREDJ 85ème section
Monsieur Waël ZEINYEH 86ème section

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

Remerciements

Je remercie le Docteur Marie Claude Gagnieu de m'avoir accueilli au sein du laboratoire de pharmacologie spécialisée de l'Hôpital Edouard Herriot. Je lui suis particulièrement reconnaissant de m'avoir permis d'effectuer ma thèse sur le thème de la qualité à l'hôpital. Ce stage m'a appris un grand nombre de connaissances dans ce domaine qui me sera très utile pour mon avenir professionnel dans l'industrie pharmaceutique. J'ai également pu enrichir mes compétences en matière de travail en autonomie. De plus, la découverte des aspects techniques de l'analyse d'un gène est un atout important pour un futur pharmacien voulant travailler dans le développement des nouvelles thérapies.

Je souhaitais aussi remercier le Professeur Richard Cohen pour avoir accepté d'être mon président de thèse.

Je tiens également à remercier chaleureusement Madame Blandine Mazard, qui a su me consacrer du temps, ainsi que le Docteur Françoise Beyerle pour ses nombreux renseignements et la formation qu'elle m'a donnée dans le domaine de la qualité dans le milieu hospitalier.

A ma famille qui a su m'encourager et me soutenir pendant toutes ces années d'études.

Sans oublier mes confrères de 5 AHU au laboratoire de pharmacologie ; Rémi-Paul Reymond, Hélène Perraud, Anne Charlotte Rouleau, Pauline Galeron et Vincent Joris qui m'ont apporté leur bonne humeur et leur aide dans ce petit bureau bien chaleureux !

Et enfin à tous mes amis qui m'ont fait partager de très bons moments durant ces six années à la faculté...

Liste des abréviations

6-MP : 6 Mercaptopurine

A : Adénine

AFNOR : Association Française de Normalisation

Ala : Alanine

Arg : Arginine

ARS : Agence Régionale Santé

AZA : Azathioprine

BET : Bromure d'éthidium

C : Cytosine

CHT : Communauté Hospitalière Territoire

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CYP : Cytochrome

Cys : Cystéine

DASRI : Déchet d'activité de soins à risques infectieux

dNTP : désoxyribonucléotide triphosphate

GBEA : Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale

GCS : Groupement de Coopération de Sanitaire

G : Guanine

Glu : Acide glutamique

Gly : Glycine

GMPS : Guanine Monophosphate Synthetase

GST : Glutathion S Transferase

EDTA : Ethylène Diamine tétraacétique

HAS : Haute Autorité de Santé

HCL : Hospices Civils de Lyon

HEH : Hôpital Edouard Herriot

HGPRT : Hypoxanthine Guanine PhosphoRibosyl Transférase

His : Histidine

HPST : Hôpital, Patient, Santé, Territoires

IMPDH : Ionosine Monophosphate Deshydrogenase

ISO: International Organisation of Standardization

LBM : Laboratoire de biologie médicale

LBMMS : Laboratoire de biologie médicale multisite

Leu : Leucine

Lys : Lysine

MAQ : Manuel d'Assurance Qualité

Mut : muté, mutation

nm : nanomètre

ONG : Organisation Non Gouvernementale

PAM : Pôle d'activité médical

PCR : Polymerase Chain Reaction

PE-ANA-BM : Procédure d'exécution-analyse -biologie médicale

PKG N : Pharmacogénétique

PH : Praticien Hospitalier

Pro : Proline

Rs : Restricted site

SAMU : Service d'Aide Médicale Urgente

SMQ : Système de Management de la Qualité

SNP : Single Nucleotide Polymorphisme

T : Thymine

TGN : Thioguanidique Nucléotide

Thr : Thréonine

TPMT : Thiopurine S-Méthyl Transférase

Tyr : Tyrosine

UF : Unité Fonctionnelle

UGT : Uridine Diphosphate glycosyltransférase

Wt : wild type (type sauvage).

XO : Xanthine Oxydase

SOMMAIRE

Introduction	17
1. L'environnement Qualité à l'hôpital	19
1.1. La qualité.....	19
1.1.1. Définition	19
1.1.2. Perception de la qualité	19
1.1.3. Les enjeux de la qualité.....	20
1.1.4. L'approche processus.....	21
1.1.5 Les reconnaissances qualité	24
1.1.6. Les systèmes de management de la qualité.....	25
1.1.7. La documentation qualité.....	28
1.2. Norme ISO 15 189	31
1.2.1 Présentation de la Norme	31
1.2.2 Les points importants de la norme ISO 15 189 (10).....	33
1.2.3. Le contexte réglementaire et normatif	40
1.2.4. La certification des établissements santé	45
1.2.5. Le processus d'évaluation de l'accréditation (22) et (23).....	48
1.2.6. Les enjeux et les difficultés de l'accréditation ISO 15189 pour les laboratoires des hôpitaux publics	50
1.3. Présentation de l'UF 21 329.....	53
1.3.1. Les Hospices Civils de Lyon (26).....	53
1.3.2. L'Hôpital Edouard Herriot	54
1.3.3. Organisation	56
1.3.4. L'Unité Fonctionnelle de pharmacogénétique (UF 21 329) (27).....	57
1.3.5. Du prélèvement à l'envoi des résultats de l'analyse	58
1.3.6. La pharmacogénétique inscrite dans un contexte de Santé publique (28)	61
2. Physiopathologie de la Thiopurine Méthyl Transférase (TPMT)	62

2.1. Introduction	62
2.2. Définition	63
2.3. Principaux médicaments métabolisés par la TPMT	63
2.3.1. La Mercaptopurine (Purinethol ®50mg).....	63
2.3.2. L'azathioprine (Imurel® 25mg).....	64
2.4. Polymorphisme de la TPMT	65
2.4.1. Généralités.....	65
2.4.2. Tableau récapitulatif des principaux polymorphismes de la TPMT .(32).....	66
2.5. Rôle de la TPMT dans le métabolisme des médicaments dérivés de la thiopurine (33).....	68
2.6. Implication du polymorphisme de la TPMT	69
2.7. Génotypage de la TPMT	70
2.7.1. Intérêt du génotypage de la TPMT.....	70
2.7.2. Principe du génotypage de la TPMT	71
2.7.3. Un exemple d'application : Recherche de la mutation 460	79
2.7.3.3. Interprétation des résultats du SNP 460	81
2.7.4. Validation de la méthode.....	83
3. Rapport qualité sur le génotypage de la TPMT	84
3.1. Kalilab (40) et (41).....	86
3.1.1. Présentation du logiciel et intérêts pour les HCL.....	86
3.1.2. Structure et fonctionnement du logiciel	87
3.2. Rapport Qualité	94
3.2.1. Difficultés rencontrées	94
3.2.2. Analyse des points positifs et négatifs selon la méthode des 5M	95
3.3. Rapport qualité sur l'ensemble de cette méthode.....	99
3.3.2. Phase analytique	101
3.3.3. Phase post-analytique	103
4. Conclusion.....	Erreur ! Signet non défini.

5. Bibliographie.....	107
6. ANNEXES.....	111
6.1 Annexe 1 : Plan de l'UF 21 329.....	111
6.2 Annexe 2 : Protocole pour la réalisation du génotypage de la TPMT, ici pour sept patients. Source HEH	112

Liste des figures

-Figure 1 : Perception qualité, source : http://www.has-santé.fr/portail/jcms/c_436583/principes-de-mise-en-œuvre-d-une-demarche-qualite-en-etablissement-de-sante

-Figure 2 : Approche processus verticale, source : http://fr.wikiversitu.org/wiki/Système_de_management_de_la_qualite/L'approche_processus

-Figure 3 : Approche processus transversale, source : http://fr.wikiversitu.org/wiki/Système_de_management_de_la_qualite/L'approche_processus

-Figure 4 : Cartographie des processus, source : [http://www.has-sante.fr.fr/portail/jcms/c_43583 principes-de-mise-en-œuvre-d-une-demarche-qualite-en-etablissement-de-sante](http://www.has-sante.fr.fr/portail/jcms/c_43583_principes-de-mise-en-œuvre-d-une-demarche-qualite-en-etablissement-de-sante)

-Figure 5 : Schéma de la Roue de Deming, source : <http://www.mriconseil.org/qualite.htm>

-Figure 6 : Pyramide du système documentaire, source : <http://www.bivi.qualite.afnor.org/layout/set/print/ofm/certification-iso-9000/ii/ii-40>

-Figure 7 : Plan de l'Hôpital Edouard Herriot, source : http://www.chu-lyon.fr/web//attached_file/componentId/kmelia16/attachmentId/24009/lang/fr/name/Plan%20interne%20HEH.pdf

-Figure 8 : Processus de fonctionnement du laboratoire de pharmacologie spécialisée

-Figure 9 : Structure chimique de la mercaptopurine et de l'azathioprine, source: pharmagkb.org

-Figure 10 : Les principaux variants alléliques de la TPMT (Krynetski et al, 2000)

-Figure 11: Métabolisme de l'azathioprine, source Pharmacomédicale.org

-Figure 12: Fréquence de répartition de l'activité du gène de la TPMT, source : nature.com

- Figure 13: schéma de la PCR, source ens-lyon

-Figure 14: Rendement et phases de la PCR, source: ROCHE, LightCycler® Real-Time PCR Systems

-Figure 15: Révélation de la PCR TPMT 238 du 25/10/2012, source personnelle

-Figures 16: Mécanisme d'action des sondes TaqMan « Vic » et « Fam », source : Applied Biosystem TaqMan® Genotyping Assays

-Figure 17: Mesure du cyle seuil, source site ilm

-Figure 18: Courbe de fusion, source ilm.

-Figures 19, 20, 21: Résultats informatiques du génotypage sur SNP 460 sur le Light Cycler TaqMan 480 II, source HEH

Liste des tableaux

Tableau 1: Structure de la Norme ISO 15 189

Tableau 2: Les différents polymorphismes de la TPMT

Tableau 3 : Protocole de Applied Biosystem pour l'utilisation des sondes TaqMan dans un thermocycleur

Tableau 4: Moyenne, écart type, coefficient de variation pour la validation de la SNP 460

Tableau 5: Liste des procédures écrites

Tableau 6: Liste des procédures transversales

Tableau 7: Liste des procédures de pharmacogénétique sur Kalilab

Tableau 8: QQQQCP pré-analytique

Tableau 9: QQQQCP analytique

Tableau 10 : QQQQCP post-analytique

Introduction

La pharmacogénétique est une application de la génétique qui vise à évaluer la manière dont un individu va distribuer, métaboliser et transporter un médicament. Elle étudie également l'effet d'un principe actif dans l'organisme grâce à son interaction avec des récepteurs spécifiques.

Ce domaine est en plein essor, ceci en relation avec le développement de la médecine personnalisée.

En effet, en présence d'une dose standard de médicament, certains individus vont s'éloigner de la réponse attendue, en présentant soit une diminution ou une absence d'efficacité, soit des effets indésirables ou une toxicité. En d'autres termes, il s'agit de la variabilité des réponses aux médicaments en fonction de la présence de polymorphisme génétique.

Mon travail, effectué au sein du laboratoire de pharmacologie spécialisée de l'hôpital Edouard Herriot, porte sur le gène qui code pour une protéine : la TPMT (Thiopurine S-Methyl Transférase). Cette protéine est impliquée dans le métabolisme de médicaments thiopuriques, notamment utilisés en tant qu'immunosuppresseurs.

Le nombre croissant d'analyses des gènes a entraîné l'acquisition d'un nouvel appareil, le Light Cycler 480 II. Ce dernier permet de traiter un grand nombre d'échantillons, grâce à la réalisation d'une PCR en temps réel.

En conformité avec les normes faisant référence dans les laboratoires de biologies médicales (ISO 15 189 et GBEA), la mise en place ou le transfert d'une méthode analytique doit être validée.

Jusqu'à présent, l'application par un laboratoire de biologie médicale (LBM) de la norme ISO 15189 était volontaire. Mais la loi HPST (Hôpital, Patient, Santé, Territoires), du 21 juillet 2009, prévoit de rendre obligatoire l'accréditation ISO 15189 des LBM, afin de garantir la qualité des examens de biologie médicale. A partir de novembre 2016, tous les LBM devront être accrédités ISO 15189 pour 50% de leurs analyses, pour pouvoir exercer leurs activités. C'est pourquoi il m'a été demandé un état des lieux du système qualité du laboratoire de pharmacologie spécialisée afin de faciliter une mise en conformité future.

Je me suis donc impliqué plus particulièrement dans l'environnement qualité autour de la méthode de génotypage de la TPMT pour s'assurer qu'elle était entièrement conforme au référentiel ISO 15189.

Dans cette thèse, je présenterai tout d'abord les généralités concernant la qualité et plus particulièrement celles concernant la qualité dans un laboratoire de biologie médicale. Puis, nous nous pencherons sur la physiopathologie de la TPMT et son analyse au sein du laboratoire de pharmacologie spécialisée de l'hôpital Edouard Herriot.

Enfin, la dernière partie sera consacrée à l'analyse qualité du laboratoire de pharmacologie spécialisée et plus spécialement de la méthode d'analyse concernant la Thiopurine S-Methyl Transferase.

En raison de l'évolution constante du système qualité, il convient de préciser que cet audit interne a été réalisé du 1 octobre 2012 au 30 mars 2013.

1. L'environnement Qualité à l'hôpital

1.1. La qualité

1.1.1. Définition

La qualité est définie comme l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences. En d'autres termes, c'est le degré de satisfaction des attentes négociées avec la clientèle ciblée. (1)

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a adapté cette définition au secteur de la santé. Ainsi, dans le milieu médical, la qualité correspond à « délivrer à chaque patient l'assortiment d'actes diagnostiques et thérapeutiques qui lui assurera le meilleur résultat en terme de santé, conformément à l'état actuel de la science médicale, au meilleur coût, pour un même résultat, au moindre risque iatrogène ».

En pratique, la qualité peut être divisée en deux composantes :

- **Qualité externe** : elle correspond à la capacité du produit (ou du service) à satisfaire les attentes et les besoins des clients. Les bénéficiaires de la qualité externe sont les clients de l'organisme, de par la prise en compte de leurs exigences explicites et implicites.
- **Qualité interne** : elle correspond à la maîtrise et à l'amélioration de l'organisme. Elle comprend la mise en œuvre des moyens permettant de détecter et de limiter les non-conformités. La direction et les salariés de l'organisme bénéficient de cette démarche.

1.1.2. Perception de la qualité

Le lien entre les exigences du client et sa satisfaction comporte une part de subjectivité et implique de distinguer plusieurs types de qualités selon le point de vue du client (patient) et celui des professionnels.

- La **qualité attendue** par le client se construit autour de ses besoins mais aussi de son expérience antérieure du produit ou service.
- La **qualité perçue** est celle qu'expérimente le client. Elle dépend à la fois de la qualité attendue et de la qualité délivrée.
- La **qualité voulue** est formulée par l'entreprise sous forme de critères explicites à partir desquels il est possible d'apprécier la conformité de la qualité délivrée.
- La **qualité délivrée** est celle que reçoit réellement le client.

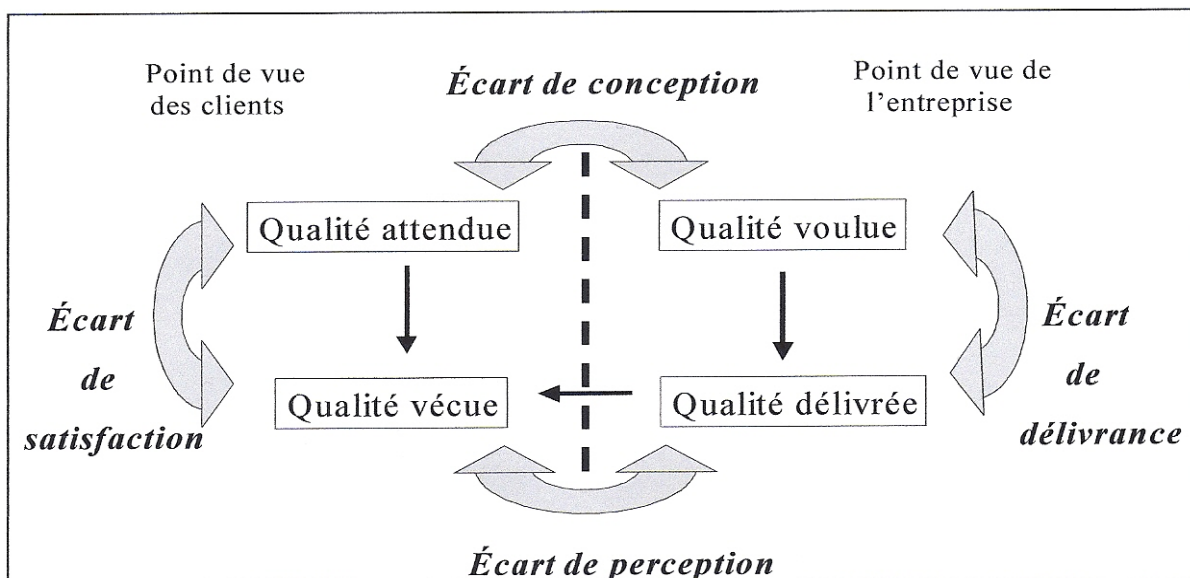


Figure 1 : Perception qualité.

Source : http://www.has-santé.fr/portail/jcms/c_436583/principes-de-mise-en-œuvre-d-une-demarche-qualite-en-etablissement-de-sante

1.1.3. Les enjeux de la qualité

Quatre enjeux sont clairement identifiés lorsqu'on parle de la notion de qualité. (2)

Le premier est un enjeu commercial. En effet, il convient de conquérir et fidéliser le marché en sécurisant sa fabrication ou ses prestations de services. Pour cela, il faut éliminer la non-qualité et fournir des produits adaptés au besoin. Ainsi, cela contribuera à améliorer l'image de marque de l'entreprise.

Le second enjeu est technique. La maîtrise de la qualité va permettre d'intégrer les progrès scientifiques des outils à disposition.

Le troisième est économique, puisqu'en éliminant le coût de la non qualité, les coûts de fonctionnement et par conséquent le prix de revient sont diminués.

Enfin, le dernier est un enjeu social et humain. Grâce à la mise en place d'un système de management de la qualité, l'individu va être valorisé dans le but d'accroître sa motivation.

1.1.4. L'approche processus

1.1.4.1. Définition

Le modèle de processus consiste à concevoir l'objectif de l'entreprise comme étant la fourniture de services conformes aux attentes des clients. Ainsi, l'entreprise est modélisée comme un ensemble de processus permettant d'identifier les besoins des clients et de les transformer en livrable : le produit ou le service. (1) L'approche processus désigne « l'application d'un système de processus au sein d'un organisme, ainsi que l'identification, les interactions et le management de ces processus en vue d'obtenir le résultat souhaité ». Le processus correspond à une activité, ou à un ensemble d'activités, qui utilise des ressources pour convertir des éléments d'entrée en éléments de sortie possédant une valeur ajoutée. Les processus sont inter corrélés dans la majeure partie des cas ce qui implique que l'élément de sortie d'un processus constitue souvent l'élément d'entrée du processus suivant. Un établissement de santé, comme toute entreprise, comporte un grand nombre de processus formant un réseau de processus interdépendants.

1.1.4.2. Passer d'une approche pyramidale à une approche processus

La majeure partie des organismes sont gérés sous la forme de direction pyramidale. Cette organisation classique fait circuler les objectifs de haut en bas, de façon verticale, ce qui limite les relations entre les différents services.

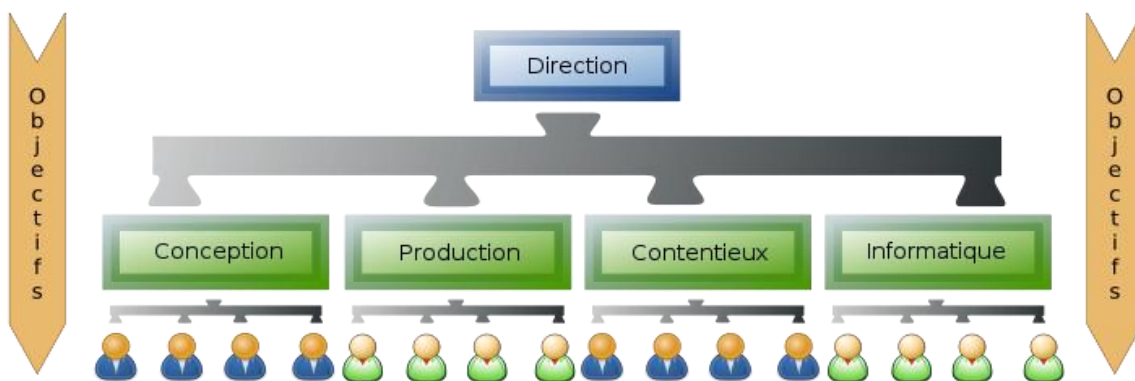


Figure 2 : Approche processus verticale

Source :

http://fr.wikiversity.org/wiki/Système_de_management_de_la_qualite/L'approche_processus

Pour mettre en place une approche processus, il est nécessaire de faire véhiculer les objectifs de manière transversale. Cette organisation transversale oriente l'organisme vers le client. L'organisme favorise donc l'implication de chacun des employés dans la réussite du projet et la satisfaction des clients.

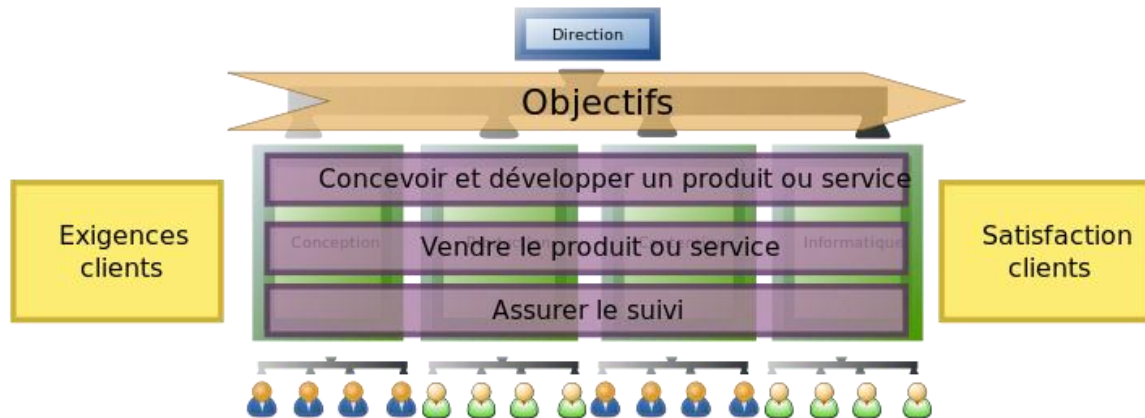


Figure 3 : Approche processus transversale

Source :

http://fr.wikiversitu.org/wiki/Système_de_management_de_la_qualite/L'approche_processus

L'identification et la formalisation des processus de l'entreprise consistent alors à repérer les différentes chaînes d'activité concourant à un objectif commun. Cette cartographie permet d'en avoir une vision d'ensemble et de représenter les interrelations existantes.

Le document FD X50-176 publié par l'AFNOR en juin 2000 détaille l'approche processus et définit trois familles de processus :

- **Processus de réalisation** : il correspond à la réalisation du produit ou du service et correspondant ainsi à l'activité métier de l'organisation.
- **Processus de support** : il représente une activité interne, généralement transversale, permettant d'assurer le bon fonctionnement de l'entreprise. Les processus de support sont généralement pour le client. Il peut s'agir par exemple de la gestion financière, de la gestion des ressources humaines, la formation...
- **Processus de management** : il correspond à la détermination d'une politique et d'une stratégie pour l'organisation et au pilotage des actions mises en œuvre pour atteindre ses objectifs. L'évaluation de ces actions fait également parti du processus de management.

1.1.4.3. La cartographie des processus

Etablir la cartographie des processus est une étape préalable, indispensable, non seulement pour faciliter les opérations mais aussi pour mieux cibler la démarche de progrès. C'est une manière graphique de représenter l'activité d'un organisme, ou d'une partie de celui-ci à partir du moment où il est capable d'identifier le client.

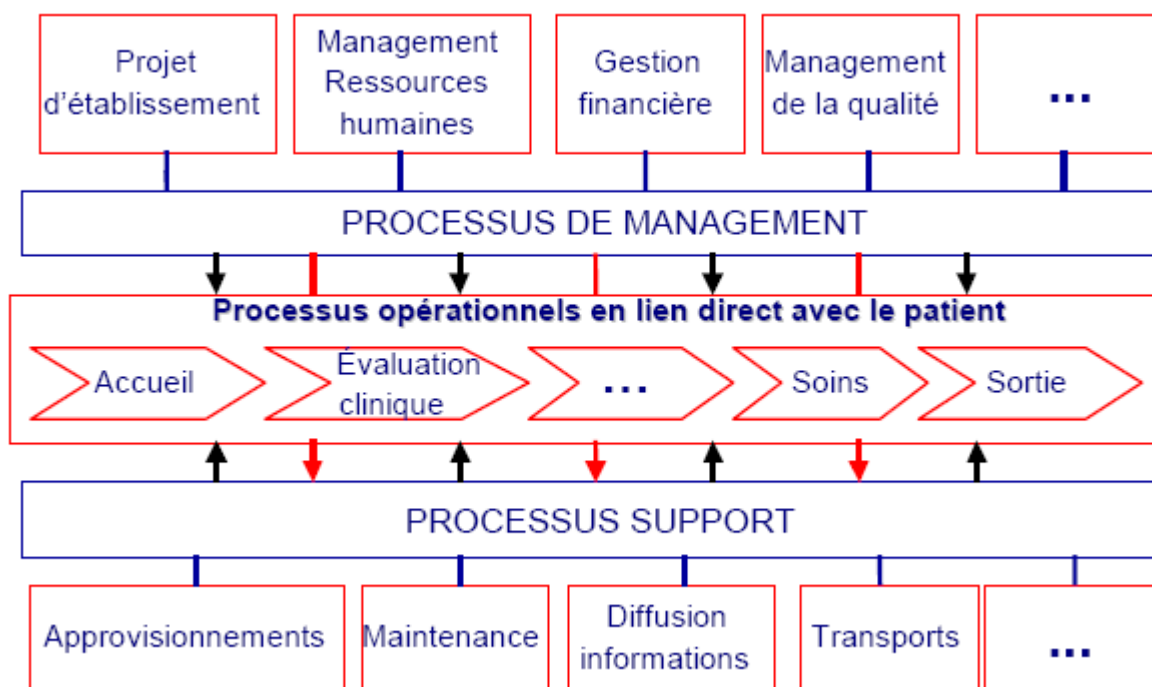


Figure 4 : Cartographie des processus,

Source : Thèse Gaillard M. ; Démarche Qualité à l'Hôpital

Il est important de cartographier les différents processus afin d'avoir une vision d'ensemble de l'organisme ainsi que des interrelations existantes. On place généralement les besoins sur la gauche et la satisfaction des clients sur la droite. Au centre, on retrouvera les processus de réalisation qui sont en contact direct avec le client et ses besoins. En partie inférieure, on trouve les processus de support et en partie supérieure, il y a les processus de management.

L'utilisation de la cartographie des processus est une démarche collaborative. Les principaux intéressés, les utilisateurs, sont aussi ceux qui détiennent l'expertise. Il est évident qu'ils participent à l'élaboration de la cartographie.

Effectivement, par une meilleure maîtrise des données, l'approche processus facilite le choix des orientations à prendre par la direction. Elle assure un contrôle efficace de ces orientations ainsi que des échanges entre les différents pilotes. L'identification de processus clés permet de prioriser les actions qualité, qui contribuent fortement à l'atteinte des objectifs. De

nombreux outils de suivi et d'analyse peuvent être utilisés à cette étape, afin de mesurer l'impact des actions qui seront effectuées.

Le moyen pratique de mettre en place cette démarche processus est appelé la « Roue de Deming » que nous aborderons ultérieurement (partie 1.1.6).

1.1.5. Les reconnaissances qualité

Il existe différentes reconnaissances en matière de qualité. Cela dépend du niveau d'implication de l'entreprise ainsi que de l'organisme qui reconnaît/approuve l'engagement qualité. Il me paraissait donc nécessaire de donner quelques précisions quant à ces appellations.

Accréditation : L'accréditation est une reconnaissance par un organisme tiers de la compétence d'une organisation (entreprise, ONG, etc.) dans un domaine donné. L'accréditation peut être une démarche volontaire, pour mettre en valeur sa compétence ou une obligation dans le cadre de certaines réglementations. L'accréditation s'appuie sur un référentiel normatif définissant des exigences en termes de système qualité et de compétence technique. (3)

Certification : C'est une procédure destinée à faire valider, par un organisme agréé indépendant, la conformité du système qualité d'une organisation aux normes ISO ou à un référentiel de qualité officiellement reconnu.

La certification donne aux cocontractants et au public, l'assurance qu'un produit, un processus ou un service sont conformes à des exigences de qualité déterminées et que l'organisation certifiée respecte ce système qualité lorsque l'organisme a effectué sa validation. (4) En ce qui concerne le milieu médical, l'accréditation concerne les laboratoires de biologie médicale tandis que la certification concerne les établissements de santé.

Accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale :

Il s'agit d'une démarche visant à garantir la qualité des laboratoires, fondée sur les normes européennes ISO 15189 et ISO 22870. L'accréditation des laboratoires de biologie médicale (LBM) est obligatoire depuis le vote de la loi « Hôpital, patients, santé, territoires » (2009). Le Comité français d'accréditation (COFRAC) est chargé de la mise en œuvre de la procédure.

Nous approfondirons cet aspect réglementaire ultérieurement (partie 1.2.3).

Liens entre accréditation des LBM et certification des établissements de santé (5)

La certification est une procédure d'évaluation externe, mise en œuvre par la HAS (Haute Autorité de Santé) et menée par des experts-visiteurs mandatés par celle-ci. Cette évaluation porte sur le fonctionnement et les pratiques des établissements de santé français. Dans le cadre de cette démarche, des documents relatifs à l'accréditation des LBM sont communiqués à la HAS ;

- avant la visite de certification, l'établissement de santé doit indiquer aux experts-visiteurs s'il dispose d'un LBM. Si tel est le cas, il doit préciser le niveau d'engagement de son laboratoire dans la démarche d'accréditation ;
- le Cofrac transmet à la HAS les décisions d'accréditation, de suspension ou de retrait d'accréditation des LBM qu'il a audité.

1.1.6. Les systèmes de management de la qualité

Améliorer la qualité des soins constitue un objectif qui, même s'il contribue à remettre perpétuellement en cause les savoirs, rassemble les acteurs hospitaliers. De plus, les professionnels de soins restent avant tout des experts dont le principe d'excellence auquel ils se réfèrent est la maîtrise des techniques de soins et d'analyses. Les équipes de direction sont pour leur part attachées au respect des règles de fonctionnement internes à l'hôpital ; la qualité relevant essentiellement à leurs yeux de la conformité à des normes de sécurité ou à des règlements intérieurs. (6)

La mise en place du management de la qualité au sein d'un service hospitalier oblige à une analyse de l'organisation existante et à la redéfinition précise de toutes les fonctions, procédures et processus ayant une incidence sur la qualité du produit ou du service. Ce travail est moteur d'évolutions structurelles et d'innovations techniques au niveau du processus du service rendu. À l'augmentation de la qualité du service, s'ajoutent un gain de productivité sensible, une maîtrise des coûts, une plus grande satisfaction des usagers ainsi qu'une nouvelle motivation du personnel. Contre l'idée reçue stipulant que la qualité « coûte cher », les hôpitaux qui déploient une politique qualité démontrent chaque jour qu'ils sont plus rentables.

Dans un contexte industriel, le management de la qualité constitue aujourd'hui l'arme maîtresse pour les industries les plus performantes : moins de ressource nécessaire à la production, moins de stock, moins de gaspillage, moins de défaut dans l'exploitation dont les reprises coûtent toujours très cher, mais aussi plus de flexibilité, plus de productivité, plus de

rapidité à réagir aux problèmes. Bien sûr, la mise en place d'un système qualité est longue et représente un investissement, mais elle est très vite rentabilisée et devient même une source de profit.

C'est pourquoi, ces mêmes systèmes de management sont applicables au milieu hospitalier dans lequel ils ont été mis en place et ils s'articulent autour de huit principes :

- 1) L'orientation client

La satisfaction des clients est la base même de tout système de management de la qualité. L'écoute et la compréhension de leurs besoins, présents et futurs sont indispensables pour satisfaire leurs exigences et aller au-devant de leurs attentes. L'orientation client se traduit par la mise en place d'un véritable processus de communication avec eux, une analyse prospective de leur besoin, une évaluation régulière de leur niveau de satisfaction et le traitement de leurs réclamations.

Dans le cadre du milieu hospitalier, cette orientation client va se traduire par un service d'excellence rendu au patient.

- 2) Le leadership

Dans tout système de management de la qualité, la direction doit déterminer clairement ses orientations stratégiques et créer les conditions afin que le personnel puisse pleinement s'impliquer. Pour cela, elle doit montrer l'exemple et son réel engagement, définir des objectifs motivants et créer des valeurs partagées.

- 3) L'implication du personnel

Le personnel est le cœur même d'une entreprise ou d'un service et l'un des principaux maillons pour tout système de management de la qualité. Pour avoir un fonctionnement optimal, l'organisme doit obtenir une adhésion et une implication de chacun, suivant ses aptitudes afin qu'il ait ses responsabilités et un rôle à jouer. Les compétences doivent être optimisées et canalisées afin d'atteindre les objectifs désirés. En cela, le partage des compétences et des connaissances apparaît comme un moyen d'adhésion du personnel.

- 4) L'approche processus

Cette approche consiste, entre autre, à déterminer les processus de l'entreprise, leurs interactions et des critères de surveillance. Sur cette base, il sera possible de piloter chaque processus, d'analyser leurs performances, de faire des propositions d'amélioration et de les mettre en œuvre afin de contribuer aux objectifs stratégiques.

- 5) Le management de la qualité par approche système

Les systèmes de management de la qualité (SMQ) peuvent être appliqués à tous les secteurs d'activités. Ainsi, les organismes sont considérés comme des systèmes eux-mêmes composés de sous-systèmes. A chaque activité est associé un processus avec ses éléments d'entrée et de sortie. Ce principe permet de clarifier le fonctionnement de l'entreprise ou du service, de mettre à jour et de supprimer les activités « doublons » et les zones d'ombres, souvent sources de dysfonctionnements.

- 6) Développer des relations mutuellement bénéfiques avec les fournisseurs

Une entreprise et ses fournisseurs sont interdépendants et des relations mutuellement bénéfiques permettront d'augmenter leurs capacités à créer de la valeur. Pour cela, il est nécessaire de comprendre les intérêts des partenaires, de définir clairement leurs obligations et d'évaluer régulièrement leurs performances.

- 7) L'amélioration continue

La qualité atteinte à un certain moment ne doit jamais être considérée comme acquise. En effet, l'environnement d'un organisme est en constante évolution. L'amélioration continue consiste à analyser les résultats pour identifier les pistes d'amélioration. De nouveaux objectifs seront établis. Afin d'atteindre ces derniers, il faudra mettre en œuvre des actions d'améliorations. Cependant, l'évaluation périodique de ces actions doit être effectuée afin de vérifier leur efficacité.

L'amélioration continue doit être un objectif permanent de l'entreprise. Ce principe est souvent représenté par un cycle d'actions appelé « roue de Deming » ou cycle PDCA : Plan (Planifier, prévoir), Do (faire), Check (Vérifier), Act (Réagir).

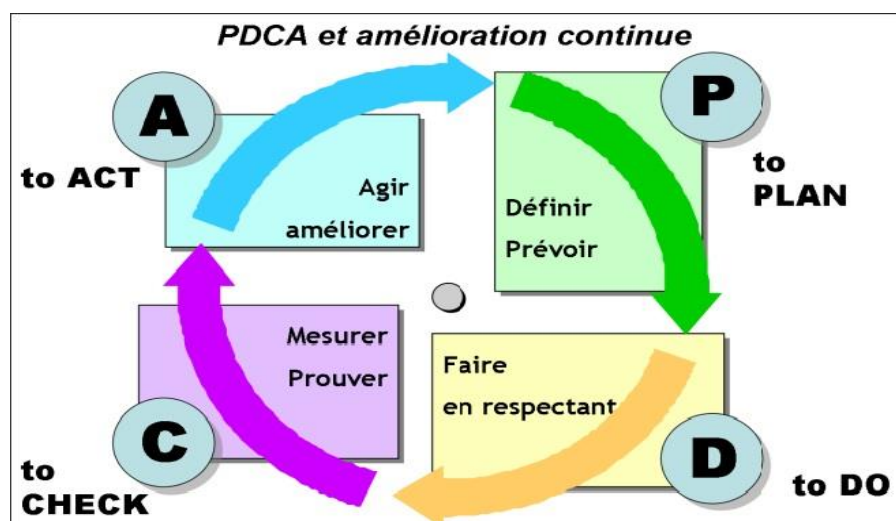


Figure 5 : Schéma de la roue de Deming, source : <http://www.mriconseil.org/qualite.htm>

- 8) L'approche factuelle pour la prise de décision

Toutes les décisions sont importantes pour une entité, elles doivent donc toutes être étudiées méthodiquement. Pour cela, il faut pouvoir s'appuyer sur des informations fiables. Ces informations doivent donc être disponibles et sous une forme permettant leur analyse et leur compréhension. Dans de nombreux cas, la mise en place d'indicateurs et de tableaux de bord pertinents permet de répondre à ce besoin et facilite la prise de décision. Pour l'entreprise, il en ressort des décisions avisées.

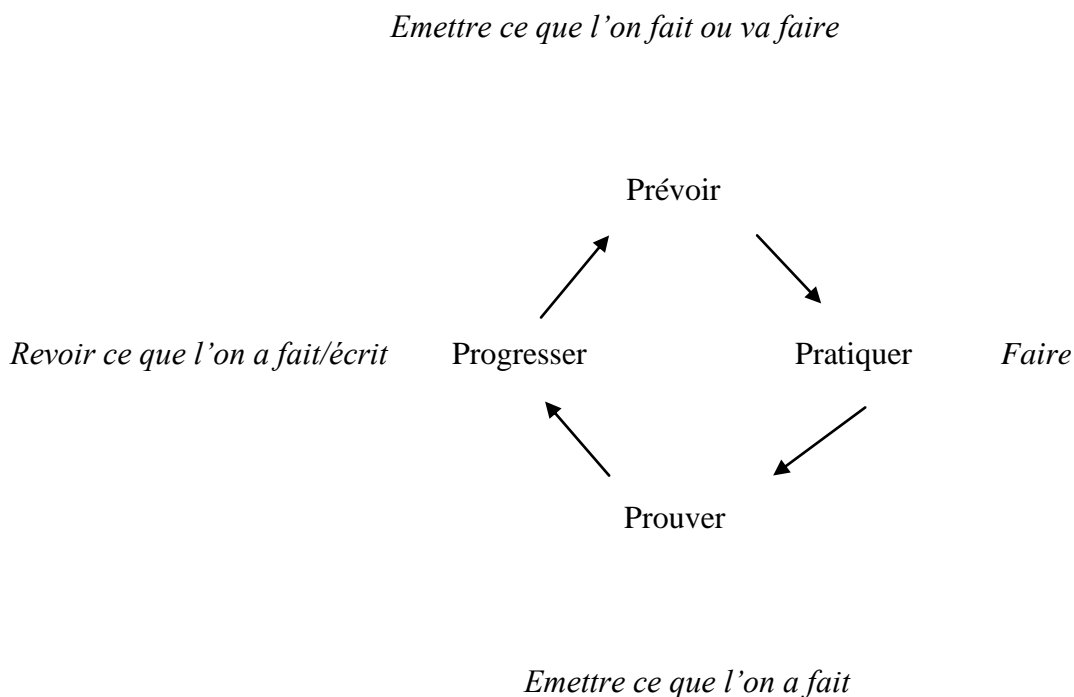
1.1.7. La documentation qualité

1.1.7.1. Structure du système documentaire

Dans un système qualité, la documentation est un élément essentiel. Elle constitue un support de communication permettant la cohérence des actions et une preuve objective. (7)

Elle permet également d'assurer la répétabilité et la traçabilité des actions menées.

Quatre principes ont été déterminés afin de couvrir l'ensemble des processus, c'est la règle des 4PR :



Le système documentaire est hiérarchisé, il comporte plusieurs types de documents. On schématise souvent la structure documentaire comme une pyramide à quatre niveaux. Cette présentation permet de visualiser l'architecture du système ainsi que le volume relatif pour chaque type de document.

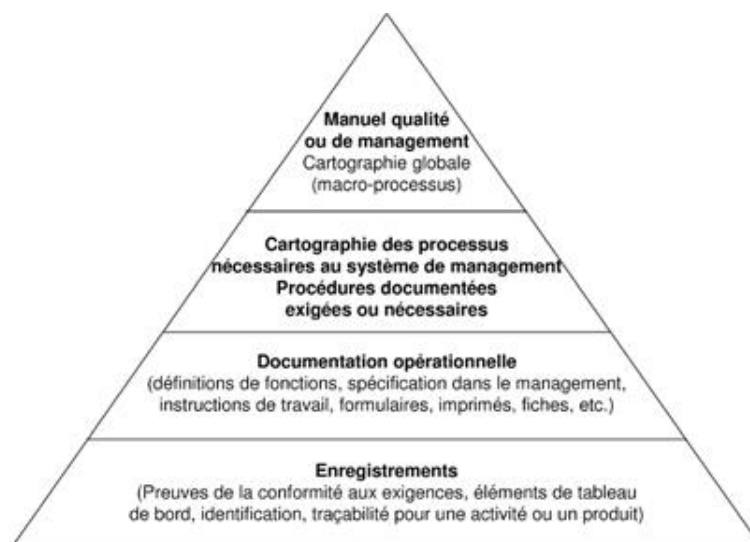


Figure 6 : Pyramide du système documentaire

source : <http://www.bivi.qualite.afnor.org/layout/set/print/ofm/certification-iso-9000/ii/ii-40>

Le Manuel Qualité (MAQ) : Ce document représente la « clé de voûte » du Système de management de la qualité d'un organisme. Les processus sont décrits dans le MAQ. Ils aident à modéliser les activités de l'entité. En d'autres termes, les processus sont l'ensemble des activités corrélées ou interactives qui transforment, avec une valeur ajoutée, les éléments d'entrée en éléments de sortie.

Les procédures : Elles décrivent la manière spécifique d'effectuer une activité, ou un processus, et apportent les éléments pour mettre en œuvre les exigences du MAQ. Ce sont des recommandations écrites qui sont mises à la disposition du personnel pour l'exécution des tâches.

Les enregistrements : Ces documents font état de résultats obtenus ou apportant la preuve de la réalisation d'une activité.

NB : Ce schéma ne représente que la documentation interne de l'organisme.

1.1.7.2. La gestion de la documentation qualité

Afin de garantir le SMQ, il convient de maîtriser la documentation. Cette gestion permettra à l'organisme de fournir des documents pertinents et adaptés à la situation actuelle. Il convient donc que le personnel dispose de la bonne version du document.

Pour répondre à cet objectif, une approche méthodique est nécessaire afin de définir les « cycles de vie des documents » :

- Le document conceptualisé selon un modèle.
- La validation qui sera effectuée par une personne concernée dans la pratique.
- L'approbation.
- La diffusion pour le personnel usager.
- La mise à jour, qui devra être datée et signée.
- L'identification du document et de sa version.
- La non utilisation des documents non valides.
- La conservation et l'archivage

Le système documentaire est ainsi très complexe à maîtriser. Le temps entre la modification d'une activité et la réalisation d'une nouvelle procédure reste la principale difficulté, tant les étapes du cycle de vie des documents sont nombreuses.

1.2. Norme ISO 15 189

1.2.1 Présentation de la Norme

La norme EN ISO 15 189 spécifie les exigences de qualité propres aux laboratoires d'analyses de biologie médicale. Cette norme est destinée à être utilisée dans toutes les disciplines pratiquées par les LBM (Laboratoire de Biologie médicale). (8)

L'application de la norme ISO 15189 est donc fondamentale pour les LBM car ils doivent satisfaire à la fois les besoins des patients et ceux des cliniciens responsables des soins prodigués.

Les services des LBM incluent le traitement des exigences, la préparation du patient, son identification, le prélèvement des échantillons, le transport, le stockage, le prétraitement et l'analyse d'échantillons biologiques, suivis de la validation des résultats, de leur interprétation, du compte rendu et du conseil, tout en assurant la sécurité du personnel et le respect de l'éthique.

L'ISO 15189 est fondée sur deux autres normes; l'ISO 17025 et sur l'ISO 9001. La version actuelle (ISO 15189 :2012) annule et remplace la version de 2007. Cette révision technique a permis d'aligner plus étroitement ses exigences avec la seconde édition de l'ISO 17025.

Le contexte réglementaire a été renforcé par la loi HPST (Hôpital, Patient, Santé, Territoires) du 21 juillet 2009 qui rend obligatoire l'accréditation des LBM selon la norme ISO 15189, afin garantir la qualité des examens de biologie médicale. A partir de novembre 2016, tous les LBM devront être accrédités ISO 15189 pour 50% de leurs analyses, pour 80% en 2018 et 100% en 2020.

Cette exigence concerne toutes les activités d'examens, et entre autres :

- Les LBM et les laboratoires de biologies médico-légales.
- Les structures réalisant des examens, portant sur des personnes ou des substances d'origine humaine, qui visent à apporter des informations utiles au diagnostic, à la prévention ou au traitement des maladies ou à l'état de santé d'êtres humains.

La norme ISO 15 189, version décembre 2012, possède une structure en deux parties :

Management	Technique
4.1 Responsabilité en matière d'organisation et de management	5.1 Personnel
4.2 Système de management de la qualité	5.2 Locaux et conditions environnementales
4.3 Maîtrise des documents	5.3 Matériel de laboratoires, réactifs et consommables
4.4 Contrats de prestations	5.4 Processus pré-analytique
4.5 Examens transmis à des laboratoires sous-traitants	5.5 Processus analytique
4.6 Services externes et approvisionnement	5.6 Garantie de la qualité des résultats
4.7 Prestations de conseils	5.7 Processus post-analytique
4.8 Traitement des réclamations	5.8 Compte rendu des résultats
4.9 Identification et maîtrise des non-conformités	5.9 Diffusion des résultats
4.10 Actions correctives	5.10 Gestion des informations de laboratoire
4.11 Actions préventives	
4.12 Amélioration continue	
4.13 Maîtrise des enregistrements	
4.14 Evaluation et audits	
4.15 Revue de direction	

Tableau 1 : Structure de la Norme ISO 15 189

1.2.2 Les points importants de la norme ISO 15 189 (10)

Chapitre 4 (11,12,13)

4.1 Responsabilité en matière d'organisation et de management

Une politique qualité doit être définie et déclarée dans le Manuel de Qualité signé par la Direction du laboratoire.

Le laboratoire doit définir les responsabilités du personnel à travers une matrice des compétences et un organigramme.

La Direction du laboratoire doit avoir la responsabilité du Système de Management de la Qualité (SMQ), par exemple :

- La mise en place de politiques et de procédures pour la confidentialité.
- La mise en place de plan de formation.
- L'établissement des processus de communication.

4.2 Système et management de la qualité

Le SMQ doit être documenté et communiqué à tout le personnel. La Direction doit s'assurer que les documents sont compris et mis en œuvre. La politique qualité inscrite dans le Manuel Qualité doit inclure l'engagement du laboratoire à se conformer aux bonnes pratiques et à la norme.

4.3 Maîtrise des documents

Il convient de définir, documenter et mettre à jour les procédures de maîtrise de tous les documents et informations. Un exemplaire de chacun des documents doit être archivé.

Seule la dernière version des documents doit être présente sur les lieux de travail, les documents annulés ou obsolètes sont retirés de tous les sites de diffusion et préservés d'une utilisation involontaire.

4.4 Contrats de prestations

A intervalles réguliers, le LABM doit revoir tous les contrats pour ses services aux clients pour s'assurer qu'il peut répondre aux exigences du contrat par rapport à des critères tels que la méthodologie, le délai de rendu des résultats, la disponibilité de l'avis d'un expert pour n'en citer que quelques-uns. Les rapports de ces revues doivent être archivés et conservés par le LABM particulièrement lorsque des écarts par rapport aux clauses du contrat surviennent. Les contrats ne sont pas nécessairement des documents formels entre le LABM et les services externes. Les contrats peuvent être verbaux et informels sous forme d'un accord qui doit être

alors codifié comme une politique. Par exemple, ce peut être un accord d'un LABM avec une équipe médicale dans un environnement hospitalier afin de respecter un certain délai de rendu de résultat pour les analyses provenant de services d'urgences ou de soins intensifs.

Par conséquent, les clients peuvent correspondre à différentes entités en fonction de l'opération réalisée par le LABM.

Exemple de clients potentiels pour un laboratoire hospitalier :

- Urgences
- Services d'infectiologie
- Soins intensifs
- Faculté de médecine (*si hospitalo-universitaire*)
- Équipe médicale
- Administration des soins
- Patients non-hospitalisés
- Pharmacie
- Radiologie
- Cliniciens référents
- Laboratoires de recherche (*si présents*)
- Fournisseurs/distributeurs

4.5 Examens transmis à des laboratoires sous-traitants

Si nécessaire les LBM sélectionnent les laboratoires sous-traitants (qui peuvent être définis comme des laboratoires fournissant un support analytique au LBM de première intention). Cette décision est prise en fonction des critères économiques et techniques. L'ISO 15189 exige spécifiquement que les LBM aient une procédure pour évaluer et sélectionner les laboratoires sous-traitants ainsi que les consultants qui fournissent une interprétation pour l'histopathologie et/ou la cytologie. Les LBM doivent également maîtriser la qualité de leurs sous-traitants. Ne sélectionner que des LBM qui travaillent sous un système d'assurance qualité certifié ou accrédité peut représenter le moyen idéal d'y parvenir. À côté de ceux-ci, le LBM peut soumettre des échantillons déjà analysés comme des échantillons inconnus, pour analyse et interprétation, par le laboratoire sous-traitant. Il peut également demander aux laboratoires sous-traitants de communiquer les résultats de programmes d'évaluation externe

de la qualité auxquels ils participent. Le LBM doit tenir à jour un registre de tous les laboratoires sous-traitants auxquels il a recours et un registre de toutes les analyses sous-traitées et de tous les résultats obtenus.

4.6 Services externes et approvisionnement

Le Manuel Qualité doit comporter un paragraphe sur les achats. Il doit exister des procédures et des critères de contrôle, de réception ou de rejet et de stockage des matériaux consommables. Il doit y avoir une traçabilité des contrôles. Les équipements doivent aussi faire l'objet d'une vérification avant utilisation.

4.7 Prestation de conseils

Les biologistes sont les seules personnes autorisés à interpréter et valider les résultats des analyses.

4.8 Traitement des réclamations

Les réclamations faites au LABM par les clients concernant l'équipe ou les services du LABM représentent une première opportunité pour identifier les faiblesses dans le système d'assurance qualité ainsi que les opportunités d'améliorations. Le LABM doit garder un enregistrement de la réclamation et cet enregistrement doit inclure la nature de la réclamation, la date de survenue, les individus impliqués, toutes les investigations entreprises pour sa résolution.

4.9 Identification et maîtrise des non-conformités

Le LABM doit mettre en place une politique et une procédure pour répondre à la gestion des cas de non-conformités.

Il faut définir les fonctions pouvant résoudre les problèmes et tracer la non-conformité sur l'enregistrement. Les actions correctives doivent être immédiatement entreprises. Chaque non-conformité est documentée et enregistrée afin de déceler des tendances et mettre en place des actions préventives. Il convient aussi de préciser comment le biologiste est informé des non-conformités au moment de la validation biologique.

4.10 Actions correctives

Les résultats de toutes les actions correctives entreprises doivent être surveillés afin de s'assurer de leur efficacité.

4.11 Actions préventives

Les améliorations nécessaires et les sources potentielles de non-conformité, doivent être identifiées. Si une action préventive est nécessaire, des plans d'actions doivent être élaborés, mis en œuvre, surveillés et évalués pour réduire la probabilité d'occurrence de ces non-conformités.

4.12 Amélioration continue

Toutes les procédures opérationnelles doivent faire l'objet d'une revue systématique à des intervalles réguliers. Des plans d'actions pour l'amélioration doivent être élaborés et mis en œuvre de façon appropriée. Pour cela, il convient de mettre en place des indicateurs qualité cohérents.

4.13 Maîtrise des enregistrements

Une procédure décrivant la gestion des enregistrements et de l'archivage doit exister, intégrant la notion de confidentialité des enregistrements. Les locaux doivent offrir un environnement adapté permettant d'éviter tout endommagement, détérioration, perte ou accès non autorisé.

Exemple d'enregistrement à fournir : température des réfrigérateurs, résultats de contrôles qualité, maintenances, résultats critiques téléphonés, plannings...

4.14 Evaluation et audits

Des audits internes de tous les éléments du système doivent être effectués à des intervalles définis (au moins une fois par an). En découleront des fiches d'actions d'amélioration et un suivi de la mise en place et de l'efficacité. Le personnel ne doit pas auditer ses propres activités.

4.15 Revue de direction

La Direction doit revoir le système qualité à intervalles réguliers, généralement annuellement, mais les intervalles peuvent être plus courts quand le système qualité est nouveau. Pour la Direction, l'utilité de cette revue pour la Direction est d'affirmer son niveau d'engagement pour le système qualité, durant les douze derniers mois, d'évaluer l'efficacité du système et de recommander des changements si nécessaire. Elle doit inclure la revue de toutes les non-conformités survenues durant l'année passée, les actions engagées, les mesures préventives

mises en place, les retours clients, les résultats de programmes de contrôle interne de qualité. Les résultats et actions engagées par la Direction du laboratoire émanant d'une revue annuelle sont documentés et deviennent un enregistrement qualité.

Chapitre 5 (11, 12, 14)

5.1 Personnel

Le LBM doit disposer de fonctions définies qui décrivent les qualifications et les responsabilités pour chaque catégorie de personnel. Pour chacun des membres du personnel, les diplômes, formations, qualifications, habilitations et expériences professionnelles doivent être conservés. Il convient que le directeur du laboratoire ou le personnel désigné pour chaque tâche dispose de la formation et de l'expérience appropriée pour pouvoir prendre en charge les tâches et les responsabilités qui incombent. Le personnel doit suivre une formation spécifique en assurance qualité et en management de la qualité pour les prestations proposées. En outre, un programme de formation continue doit être disponible pour toutes les catégories du personnel. La compétence de chaque membre du personnel pour remplir les tâches imparties doit être évaluée à l'issue de la formation puis périodiquement par la suite. De plus, le personnel doit signer une clause de confidentialité concernant les patients.

5.2 Locaux et conditions environnementales

La fiabilité et la fonctionnalité des ressources doivent être maintenues. Le laboratoire doit être conçu de manière à assurer l'efficacité de son fonctionnement, à optimiser le confort de ses occupants et à minimiser le risque de blessure et de maladie professionnelle. Une séparation efficace doit être mise en place entre les zones voisines où se déroulent des activités incompatibles. Des mesures doivent être prises pour éviter toute contamination croisée. Il convient de définir les conditions de nettoyage et d'entretien du laboratoire et de les enregistrer. Il doit y avoir également une traçabilité des formations du personnel d'entretien.

5.3 Matériel de laboratoire, réactifs et consommables

Il doit être démontré, lors de l'installation et au cours de l'utilisation courante, que le matériel est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications se rapportant aux analyses. De ce fait, un programme de surveillance régulière permettant de démontrer l'adéquation de l'étalonnage et du fonctionnement des instruments, des réactifs et des systèmes doit être mis en place. Des instructions actualisées sur l'utilisation et la maintenance du matériel doivent être disponibles pour le personnel du laboratoire.

La métrologie pour tout le matériel critique doit être évaluée. Les réactifs doivent être étiquetés et comporter les dates d'ouverture et de péremption.

5.4 Processus pré-analytiques

Des critères doivent être élaborés et documentés concernant l'acceptation ou le rejet des échantillons primaires. Si des échantillons primaires altérés sont acceptés, le compte rendu final doit indiquer la nature du problème et, le cas échéant, les réserves qui en résultent pour l'interprétation des résultats.

Chaque échantillon doit être accompagné d'une feuille de prescription contenant les informations nécessaires pour identifier le patient et le prescripteur autorisé.

Le laboratoire doit s'assurer que les échantillons ont été transportés en respectant les procédures adéquates (température, délai, sécurité de transport).

Des critères d'acceptation des échantillons primaires doivent être établis (NCPA : Non-conformité pré-analytique). Ces critères doivent être élaborés et documentés concernant l'acceptation ou le rejet des échantillons primaires. Si des échantillons primaires altérés sont acceptés, le compte rendu final doit indiquer la nature du problème et, le cas échéant, les réserves qui en résultent pour l'interprétation des résultats.

Tous les échantillons primaires doivent être enregistrés. Les aliquotes doivent également être traçables jusqu'à l'échantillon d'origine.

5.5 Processus analytiques

Les procédures analytiques conseillées sont celles qui ont été publiées dans des manuels établis et faisant autorité, dans des textes ou des journaux scientifiques revus par des experts ou des recommandations régionales, nationales ou internationales.

Toutes les procédures doivent être documentées et être disponibles au poste de travail du personnel concerné. Les procédures documentées et les instructions nécessaires doivent être disponibles dans une langue couramment comprise par le personnel du laboratoire.

Une liste courante des procédures analytiques courantes, incluant les exigences relatives aux échantillons primaires, les spécifications et les exigences d'exécution pertinentes, doit être mise à la disposition des utilisateurs des services du laboratoire à leur demande. Il faut vérifier ou valider les procédures analytiques selon le document COFRAC SH GTA 04.

5.6 Garantie de la qualité des résultats

Un programme de contrôle qualité interne doit être établi pour chaque technique, en définissant des règles de validation des contrôles (ex : règles de Westgard, critères d'acceptabilité...).

L'adhésion à un programme d'évaluation externe de la qualité (EEQ) est obligatoire. En cas de non disponibilité, des comparaisons inter laboratoire doivent être entreprises. A défaut, le laboratoire doit élaborer un mécanisme permettant de déterminer l'acceptabilité des procédures non évaluées par ailleurs. Dans la mesure du possible, ce mécanisme doit utiliser des matériaux provenant de sources externes telles que des échanges d'échantillons avec d'autres laboratoires. La direction du laboratoire doit surveiller les résultats de ce mécanisme de comparaison inter laboratoire et participer à la mise en œuvre et à l'enregistrement des actions correctives.

5.7 Processus postanalytiques

En France seul un biologiste médical est habilité à la validation biologique d'un résultat d'analyse médicale. Une procédure définit le mode de communication des résultats. La conservation post-analytiques des échantillons biologiques doit être précisée.

5.8 Compte rendu des résultats

En droit français, c'est le laboratoire qui a la responsabilité de communiquer les résultats. Il faut mettre en place des dispositifs de rendus des résultats en respectant le principe de confidentialité ainsi que les délais imposés. Des copies, ou les archives des résultats enregistrés, doivent être conservées par le laboratoire de manière à pouvoir retrouver rapidement les informations. Le compte rendu « sous réserve de validation » n'est plus possible dans la réglementation française. Un résultat ne peut plus être rendu avant validation biologique.

5.9 Diffusion des résultats

Le laboratoire doit établir des procédures documentées concernant la diffusion des résultats des examens, y compris le détail des expéditeurs et destinataires autorisés à diffuser les résultats.

Les résultats sont lisibles, ne présentent aucune erreur de transcription et sont diffusés aux personnes habilitées à recevoir et à utiliser les informations.

Si les résultats transmis sont provisoires, le compte-rendu définitif est toujours transmis au prescripteur.

5.10 Gestion des informations de laboratoire

Le laboratoire doit avoir accès aux données et informations nécessaires pour fournir un service qui réponde aux besoins et exigences de l'utilisateur.

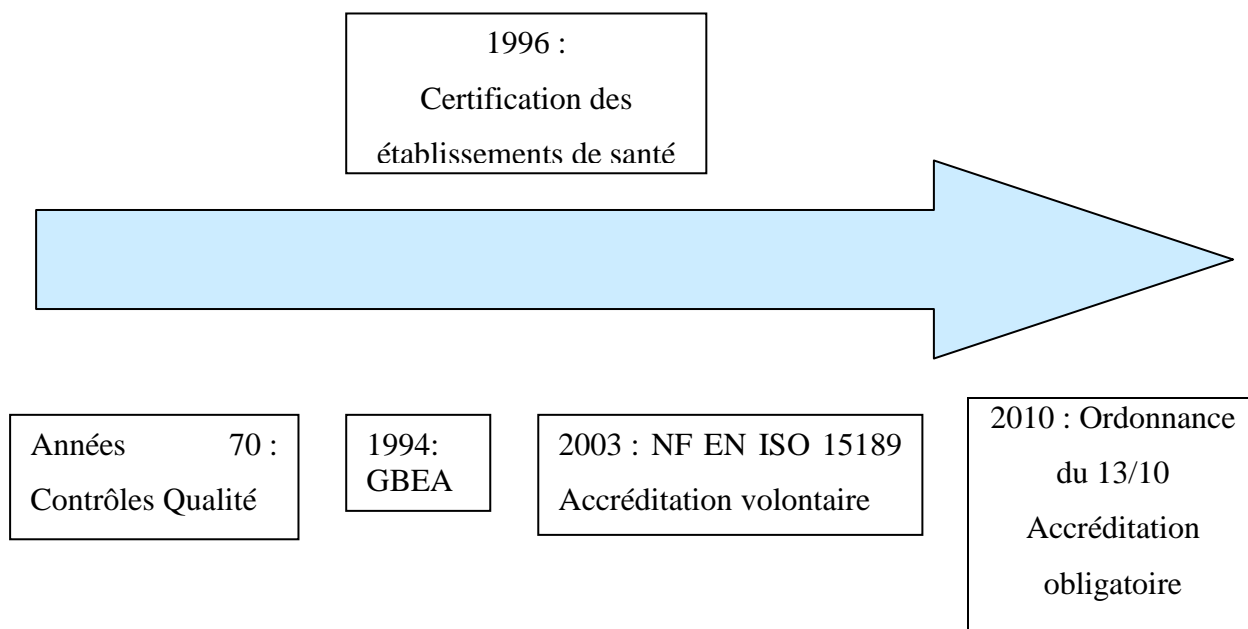
Le laboratoire doit disposer de procédures documentées pour garantir la confidentialité permanente des informations des patients.

Il doit garantir que les autorités et responsabilités concernant la gestion du système d'information sont définies, y compris la maintenance et la modification des systèmes d'information qui peuvent affecter les soins délivrés aux patients.

Le laboratoire doit définir les autorités et responsabilités de l'ensemble du personnel utilisant le système : en particulier les membres du personnel qui ont accès aux données et informations de patients, saisissent les données des patients et les résultats, modifient les données des patients ou les résultats, et autorisent la diffusion des résultats et des comptes-rendus.

1.2.3. Le contexte réglementaire et normatif

1.2.3.1. Evolution de l'assurance qualité en milieu hospitalier en France (15) :



1.2.3.2. Le GBEA (Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale)

C'est en 1994 qu'est paru l'arrêté ministériel réglementant la qualité des analyses et du fonctionnement des laboratoires de biologie médicale (16). Le Guide de bonne exécution des analyses (GBEA), dont une révision est parue en 1999 (arrêté du 26 novembre 1999, *JO* du 11 décembre 1999), complète une réglementation déjà abondante, constituée de textes spécifiques à la profession et de textes concernant l'ensemble de la santé (élimination des déchets, etc.). Il est aussi le fruit de l'adaptation de textes déjà rédigés dans le domaine de la qualité en biologie médicale, en particulier dans les pays anglo-saxons. Il prend en compte les caractéristiques de la biologie médicale française, en particulier la polyvalence des laboratoires et leur fonction de proximité. Le GBEA intègre les différences organisationnelles et fonctionnelles des laboratoires privés et des laboratoires des établissements publics de santé.

Le GBEA est donc un texte réglementaire, opposable à tous les laboratoires d'analyses médicales, publics et privés, régis par la loi de 1975 ou non. Il définit une ébauche de la mise en place d'un système d'assurance de qualité dans les laboratoires même s'il reste, sur ce dernier point, très évasif et peu directif.

Bien que rédigé initialement pour les laboratoires privés, il s'applique aussi à tous les laboratoires des établissements publics de santé. Compte tenu de la réglementation spécifique des établissements publics de santé (et privés participant au service public), les obligations visées par le GBEA sont opposables à l'établissement d'hospitalisation, en tenant compte des compétences et des responsabilités respectives du directeur de l'établissement, des instances délibératives et consultatives ainsi que des biologistes eux mêmes. Il revient à ces derniers la tâche de coordination et de vérification de la mise en œuvre et du suivi des actions relatives à l'assurance de qualité des actes de biologie médicale au sein de l'établissement. La parution du GBEA s'inscrit dans un contexte général de politique d'assurance de qualité qui implique tous les secteurs de l'économie (santé, formation, fonction publique...), prônant des principes d'évaluation et de standardisation des pratiques professionnelles.

Le GBEA est centré sur l'acte de biologie médicale. Il fait apparaître une responsabilité accrue des biologistes dans les activités pré-analytiques (conditions de prélèvement, transport des échantillons biologiques, organisation des centres de tri) et post-analytiques (élimination des déchets). Il fait du système d'assurance qualité un élément essentiel permettant de s'assurer que les procédures en vigueur sont écrites, vérifiées, approuvées, datées et mises en œuvre par le personnel. De plus, le GBEA demande clairement la mise en place d'un système

d'assurance qualité incluant la gestion des documents. Des contrôles sont effectués par les ARS (Agences Régionales de Santé). Si le GBEA n'est pas respecté, elles proposent des plans d'actions correctives, et peuvent donner lieu à des pénalités allant jusqu'à la fermeture temporaire ou définitive du laboratoire.

Enfin, il permet pour les laboratoires des établissements publics de soins, de se préparer aux exigences de l'accréditation de l'établissement demandée par la HAS, cette dernière étant chargée d'analyser les interfaces entre les services hospitaliers, garants de la qualité de l'offre de soins fournie au patient.

La simple application du GBEA ne suffit pas à répondre aux attentes de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale. Une nouvelle norme est apparue afin d'étoffer les exigences en matière de qualité, il s'agit de l'ISO 15189.

1.2.3.3. Contexte réglementaire (17)

Les analyses de génétiques, dont fait partie la pharmacogénétique, font l'objet en France d'une réglementation encadrée.

La réglementation de la génétique moléculaire en France tient ses fondements des lois cadres de bioéthique du 29 juillet 1994 et du 6 août 2004 :

- le décret du 23 juin 2000 relatif aux conditions de prescription et de réalisation des examens génétiques ;
- la loi Kouchner du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé ;
- la loi relative à la santé publique du 9 août 2004. L'ensemble de ces règles juridiques est rassemblé dans le code civil, le code pénal et le code de la santé publique.

A titre d'exemple, le consentement éclairé du patient et une attestation de consultation médicale sont les pièces préalables obligatoires avant réalisation de toute analyse génétique. De ce fait, un patient ne peut pas demander à titre personnel une analyse génétique directement à un LBM. Cela pose problème aujourd'hui car cette réglementation n'est pas applicable dans tous les pays. De plus, il se développe sur Internet des tests effectués pour convenance personnelle. Le problème majeur dans ce cas est le manque d'accompagnement médical lors de la prise de connaissance des résultats, ce qui peuvent avoir de lourdes conséquences sur le sujet. En effet, le rôle du conseil génétique est de transmettre une juste

information au patient, en différenciant bien le risque d'une certitude de celle d'une probabilité et de proposer une prise en charge éventuelle personnalisée et un suivi.

1.2.3.4. Contexte normatif

La biologie médicale est un élément central du parcours de soins des patients qui détermine environ 60% des diagnostics en ville et à l'hôpital. Les biologistes jouent un rôle de premier plan en dialogue avec les autres professionnels de santé. (18)

L'exercice de cette profession s'est considérablement modernisé. Plusieurs facteurs sont à l'origine de cette modernisation : les progrès techniques, l'exigence croissante de qualité et de traçabilité des résultats et l'évolution de la réglementation européenne. La mise en place d'une formation initiale et continue des professionnels, le respect de bonnes pratiques élaborées au niveau national et la mise en place d'une évaluation de la qualité des actes témoignent des efforts entrepris pour maintenir une biologie d'excellence sur le territoire français. C'est dans le but de poursuivre et de renforcer ces efforts qu'une proposition de loi a été émise.

Dans ce contexte, l'article 69 de la loi n°2009-879 du 21 juillet 2009 rend obligatoire l'accréditation des Laboratoires d'Analyses Médicales.

Elle a été précédée d'une longue période de réflexion initiée au milieu des années 2000. Un rapport de 2006 de l'Inspection générale des affaires sociales a, le premier, montré la nécessité de réformer la biologie médicale en constatant que malgré un niveau de qualité des examens globalement satisfaisant, il restait des insuffisances incompatibles avec les besoins en matière de santé publique.

Le rapport remis en septembre 2008 par M. Michel Ballereau à Mme Roselyne Bachelot-Narquin, alors ministre de la santé, a jeté les bases de la réforme actuelle. Il en a résulté l'article 69 de la loi n°2009-879, du 21 juillet 2009, portant sur la réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires, habilitant le Gouvernement à réformer le secteur. Cette ordonnance a été publiée le 13 janvier 2010 (18) mais n'a toujours pas été ratifiée à ce jour. De ce fait, elle n'a qu'une valeur réglementaire et peut donc être contestée devant le juge administratif (19).

C'est dans cette situation d'imbroglio juridique qu'une dernière proposition, datée du 19 décembre 2012, a été évoqué au Sénat lors de sa session ordinaire. Cette loi vise à mettre fin à cette situation confuse d'un point de vue législatif.

Il me paraissait important de résumer cette proposition :

L'Art.1 propose la ratification de l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. (20)

L'Art.2 permet le rattachement à une même section de l'Ordre National des Pharmaciens de tous les pharmaciens biologistes.

L'Art.3 précise la définition de l'examen de biologie médicale.

L'Art.4 sécurise le déroulement de la phase pré-analytique de l'examen de biologie médicale, en encadrant l'exercice des professionnels autorisés à y participer.

L'Art.5 en cohérence avec le fait que la biologie est une discipline médicale et non technique, met fin à la pratique des dérogations aux règles de tarification des actes de droit commun, dites « ristournes », hors coopération entre établissements.

L'Art.6 encadre, dans les centres hospitaliers universitaires, le recrutement dans une discipline biologique de professeurs des universités praticiens hospitaliers et maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers non titulaires du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale.

L'Art.7 vise la qualité des examens biomédicaux. Il procède en premier lieu à des ajustements de l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale en divers points. En outre, il fixe un double objectif relatif à l'accréditation des laboratoires, qui permet de s'assurer que ces derniers ont mis en place une organisation optimale et sont titulaires d'une compétence prouvée pour la réalisation des examens : **à compter du 1^{er} novembre 2016, les laboratoires de biologie ne pourront fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur 50% de leurs examens. A compter du 1^{er} novembre 2018, les laboratoires ne pourront fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur 80% de leurs examens.**

L'Art.8 vise à freiner la financiarisation du secteur, en rétablissant le principe d'une détention majoritaire du capital des sociétés d'exercice libéral par les biologistes au sein de cette société.

L'Art.9 vise à renforcer le rôle des agences régionales de santé dans la régulation de l'offre de biologie médicale sur les territoires dont elles ont la charge afin de garantir le maintien d'une biologie de proximité.

En somme, cette loi vise à :

- harmoniser les dispositions applicables aux laboratoires de biologie médicale publics et privés.
- mieux garantir la qualité des examens de biologie médicale, notamment en mettant en place une procédure d'accréditation des laboratoires.
- définir les missions du biologiste, du laboratoire de biologie médicale et du personnel technique dans le cadre du parcours de soins du patient, en assurant l'efficacité des dépenses de santé.
- instituer les mesures permettant d'assurer la pérennité de l'offre de biologie médicale dans le cadre de l'organisation territoriale de l'offre de soins.
- éviter les conflits d'intérêts et garantir l'autorité du biologiste responsable sur l'activité du laboratoire.
- adapter les missions et prérogatives des agents habilités à effectuer l'inspection des laboratoires de biologie médicale.
- adapter le régime des sanctions administratives et pénales.

L'objectif de la loi HPST consiste à intégrer totalement la biologie médicale dans le parcours de soins, en partant du prélèvement jusqu'à la communication des résultats au prescripteur.

L'organisme compétent pour délivrer cette accréditation en France est le Comité Français pour l'Accréditation (COFRAC) et le référentiel support de l'accréditation est la norme NF EN ISO 15 189.

1.2.4. La certification des établissements santé

1.2.4.1. Les objectifs de la certification des établissements de santé

La certification, mise en œuvre par la Haute Autorité de Santé tous les quatre ans, est une procédure d'évaluation externe. Elle est obligatoire et intervient périodiquement tous les quatre ans.

Sur la base d'un référentiel élaboré par la Haute Autorité de Santé (le manuel de certification), elle a pour objectifs :

- La mise en place d'un système d'amélioration de la qualité et de la sécurité des soins.
- L'atteinte d'un niveau de qualité sur des critères jugés essentiels et qualifiés de pratiques exigibles prioritaires.

La mesure de niveau de qualité sur des éléments particuliers est un levier d'amélioration de la qualité ;

- elle complète l'analyse du système par des mesures de la qualité sur des domaines,
- elle permet de mesurer la cohérence entre la mise en place d'un système d'amélioration et la maîtrise de la qualité sur des points particuliers,
- elle correspond à une attente des pouvoirs publics et des usagers.

La certification n'établit pas un palmarès des hôpitaux ou cliniques. Elle ne note pas les professionnels de santé. Elle ne se substitue pas aux inspections et contrôles de sécurité sanitaire diligentés par la tutelle. Elle est une certification globale et non une certification de toutes les activités de l'établissement. Le rapport de certification est transmis à l'autorité de tutelle (Agence Régionale d'Hospitalisation, Agence Régionale de Santé) et est rendu public. Les contrats pluriannuels d'objectifs et de moyens signés par les établissements de santé et leur Agence Régionale d'Hospitalisation/Agence Régionale de Santé définissent des objectifs en matière de qualité et de sécurité des soins. Ils comportent également des engagements d'amélioration de la qualité et de la sécurité des soins qui font suite à la procédure de certification.

1.2.4.2. Les niveaux de certification (21)

La décision de certification peut comporter :

- des recommandations: ce sont des demandes formulées à l'établissement de progresser dans certains domaines,
- des réserves: constats d'insuffisances dans des domaines,
- des réserves majeures: constats d'insuffisances graves relatives aux exigences de qualité et de sécurité.

Les niveaux de certification sont les suivants :

-Certification sans recommandation :

La Haute Autorité de Santé encourage l'établissement de santé à poursuivre la dynamique engagée. La prochaine procédure de certification est fixée à échéance d'au plus quatre ans.

-Certification avec recommandation(s) : Au moins une recommandation

L'établissement doit mettre en œuvre les mesures préconisées. Il en fournit la preuve, soit dans le cadre de la procédure en cours, soit en prévision de la prochaine procédure à échéance d'au plus quatre ans.

-Certification avec réserve(s): Au moins une réserve (et éventuellement des recommandations)

Dans ce cas, trois à douze mois sont laissés à l'établissement pour produire un rapport de suivi sur les sujets concernés et apporter la preuve qu'il s'est amélioré sur ces points.

-Décision de surseoir à la certification = Réserve(s) majeure(s): Au moins une réserve majeure (et éventuellement des réserves et des recommandations)

L'établissement n'est pas certifié (d'où la dénomination « décision de surseoir »). Il ne le sera que s'il démontre au cours d'une visite de suivi, réalisée de trois à douze mois après la visite initiale, qu'il a significativement amélioré les points de dysfonctionnements constatés.

- Non certification :

Une décision de non certification est prise dès lorsqu'un établissement fait l'objet de plusieurs réserves majeures et réserves. Elle peut également être prise suite à une décision de surseoir à la certification pour un établissement qui n'aurait pas amélioré significativement à l'échéance fixée, les dysfonctionnements constatés. L'établissement n'est alors pas certifié. La Haute Autorité de Santé examine, avec la direction de l'établissement et la tutelle régionale, dans quels délais l'établissement concerné est susceptible de se réengager dans la démarche.

- L'accréditation partielle (21) :

Au départ, selon l'ordonnance du 13 janvier 2010 de la HPST, tous les laboratoires devaient présenter des preuves de leur implication dans la démarche d'accréditation avant le 31 octobre 2012. Cependant, cette ordonnance n'ayant toujours pas été ratifiée, la date a été repoussée à fin mai 2013. De plus, le COFRAC étant le seul organisme responsable de délivrance de l'accréditation, il a rapidement été débordé par le nombre de demandes.

Deux cas de figure se présentent :

1^{er} cas de figure, si le laboratoire n'a pas d'accréditation partielle :

Au plus tard, le 31 mai 2013, le laboratoire de biologie médicale adresse au COFRAC, par voie électronique ou postale, une demande d'accréditation partielle portant sur un ou plusieurs examens de biologie médicale, de la phase pré-analytique à la phase post-analytique réalisés sur au moins un site du laboratoire.

A cette demande est joint un dossier comprenant ;

- Le questionnaire de renseignement COFRAC.
- Un dossier de vérification de méthode portant sur une méthode quantitative ou sur une méthode qualitative.

- Une description du laboratoire incluant le descriptif du système documentaire.
- La preuve de l'abonnement à au moins un programme d'évaluation externe de la qualité auprès d'organismes d'évaluation externe de la qualité.
- Le manuel d'assurance qualité et le manuel de prélèvement.
- Un calendrier prévisionnel conduisant à une accréditation sur la totalité de son activité avant la date mentionnée au IV de l'article 7 de l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.

2^{ème} cas de figure, si le laboratoire possède déjà une accréditation partielle :

Au plus tard, le 31 mai 2013, le laboratoire de biologie médicale adresse au COFRAC, par voie électronique ou postale, une demande de vérification d'entrée effective dans la démarche d'accréditation incluant les éléments documentaires suivants :

- Une description du laboratoire incluant le descriptif du système documentaire.
- La preuve de l'abonnement à au moins un programme d'évaluation externe de la qualité auprès d'organismes d'évaluation externe de la qualité.
- Le manuel d'assurance qualité et le manuel de prélèvement.
- Un calendrier prévisionnel conduisant à une accréditation sur la totalité de son activité avant la date mentionnée au IV de l'article 7 de l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.

1.2.5. Le processus d'évaluation de l'accréditation (22) et (23)

L'évaluation consiste à s'assurer, par interview, consultation des documents et résultats des autocontrôles, que le laboratoire satisfait aux exigences de la norme. Attention, il est important d'être conscient qu'il existe certaines différences entre l'accréditation ISO 15189 et la certification d'autres normes (exemple : ISO 9001), par exemple :

- Ce n'est pas un organisme certificateur qui intervient mais le Comité Français d'Accréditation (COFRAC).
- L'équipe d'évaluateurs est composée d'auditeurs qualitatifs et d'experts techniques.

Dans le cadre de ce travail, c'est le LBMMS qui fait la demande d'accréditation et non chaque laboratoire intégré. En effet, le LBMMS regroupe tous les laboratoires de biologie et d'anapath des Hospices Civils de Lyon.

Nous allons détailler les différentes étapes du processus d'accréditation.

1) Premier contact avec le COFRAC :

Le laboratoire définit la portée d'accréditation ISO 15189 pour laquelle il souhaite être évalué.

2) Prise en compte de la documentation du COFRAC

Après lecture des documents, le laboratoire s'assure d'être en conformité avec les exigences générales et les recommandations spécifiques du COFRAC.

3) Demande officielle d'accréditation ISO 15189

Le laboratoire remplit les formulaires qui définissent notamment la portée exacte de sa demande. Le COFRAC examine alors la recevabilité de la demande en évaluant les documents fournis par le laboratoire liés à la validation des techniques utilisées. En cas d'avis favorable, c'est cet expert qui fera partie de l'équipe d'audit chargée de la réalisation de l'audit initial. Le COFRAC accuse officiellement réception de la demande et une convention est signée avec les LBM.

4) Préparation de l'audit d'accréditation

Le COFRAC propose au laboratoire une équipe d'audit (un auditeur qualitatif et un ou plusieurs experts techniques). Le laboratoire peut refuser tout ou une partie de l'équipe. Le responsable d'audit prépare l'audit sur la base du questionnaire retourné au COFRAC par le laboratoire.

5) L'audit

La mission d'audit dure trois à quatre semaines. Les non-conformités sont relevées. A l'issue de l'évaluation, le laboratoire doit se prononcer sur les actions correctives qu'il prévoit de mettre en œuvre. Dans le mois qui suit la fin de l'audit, le rapport accompagné le cas échéant des fiches de non-conformités ou de remarques, est envoyé simultanément au COFRAC et au laboratoire.

6) Décision

Sur la base de l'examen du rapport d'audit, la commission technique d'accréditation propose :

- soit l'accréditation sans restriction, soit l'accréditation avec actions correctives préalables

- soit un audit complémentaire
- soit le refus d'accréditation.

Le Directeur du Comité Français d'Accréditation notifie au laboratoire la décision proposée par la commission. Lorsque la décision est positive, ce dernier reçoit alors une attestation d'accréditation ISO 15189 qui décrit la portée exacte de son accréditation, accompagnée notamment d'un diplôme et de la charte d'utilisation de la marque « COFRAC ».

7) Ré-évaluation

Etant donné que l'erreur est humaine et que les techniques, ainsi que le matériel utilisé, sont en constante évolution, il convient de réaliser des cycles d'évaluation pour maintenir une accréditation.

Outre l'obligation pour le laboratoire de signaler tout changement d'organisation au COFRAC, il est régulièrement soumis à un suivi sous forme d'audits. Le premier cycle dure 4 ans et 9 mois. Un audit est réalisé à l'issue de la 1^{ère} année puis un tous les 18 mois. Les cycles suivants durent 5 ans après le dernier audit de renouvellement du 1^{er} cycle. Un audit est réalisé tous les 18 mois.

1.2.6. Les enjeux et les difficultés de l'accréditation ISO 15189 pour les laboratoires des hôpitaux publics

1.2.6.1. Les enjeux

Derrière la notion d'accréditation des laboratoires, se pose la question de l'optimisation des moyens. (24)

Cela permet de définir des objectifs précis comme :

- diminuer le prix de revient en réduisant les dysfonctionnements
- fiabiliser les contrôles et les processus
- améliorer les méthodes de travail
- faciliter l'intégration du nouveau personnel
- motiver le personnel autour d'un projet
- mieux piloter les processus et responsabiliser les équipes
- améliorer l'image du laboratoire
- intégrer les progrès scientifiques et techniques
- maîtriser les outils informatiques

Si le premier objectif de la procédure consiste en la mise en place d'une démarche qualité, prouvant le respect de la norme, les laboratoires publics doivent surtout faire face à un besoin d'efficacité économique. Une bonne gestion de l'organisation d'un laboratoire permet de réduire les coûts de fonctionnement. De plus, les méthodes qualité présentent l'avantage d'éviter les surcoûts liés à la « non qualité » (ex : la formation et habilitation du personnel réduisent les risques d'erreurs).

Cependant, se lancer dans une démarche qualité est une démarche coûteuse, c'est pourquoi une optimisation préalable de l'organisation doit être menée. En effet, la phase de conception du système qualité génère des coûts essentiellement humains. A titre d'exemple, on peut citer la définition des processus et la validation des méthodes analytiques.

Les coûts administratifs de la démarche auprès du COFRAC sont, quant à eux, moins significatifs.

D'un point de vue plus général, l'accréditation s'inscrit dans un contexte de mise en place des CHT (Communauté Hospitalière Territoire). (25)

Un objectif de santé publique concerne le maintien d'un maillage territorial serré pour assurer la proximité du patient, du clinicien et du biologiste tout au moins pour les étapes pré-analytiques et post-analytiques. L'étape analytique pourra être regroupée à distance dans le respect des délais de rendu adaptés et des contraintes réglementaires.

La loi n° 2009-879 du 21 juillet 2009 portant la réforme de l'hôpital relative aux patients, à la santé et aux territoires a placé les coopérations au cœur de son dispositif en mettant en avant deux outils : le groupement de coopération sanitaire (GCS), outil privilégié pour les coopérations public/privé et la communauté hospitalière de territoire (CHT), outil dédié aux coopérations public/public. Il s'agit d'une forme de coopération de type conventionnelle, c'est-à-dire que la CHT repose sur une convention conclue par les établissements publics de santé. Ces derniers établissent une stratégie commune en mutualisant leurs moyens afin d'améliorer leurs performances et d'accroître la qualité et la sécurité des soins qu'ils dispensent. Ces complémentarités au sein d'un même territoire doivent permettre de mieux répondre aux défis que doit relever, aujourd'hui, le secteur public hospitalier.

En pratique, la décision de constituer une CHT relève de l'initiative des établissements publics de santé. Elle peut également être impulsée par le directeur général d'une agence régionale de santé (ARS).

1.2.6.2. Difficultés à prévoir pour les laboratoires hospitaliers

Multidisciplinarité et spécialisation

Dans de nombreux hôpitaux, en particulier universitaires, la spécialisation importante a généré un cloisonnement des organisations. Ainsi, les processus, au sens qualité du terme, ont été individualisés de façon parallèle et hétérogène d'une spécialité biologique à l'autre. Cette situation complexifie considérablement la mise en place du laboratoire unique voulu par la réforme et freine l'installation d'une organisation qualité globale nécessaire à l'obtention de l'accréditation. Sans remettre en cause les compétences indispensables des spécialités, il est nécessaire de mieux coordonner leurs activités et de partager entre les structures spécialisées la part importante des processus qui leur est commune. Ceci concerne notamment la mutualisation du secteur pré-analytique, la mise en commun au sein du pôle de Biologie de l'ensemble des processus supports et du management de la qualité, ces deux points étant essentiels pour respecter les exigences de la norme.

1.3. Présentation de l'UF 21 329

1.3.1. Les Hospices Civils de Lyon (26)

Les Hospices Civils de Lyon (HCL) ont été créés en 1802, de la fusion de deux hôpitaux Lyonnais : L'Hôtel Dieu et l'Hôpital de la Charité, aujourd'hui tous deux fermés. Cet établissement public est aujourd'hui le deuxième Centre Hospitalo-universitaire français. Il est également le premier employeur de Rhône-Alpes avec plus de 23 000 professionnels dont près de 5000 professionnels médicaux. Son budget annuel est de 1,5 milliards d'euros et il compte environ 5400 lits.

Ils réunissent une quinzaine d'établissements, répartis en 6 groupements :

- Le Groupement Hospitalier Sud qui réunit le Centre Hospitalier Lyon Sud et L'Hôpital Henry Gabrielle.
- Le Groupement Hospitalier Nord avec l'Hôpital de la Croix Rousse.
- Le Groupement Hospitalier Est qui réunit l'Hôpital Louis Pradel, Pierre Wertheimer et Femme, Mère, Enfant
- Le Groupement Hospitalier Edouard Herriot
- Le Groupement Hospitalier de Gériatrie qui compte 4 hôpitaux : Pierre Garraud, Charpennes, Frédéric Dugoujon et Antoine Chariat.
- L'Hôpital Renée Sabran (à Hyères).

Les HCL sont également un centre de lutte contre le cancer de rang mondial et sont classés parmi les 25 meilleurs hôpitaux au monde. Ils représentent un établissement de référence pour les neurosciences, la génétique et les maladies rares notamment.

1.3.2. L'Hôpital Edouard Herriot

Situé à Lyon, 5 place d'Arsonval, il a été construit de 1913 à 1933, par l'architecte Tony Garnier. Une grande partie de l'hôpital fait l'objet d'une inscription au titre des monuments historiques. On y compte 698 lits d'hospitalisation complète, 78 lits d'hôpital de jour et 80 lits d'hôpital de nuit.

Berceau de nombreuses spécialités et innovations, l'Hôpital Edouard Herriot offre pratiquement toutes les spécialités médicales et chirurgicales avec des services phares: chirurgie orthopédique, transplantations et immunologie, chirurgie plastique et réparatrice, rhumatologie...

Il héberge également le SAMU, le Centre de médecine hyperbare et constitue le principal pôle d'accueil des urgences de l'agglomération lyonnaise. Son niveau d'activité justifie la présence d'un important plateau technique (radiologie, laboratoires, explorations fonctionnelles diverses...).

Un grand nombre d'activités sont réalisées au sein de l'hôpital Edouard Herriot :

- Activité de chirurgie
- Activité de chirurgie esthétique
- Activité de soins de suite et de réadaptation
- Transplantation d'organes et greffes de moelle osseuse
- Traitement des grands brûlés
- Accueil et traitement des urgences
- Réanimation
- Traitement de l'insuffisance rénale chronique par épuration extra rénale
- Traitement du cancer : Par chirurgie et par chimiothérapie
- Biologie: l'ensemble la biologie représentée par le LBMMS (laboratoire de biologie médicale multi-sites) des HCL (application de l'ordonnance portant réforme de la biologie) est dans la démarche d'accréditation depuis 24 mois, avec objectifs de démontrer, en 2013, que le secteur est effectivement entré dans cette démarche, et en 2016, que celui-ci est prêt pour l'accréditation globale.
- Pharmacie

Plan de l'Hôpital Edouard Herriot :

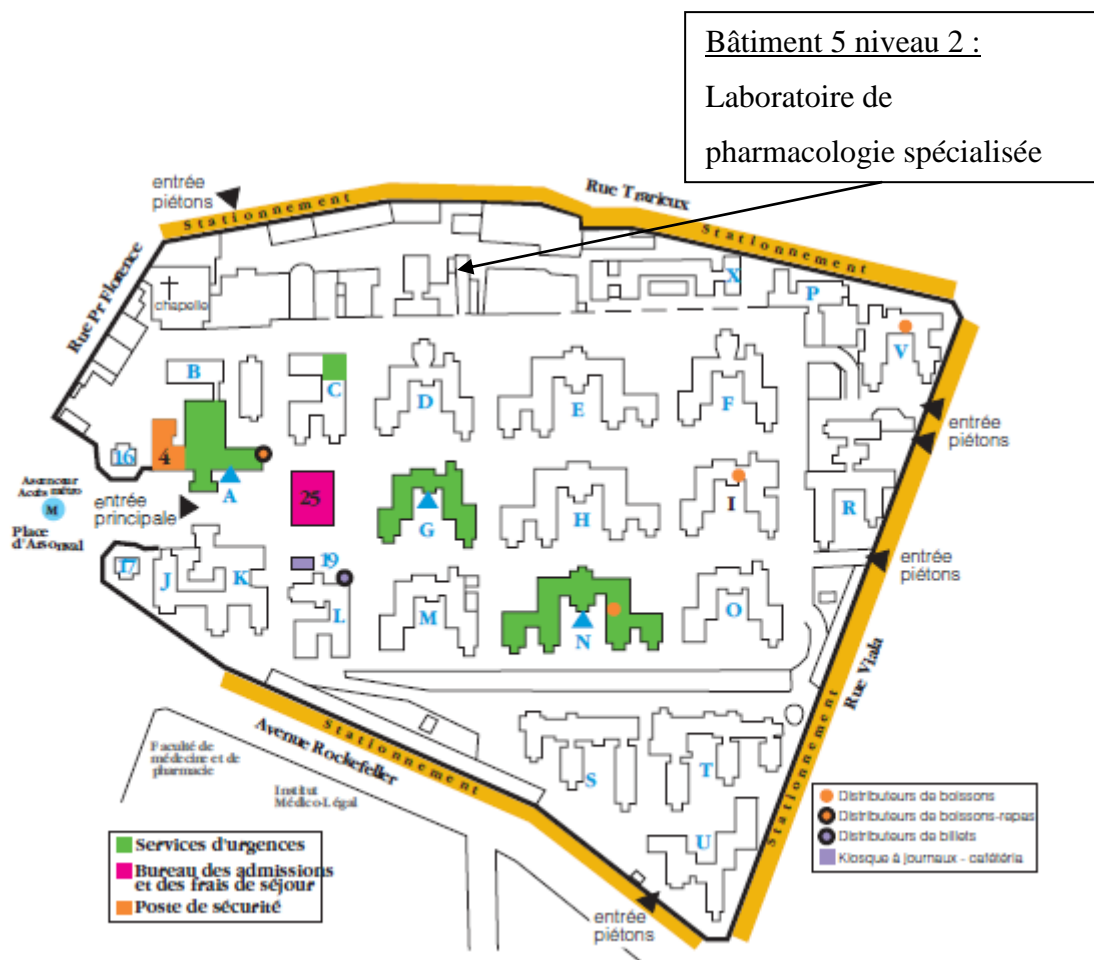


Figure 7 : Plan de l'Hôpital Edouard Herriot, source : http://www.chu-lyon.fr/web/attached_file/componentId/kmelia16/attachmentId/24009/lang/fr/name/Plan%20interne%20HEH.pdf

1.3.3. Organisation

Il existe 25 PAM (Pôle d'Activité Médical) à l'intérieur des HCL dont :

- Le PAM d'Information médicale évaluation recherche
- Le PAM de Pharmacie
- Le PAM de Santé, recherche, risques, et vigilance
- Le PAM de Biologie anatomie pathologique
- Le PAM d'Imagerie

Le PAM "Biologie et Anatomie Pathologie" dirigé par le Pr NEGRIER comprend les centres de biologie et pathologie de chaque Groupement Hospitalier :

- Groupement Hospitalier Nord
- Groupement Hospitalier Sud
- Groupement Hospitalier Est
- Groupement Hospitalier Edouard Herriot

A l'intérieur du Groupement Hospitalier Edouard Herriot, se trouve le laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, dans le bâtiment 5 dirigé par le Pr COHEN. Au sein de ce laboratoire se trouvent différentes Unités Fonctionnelles :

- L'UF 303 de Pharmaco-Toxico-Eléments Traces dirigée par le Dr MOULSMA
- L'UF 329 de Pharmacologie spécialisé dirigée par le Dr GAGNIEU
- L'UF 401 de Bilans Biochimiques d'Urgence et de Routine dirigée par le Dr BEYERLE
- UF 409 de Biologie Endocrinienne, Oncologie, Métabolisme osseux dirigée par le Pr COHEN
- L'UF 249 de Pathologie Moléculaire Hémoglobine dirigée par le Dr JOLY
- L'UF 459 de Pharmacocinétique Clinique dirigée par le Pr BOULIEU
- L'UF 585 d'Exploration Fonctionnelle Rénale dirigée par le Dr DUBOURG
- L'UF de Logistique Générale-Informatique-Qualité dirigée par le Dr JOLY

1.3.4. Le secteur de pharmacogénétique de l'Unité Fonctionnelle de pharmacogénétique (UF 21 329) (27)

Ce secteur assure la recherche de polymorphisme génétique de gènes dans la pharmacologie de certains médicaments.

Pour exemple, les champs d'actions peuvent être les suivants :

- Le séquençage du CYP2D6, qui est une enzyme hépatique clé dans l'élimination de certains médicaments comme les antidépresseurs, les neuroleptiques, les antiarythmiques et les antihypertenseurs.

-Génotypage de la TPMT, une protéine impliquée dans le métabolisme des dérivés thiopurines.

-Séquençage du CYP 3A4, cette enzyme est impliquée dans le métabolisme de certains anti-cancéreux, immunosuppresseurs, statines et anti-infectieux.

-Génotypage du CYP 2B6, qui est une enzyme hépatique clé dans l'élimination de certains médicaments comme le cyclophosphamide et l'Efavirenz.

-Séquençage de l'UGT1A1, une protéine qui est responsable de la glucurono-conjugaison de certains substrats endogènes tel que la bilirubine dont le déficit d'activité est responsable de la maladie de Gilbert et peut entraîner des modifications de la pharmacocinétique des médicaments substrat.

Tableau récapitulatif des gènes étudiés au sein du laboratoire de pharmacologie spécialisée :

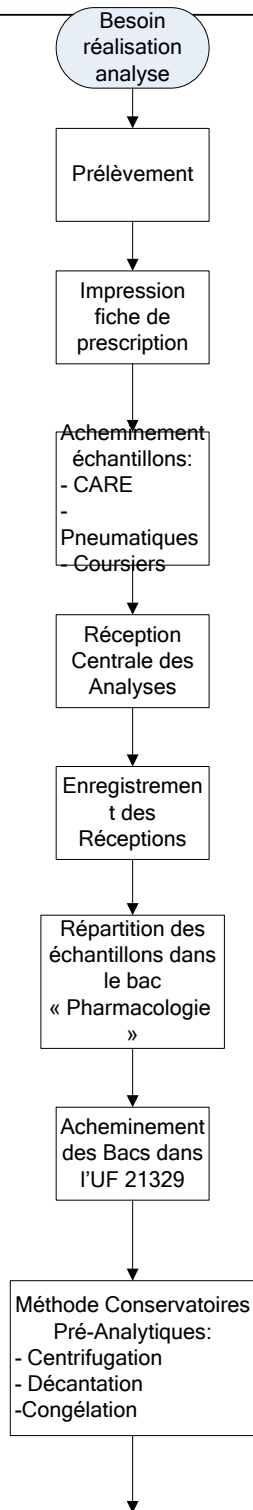
<u>Routine</u>	<u>Recherche</u>
CYP 3A4	UGT 2B7
CYP 3A5	MRP2
CYP 1A2	MRP4
PGP	UGT 1A9
UGT1A1	SLCO 1B1
CYP 2B6	
CYP 2D6	
CYP 2C9	
CYP 2C19	
VKORC1	
ITPA	
COMT	
OPRM1	
IL28b	

En parallèle de cette activité de pharmacogénétique, l'UF 21329 assure le suivi thérapeutique pharmacologique de nombreuses classes thérapeutiques dont :

- les antiviraux, anti-VIH ;VHC et VHB,
- les antituberculeux,
- certains anticancéreux comme l'Imatinib,
- les immunosuppresseurs,
- les antifongiques.

1.3.5. Du prélèvement à l'envoi des résultats de l'analyse

Processus de fonctionnement de l'Unité Fonctionnelle de Pharmacologie spécialisée
(1/2)



Processus de fonctionnement de l'Unité Fonctionnelle de Pharmacologie spécialisée
(2/2)

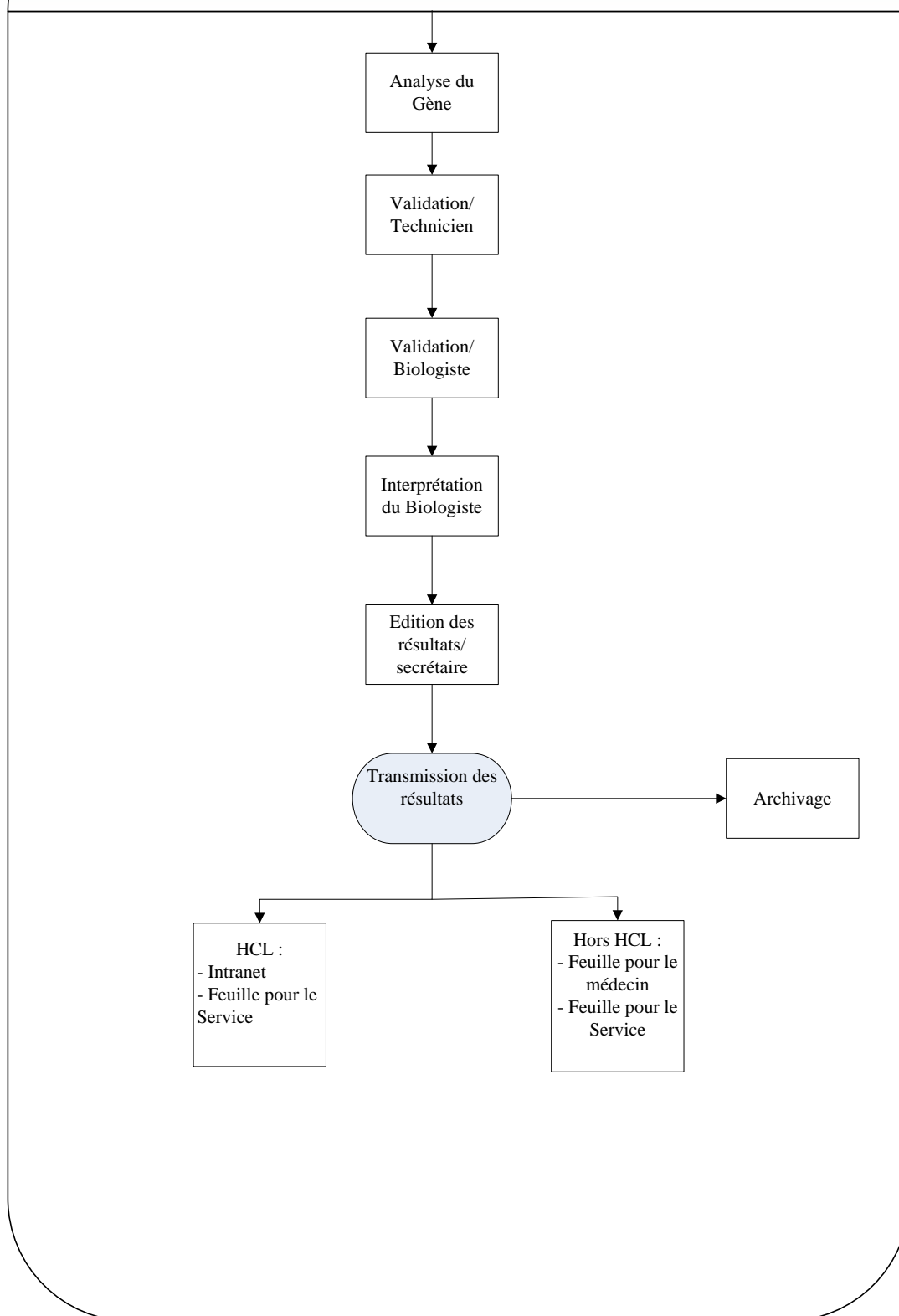


Figure 8 : Processus de fonctionnement du secteur de pharmacogénétique

1.3.6. La pharmacogénétique inscrite dans un contexte de Santé publique (28)

La pharmacogénétique est en plein essor, ceci en relation avec le développement de la médecine personnalisée. C'est une division de la pharmacologie. Elle étudie l'influence des polymorphismes génétiques sur la variabilité de la réponse à un traitement médicamenteux. En effet, en présence d'une dose standard de médicament, certains individus vont s'éloigner de la réponse attendue, en présentant soit une diminution ou une absence d'efficacité, soit des effets indésirables ou une toxicité. La pharmacogénétique est apparue pour répondre à l'étude des effets indésirables des médicaments qui seraient responsables de 100 000 décès par an : aux Etats-Unis, dont la moitié seulement correspondrait à un mauvais emploi ; et en France, dont 20% des malades admis dans un service d'urgence le sont pour ce type d'accident. C'est pour répondre à cette problématique que la pharmacogénétique s'est développée.

En pratique la pharmacogénétique vise à :

- identifier les sujets non-répondeurs à un médicament.
- identifier les sujets à risque de survenue d'un événement indésirable pour un médicament donné.
- prévoir la dose la plus adaptée à chaque individu pour un médicament donné.

Elle étudie :

D'une part, les gènes codant pour des protéines régulant les concentrations circulantes des médicaments dans l'organisme :

- les gènes codant pour des protéines contrôlant l'absorption des médicaments (transporteurs, enzymes).
- les gènes codant pour les enzymes du métabolisme des médicaments.
- les gènes codant pour des transporteurs contrôlant la diffusion des médicaments dans différents secteurs de l'organisme.
- les gènes codant pour des transporteurs responsables de la sécrétion rénale et biliaire des médicaments.

D'autre part, les gènes codant pour les cibles de médicaments (récepteurs) et les systèmes de transduction du signal.

2. Physiopathologie de la Thiopurine S-Méthyl Transférase (TPMT)

2.1. Introduction

Un individu porte deux allèles, identiques ou différents, d'un même gène. Ces gènes peuvent présenter des variations de deux types : les polymorphismes de répétition et ceux atteignant un seul nucléotide (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Les SNPs sont des mutations ponctuelles qui aboutissent à des défauts ou à des gains de fonctions.

Quand la mutation affecte les deux allèles du gène, les sujets sont qualifiés d'homozygotes mutés. Si la mutation affecte un seul allèle, les sujets sont qualifiés d'hétérozygotes. Dans le cas où il n'y a pas de mutation sur les deux allèles du gène étudié, le sujet est dit homozygote sauvage. Les effets de la mutation sont plus accentués quand les deux allèles du gène sont mutés.

Les polymorphismes des enzymes du métabolisme des médicaments permettent de distinguer les Métaboliseurs Lents (défaut d'activité), les Métaboliseurs Rapides (activité normale) et les Métaboliseurs Ultra Rapides (activité excessive). Les métaboliseurs lents pour une enzyme présentent un déficit pour cette enzyme et donc une métabolisation moindre. Généralement, quand la molécule est administrée sous forme active, les métaboliseurs lents présentent une accentuation des effets indésirables. Les métaboliseurs ultra-rapides ont un métabolisme accéléré ce qui provoque un échappement thérapeutique quand la molécule active est administrée à une posologie standard et que les métabolites produits sont dépourvus d'activité pharmacologique ;

Ainsi, une dose efficace devra être adaptée et définie pour chacun en fonction de son profil génétique. Pour qualifier une variation génétique de polymorphisme, la notion de fréquence intervient. L'allèle le moins fréquent devra être présent dans au moins 1% de la population. L'étude pharmacogénétique d'un couple gène-médicament ne présente d'intérêt en pratique clinique que si la variation génétique est responsable d'au moins 30% de la variabilité interindividuelle de la pharmacologie du médicament et si la fréquence du polymorphisme est suffisante pour sa recherche soit coût efficace.

2.2. Définition

Codée au niveau du chromosome 6, la Thiopurine S-Méthyl Transférase (TPMT) est une enzyme qui joue un rôle important dans le métabolisme des dérivés de la thiopurine, utilisés en tant qu'immunosuppresseurs (azathioprine), ou dans le cadre de la chimiothérapie anti-tumorale (mercaptopurine et thioguanine). L'activité de cette classe thérapeutique est basée sur la biotransformation en nucléotides (6-TGNs) qui agissent en tant qu'anti-métabolite et interfèrent avec la synthèse de l'ADN (28).

Les indications thérapeutiques pour les dérivés de la thiopurine sont les maladies auto-immunes dont:

- Hépatite auto-immune
- Polyarthrite rhumatoïde
- Lupus érythémateux systémique
- Rectolite ulcérohémorragique
- Maladie de Crohn

Ainsi que:

- Leucémies aiguës ou chroniques
- Transplantation

2.3. Principaux médicaments métabolisés par la TPMT

2.3.1. La Mercaptopurine (Purinethol[®] 50mg)

-Propriétés pharmacodynamiques :

Cette molécule est un analogue des bases purines de l'ADN. Elle est employée en tant qu'immunomodulateur et antinéoplasique (30). La mercaptopurine est une prodrogue inactive. Pour être cytotoxique, elle doit être transformée dans la cellule, par voie enzymatique, en métabolites actifs, les nucléotides thioguanidiques ou 6-TGN. Une partie de la mercaptopurine est également transformée en d'autres métabolites par la Thiopurine Méthyl Transférase (TPMT). Lorsque la TPMT est peu ou pas active, en raison d'une mutation du gène, une plus grande quantité de 6-TGN est formée et le patient est exposé à un risque accru de toxicité.

Le dosage de 6-TGN intraérythrocytaire peut aider au suivi thérapeutique, en particulier pour expliquer une mauvaise tolérance ou une toxicité sévère, pour dépister un déficit en TPMT ou pour résoudre un problème de compliance du traitement. La posologie usuelle est de 1,5 mg/kg/jour.

2.3.2. L'azathioprine (Imurel® 25mg)

-Propriétés pharmacodynamiques:

Cette molécule est un agent immunomodulateur et antinéoplasique (31). L'azathioprine est le dérivé nitro-imidazole de la 6-mercaptopurine (6-MP). Elle se dissocie rapidement in vivo en 6-Mercaptopurine et en un dérivé méthyl-nitro-imidazole dont l'activité n'est pas connue.

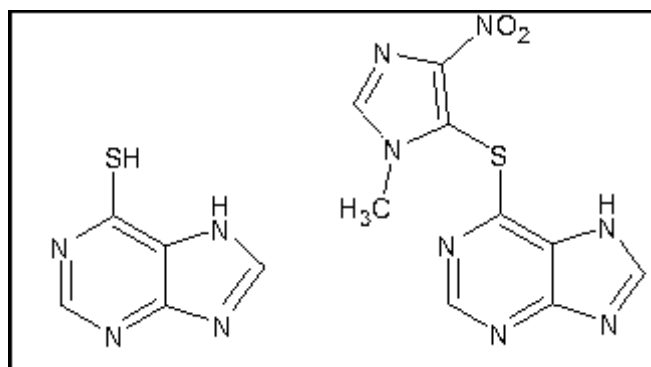


Figure 9 : Structure chimique de la mercaptopurine et de l'azathioprine

Source: pharmagkb.org

L'azathioprine libérant la 6-MP agit ainsi comme antimétabolite intervenant au niveau enzymatique du métabolisme des purines. Elle inhibe la biosynthèse des nucléotides normaux entrant dans la constitution des acides nucléiques et empêche ainsi la prolifération de cellules participant à la détermination et à l'amplification de la réponse immune. L'effet immunosuppresseur de l'azathioprine peut n'apparaître qu'après plusieurs mois de traitement.

-Posologie :

Il est conseillé de prendre ce médicament au cours des repas, afin d'éviter les troubles gastro-intestinaux. La posologie et la durée du traitement sont variables suivant les indications.

A titre indicatif, pour les transplantations d'organe, la dose d'attaque est de 5 mg/kg/jour, puis la dose d'entretien est de 1 à 4 mg/kg/jour en fonction de la tolérance clinique et hématologique du patient. Sauf contre-indication formelle, le traitement sera poursuivi indéfiniment, même à faible dose. L'arrêt du traitement, même après plusieurs années, expose à des risques de rejet en quelques semaines. Pour les maladies auto-immunes, la dose d'attaque n'excède habituellement pas 3 mg/kg/jour et la dose d'entretien est habituellement comprise entre 1 et 3 mg/kg/jour. Si aucune amélioration n'est constatée après 6 mois de traitement, l'arrêt du médicament devra être envisagé. Chez les insuffisants rénaux, hépatiques et chez le sujet âgé, il est recommandé d'utiliser les posologies minimales préconisées ci-dessus.

2.4. Polymorphisme de la TPMT

2.4.1. Généralités

Le gène codant pour cette enzyme est situé sur le chromosome 6 ; il est constitué de 26.83 Kilo bases (soit 26830 bases) et comporte 9 exons. (32)

Les mutations du gène codant pour la TPMT sont recherchées selon deux indications :

- à *priori* pour les patients devant être traités par des médicaments de types thiopurine
- à *posteriori* les patients traités par un dérivé du type thiopurine qui présentent une agranulocytose ou plus généralement une toxicité hématologique.

Une mutation dans le gène codant pour la TPMT n'est pas forcément synonyme d'inactivation complète de l'activité enzymatique. Il existe 25 SNPs actuellement décrits dont 23 sont associés à une diminution voire à une inactivation de cette enzyme. Dans le cas d'un déficit d'activité, il s'agit d'un mode de transmission autosomal récessif.

Dans les divers tissus humains (érythrocytes, leucocytes, plaquettes, hépatocytes, et cellules rénales), il a été démontré la répartition trimodale de l'activité enzymatique de la TPMT :

- 0,5% de sujets méthyleurs lents qui sont homozygotes mutés, leurs génotypes est noté mut/mut.
- 10% de sujets méthyleurs intermédiaires hétérozygotes, leurs génotypes est noté wt/mut.
- 90% de sujets méthyleurs rapides homozygotes sauvages, leur génotype est noté wt/wt.

Les mutations peuvent toucher différents exons, comme cité ci-dessous, cependant les variants suivants sont responsables, dans plus de 90% des cas, de diminutions fonctionnelles de la TPMT:

- sur l'exon 5 une mutation en position 238, il correspond à un changement d'un nucléotide guanine en cytosine, ce variant est noté TPMT*2.[rsSNP, rs1800462]. La fréquence allélique est de 0,5% il est retrouvée uniquement chez les Caucasiens.
- sur l'exon 7 une mutation en position 460, avec changement d'un nucléotide guanine en adénine: noté TPMT*3B. La fréquence allélique est de $1/120000$ ($8,3 \cdot 10^{-6}$ %)
- sur l'exon 10 une mutation en position 719, changement d'un nucléotide adénine en guanine noté TPMT*3C. [rs1800460,rs1142345]. La fréquence allélique est de 4,5% chez les caucasiens, 0,8% chez les africains américains et elle n'est pas retrouvée dans la population chinoise. (27)

L'association *3B et *3C constitue l'allèle *3A.

2.4.2. Tableau récapitulatif des principaux polymorphismes de la TPMT .(32)

Génotype	Mutation	Changement d'acide aminé	Exon	Fréquence allelique %	Activités Homo/Hétéro-zygote
TPMT*1	Sauvage			96 (caucasien), 98,5 asiatiques et noirs	H (haute)
TPMT*1A	C178T		1	Rare	H/H
TPMT*1S	T474C		7	Rare	H/H
TPMT*2	G238C	Ala80Pro	5	0,2-0,5	B (basse)/I
TPMT*3A	G460A+A719G	Ala154Thr+Tyr240Cys	7-10	3-6 (caucasiens) rares asiatiques et noirs	B/I (intermédiaire)
TPMT*3B	G460A	Ala154Thr	7	Rare	B/I
TPMT*3C	A719G	Tyr240Cys	10	3-10 noirs, 0,1-1 caucasiens et asiatiques	B/I
TPMT*3D	G292T+G460A+A719G	Glu98Stop+Ala154Thr+Tyr240Cys	5-7 10	Rare	
TPMT*4	-1G>A		10	Rare	
TPMT*5	T146CT A539T	Leu49Ser	4	Rare	
TPMP*6	A539T	Tyr180Phe	8	Rare	
TPMP*7	T681G	His227Glu	10	Rare	
TPMP*8	G644A	Arg215His	10	Rare	
TPMP*9	A365C	Lys119Thr	5	Rare	
TPMT*10	G430C	Gly144Arg	8	Rare	

Tableau 2 : Les différents polymorphismes de la TPMT

Exemple d'illustration du polymorphisme du gène de la TPMT :

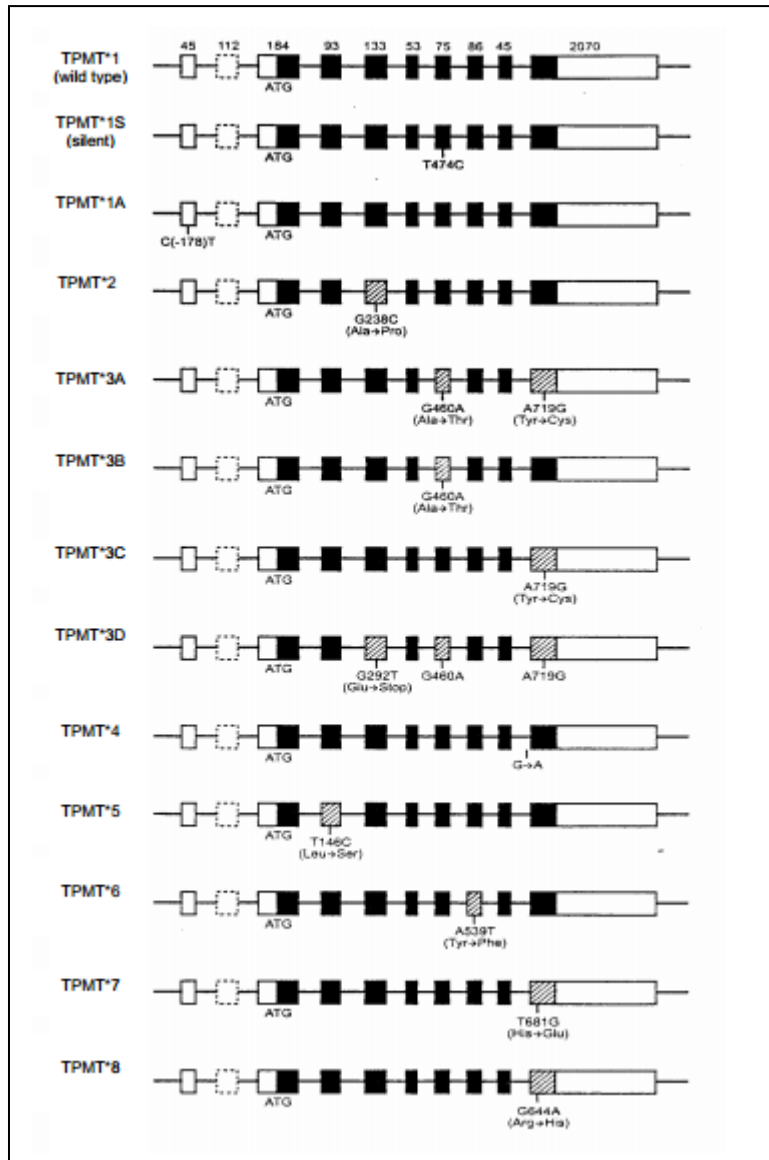


Figure 10 : Les principaux variants alléliques de la TPMT (Krynetski et al, 2000)

Les rectangles représentent les exons. En blanc, les régions non traduites, en noirs les régions codantes, les flèches correspondent aux mutations contenant des changements d'acides aminés.

2.5. Rôle de la TPMT dans le métabolisme des médicaments dérivés de la thiopurine (33)

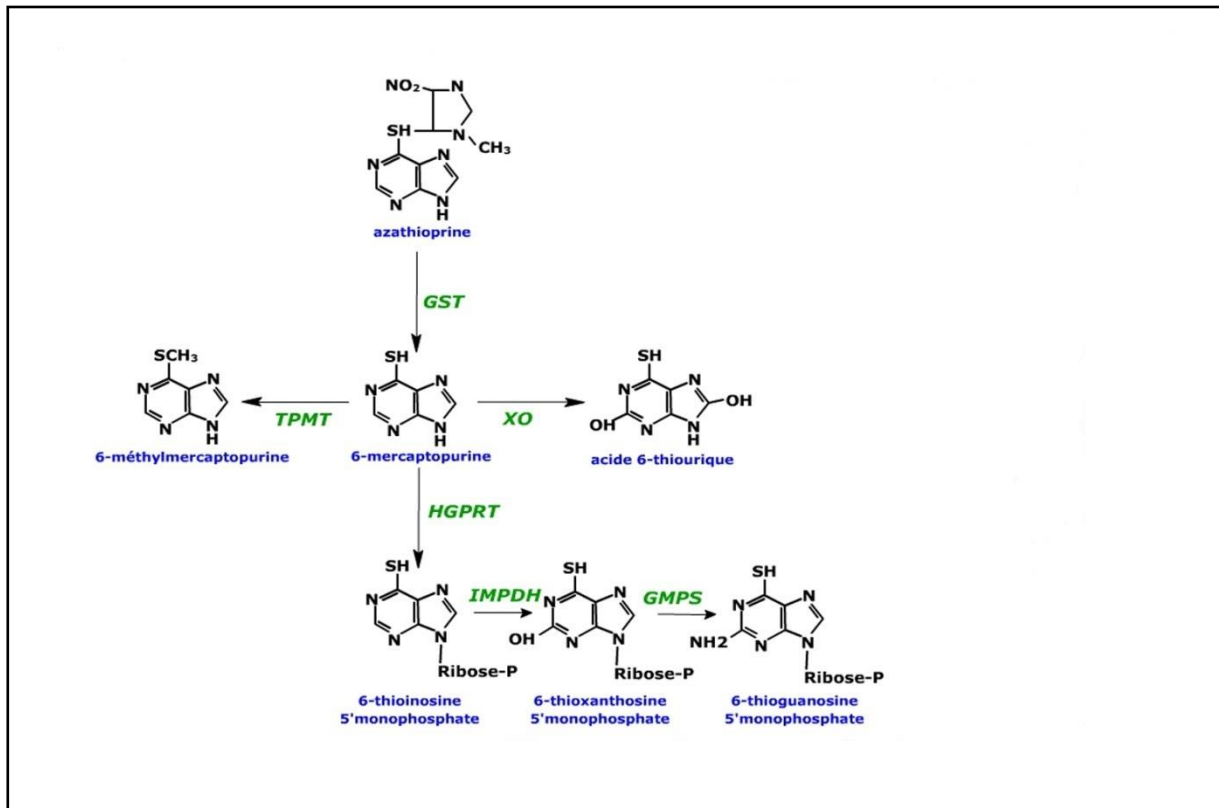


Figure 11 : Métabolisme de l'azathioprine source Pharmacomedicale.org

Légende :

TPMT : Thiopurine Méthyl Transferase

HGPRT : Hypoxanthine Guanine PhosphoRibosyl Transférase

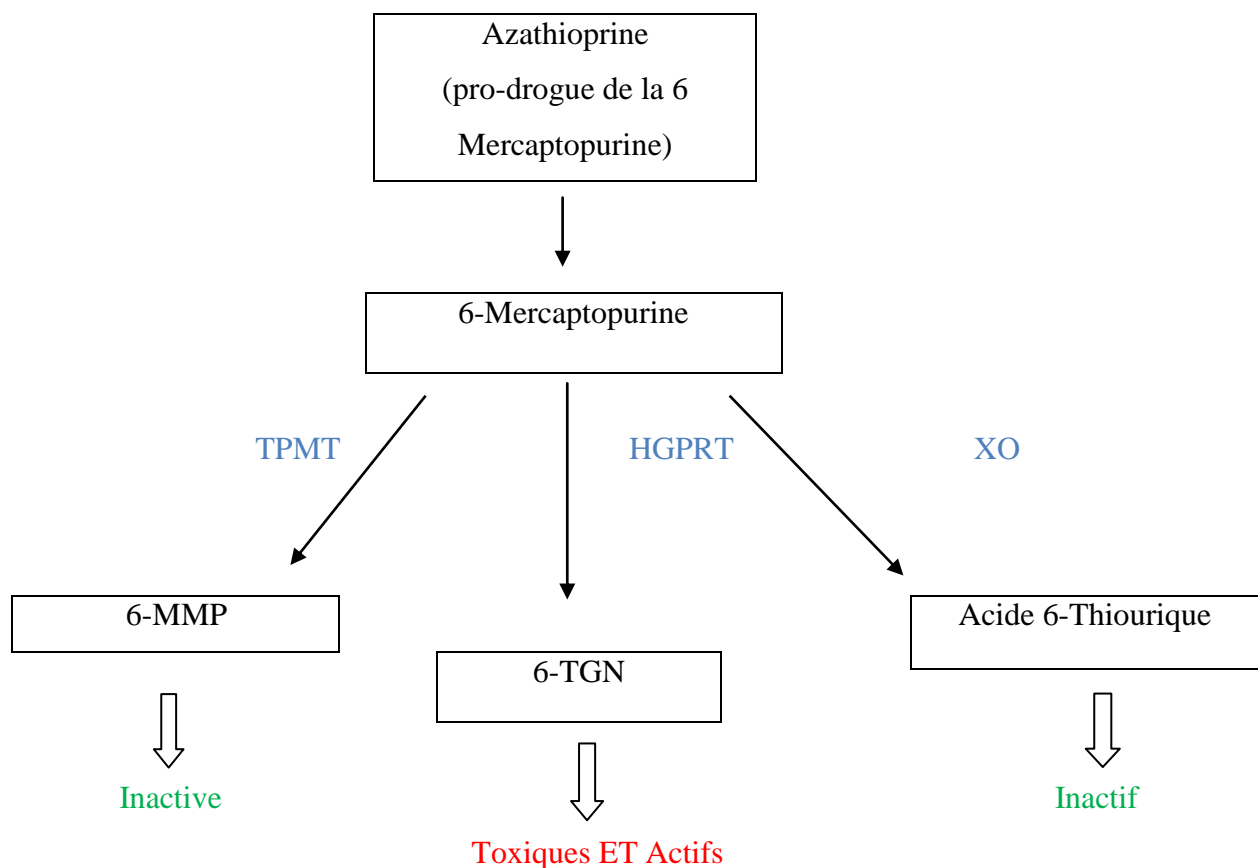
XO : Xanthine Oxydase

IMPDH : Ionosine Monophosphate Deshydrogenase

GMPS : Guanine Monophosphate Synthetase

GST : Glutathion S Transferase

Schéma simplifié du métabolisme :



2.6. Implication du polymorphisme de la TPMT

La TPMT est une enzyme cytoplasmique qui catalyse la S-méthylation de médicaments de type thiopurine comme le 6-mercaptopurine via la S-adenosyl-L-méthionine comme donneur de S-méthyl et la S-adenosyl-L-homocystéine comme produit intermédiaire. La cytotoxicité de l'Azathioprine est influencée par l'activité de la TPMT ; il existe en effet **une relation inverse** entre le taux de 6-TGN produits et l'activité TPMT.

La 6-MP, sous l'action de l'HGPRT, est d'abord convertie en 6-thioinosine monophosphate (6-TIMP) puis en 6-thioxanthosine monophosphate (6-TXMP) puis en 6-thioguanosine monophosphate, puis di- et triphosphates : 6-TGMP, 6-TGDP, 6-TGTP respectivement qui représentent les 6 TGN qui sont dosés lors d'un STP d'un traitement par Imurel.

Les 6-TGN s'accumulent dans les érythrocytes car ces cellules ne synthétisent pas d'acides nucléiques. Les 6-TGN ne peuvent donc pas être éliminés en s'intercalant lors de la synthèse d'acides nucléiques. Ils servent ainsi de tissu de substitution facilement accessible pour leur dosage. Le gène codant pour HGPRT présente également un polymorphisme. A ce jour, trois variants ont été identifiés, dont deux sont responsables du syndrome de Lesch-Nyan et le troisième d'une hyperuricémie.

Un déficit la voie enzymatique de la TPMT entraîne une déviation du métabolisme de l'azathioprine vers la voie HGPRT, augmentant ainsi la production des métabolites actifs, les 6-TGN, responsables de la myélotoxicité. Chez les patients présentant un déficit complet de cette activité, l'éviction de l'Azathioprine est théoriquement définitive. Inversement, plus l'activité TPMT est élevée, moins il y a de formation de 6-TGN, dérivés cytotoxiques actifs. La voie de la xanthine oxydase (XO) conduit à l'acide 6-thiourique, métabolite inactif éliminé par voie rénale. Cette enzyme est absente des leucocytes circulants et présente dans les érythrocytes. Elle est retrouvée en quantité importante dans le foie et la muqueuse de l'intestin grêle. Le déficit en xanthine oxydase reste une anomalie autosomique rare, elle toucherait 2% de la population générale et se traduit par une hypouricémie. A cause de la variabilité de transformation de l'azathioprine par ces deux dernières, une adaptation posologique doit être effectuée. Actuellement, 21 variants du gène codant pour la xanthine oxydase ont été décelés mais ils sont sans conséquence pour la prise en charge thérapeutique d'un traitement par un médicament de type thiopurine en raison de l'absence de l'enzyme codée dans les leucocytes, lieu d'action attendu de ces médicaments.

2.7. Génotypage de la TPMT

2.7.1. Intérêt du génotypage de la TPMT

En cas de **déficit en TPMT**, il y aura une déviation de métabolisation vers HGPRT et donc une **augmentation de la toxicité**, car les métabolites actifs ne sont plus synthétisés.(27)

En cas de **surexpression de la TPMT**, il y aura augmentation de son activité au détriment de celle de la HGPRT et donc un **échappement thérapeutique** ; le patient sera insuffisamment traité.

Comme cité précédemment, le polymorphisme suit une répartition tri modale dans la population :

- Les méthyleurs lents, qui présenteront un risque de toxicité.
- Les méthyleurs rapides, pour lesquels il faut augmenter la dose de 6-MP pour avoir un effet thérapeutique.
- Les méthyleurs intermédiaires, hétérozygotes.

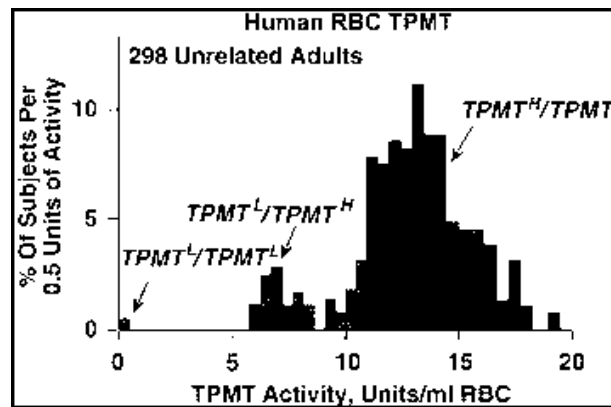


Figure 12: Fréquence de répartition de l'activité du gène de la TPMT- Source : nature.com

Une adaptation de la dose de 6-MP est donc nécessaire pour une efficacité équivalente et une toxicité diminuée. Les patients porteurs d'une mutation homozygote au niveau du gène de la TPMT présentent un risque majeur et précoce d'hématotoxicité.

2.7.2. Principe du génotypage de la TPMT

Avant de commencer l'analyse du gène il convient d'accéder à l'information génétique. Pour cela il faut réaliser une extraction de l'ADN du patient.

2.7.2.1. Extraction et dosage de l'ADN patient

2.7.2.1.1. Extraction

L'extraction de l'ADN par le Mini-kit QIAmp repose sur (34). :

- L'hydrolyse des hématies et la rupture des membranes cellulaires des globules blancs contenant l'ADN
- La fixation de l'ADN génomique sur une colonne absorbante
- Une élution sélective par plusieurs tampons afin de purifier l'ADN en éliminant les protéines et les ARN

Cette extraction peut être entièrement automatisée par l'automate Qiacude de Qiagen (kit QIAmp DSP DNA Blood Mini, référence 61104).

2.7.2.1.2. Dosage

Le dosage de l'ADN obtenu se fait ensuite sur un spectrophotomètre. L'ADN absorbe à une longueur d'onde de 260nm. Les protéines, enzymes ou histones, liées à l'ADN absorbent à 280nm.

Une unité de densité optique à 260nm correspond à une concentration de 50µg/L d'une solution ADN double brin. Ceci s'applique dans une cellule de mesure de trajet optique de 10 mm. Les solutions doivent être parfaitement pures et homogènes. En plus des mesures de densité optique (DO) à 260nm et 280nm, le rapport 260/280 est calculé et reflète la pureté de la solution d'ADN, il doit être compris entre 1,6 et 2. Plus le rapport 260/280 est proche de 2 et plus l'ADN est pur.

Afin d'être sûr d'avoir suffisamment de matériel génétique pour l'analyse du gène, il faut réaliser une multiplication de l'ADN du patient. La technique utilisée pour obtenir une quantité suffisante d'ADN est la Polymerase Chain Reaction.

2.7.2.2. Amplification de l'ADN du patient

La technique PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence nucléotidique d'ADN à partir de seulement quelques copies de la séquence cible obtenues par extraction d'un échantillon de sang total.

2.7.2.2.1. Principe de la méthode

Un cycle de PCR comprend 3 étapes, chacune devant s'effectuer dans un intervalle de température donnée :

- dénaturation (environ > 90°)
- hybridation
- élongation (72°C ou dépendante de la Taq Polymerase utilisée)

Le milieu réactionnel d'une réaction de PCR contient :

- Une ou plusieurs copies de la séquence d'ADN à amplifier
- Des nucléotides (dCTP + dATP + dGTP + dTTP) nécessaires à la formation de nouveaux brins d'ADN
- D'une enzyme, la Taq polymerase (ADN polymerase de *Thermus aquaticus*)
- Du tampon comportant entre autre du Mg^{2+} nécessaire à l'activation de l'enzyme
- D'oligonucléotides appelés amorces sens et antisens

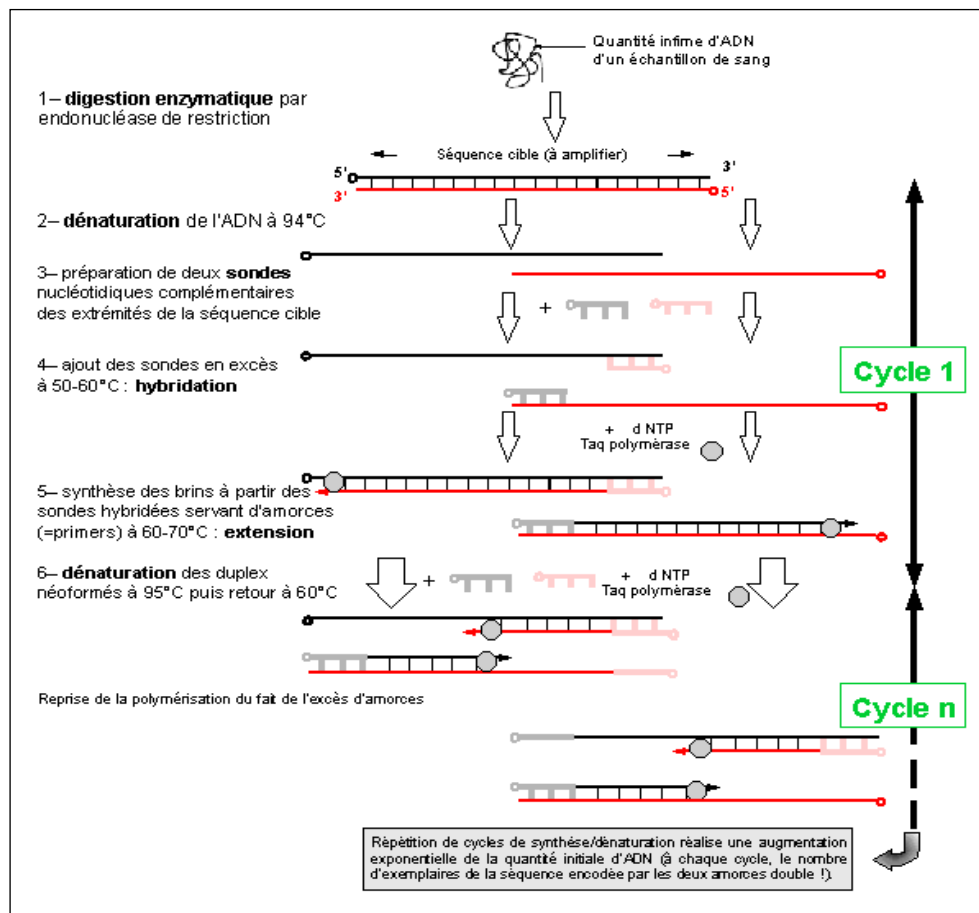


Figure 13 : schéma de la PCR, source ens-lyon

2.7.2.2.2. Le rendement de la PCR

En théorie, la quantité d'ADN correspond à la séquence à amplifier double à chaque cycle. On a donc : nombre de copies = 2^n avec n : nombre de cycle (si on part d'une copie unique).

Cependant, en pratique :

- l'amplification cesse d'être exponentielle au bout de 15 à 20 cycles et atteint ensuite rapidement un plateau (d'autant plus précoce que la quantité d'ADN cible de départ est importante). On effectue donc rarement plus de 40 cycles.

- pendant la phase exponentielle, le rendement de chaque étape n'est pas de 100% mais d'environ 85%. Le nombre de copies réellement obtenue est donc $N = 1,85^n$

Les principales limites de la technique PCR sont :

- la taille limitée des séquences que l'on peut amplifier (difficile si $1,5 \text{ kb} < t < 3 \text{ kb}$ et quasiment impossible si $t > 3 \text{ kb}$)
- la quantité des réactifs mis dans le mélange réactionnel
- la contamination des tubes par des résidus de PCR précédentes qui impose la réalisation d'un témoin négatif (eau) à chaque manipulation.

- les amplifications parasites (manque de spécificité des amorces)

Remarque : la limite entre la phase de latence et la phase exponentielle s'appelle le cycle seuil, c'est-à-dire le cycle où la quantité d'ADN commence à être mesurable.(35)

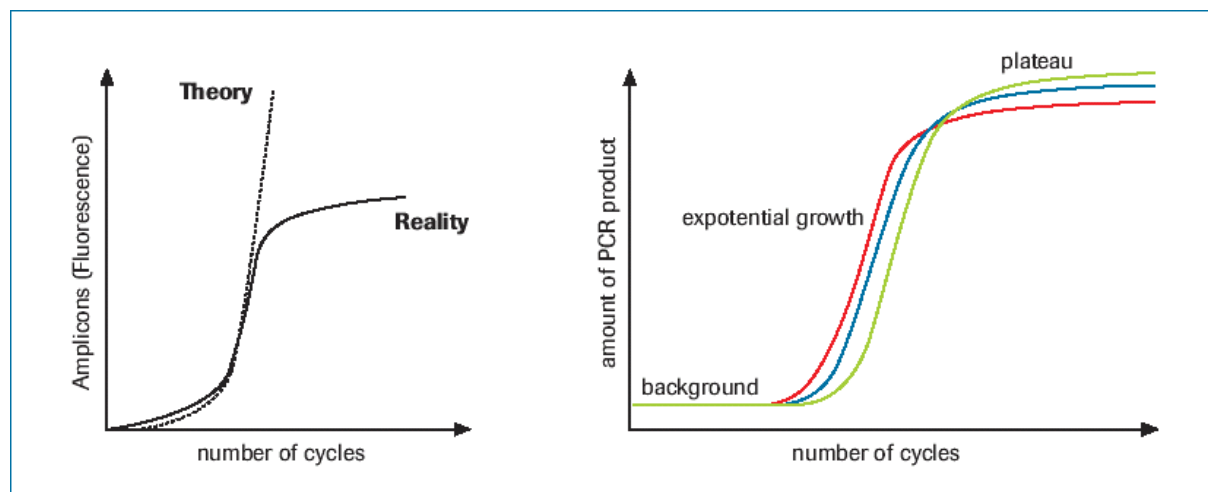


Figure 14: Rendement et phases de la PCR – Source : ROCHE, LightCycler® Real-Time PCR Systems

2.7.2.2.3. La révélation de la PCR (36)

2.7.2.2.3.1. But

La révélation est réalisée sur un gel d'agarose à 2%. C'est une étape systématique après toute PCR classique, elle permet de vérifier la qualité de la PCR :

- Présence d'un amplicon
- Amplification suffisante pour utilisation ultérieure
- Taille de l'amplicon
- Absence d'amplification d'un blanc
- Amplification spécifique : un seul amplicon
- Absence de dimères d'amorces
- Identité avec des témoins positifs si pertinents

2.7.2.2.3.2. Principe

Les ADN amplifiés par PCR, chargés négativement, sont séparés par électrophorèse dans un gel d'agarose sous l'effet d'un champ électrique dans un milieu tamponné. Les fragments d'ADN de petite taille se déplacent plus rapidement que ceux de grande taille. La durée de la migration, le voltage employé et la densité du gel d'agarose varient selon la taille du fragment employé. La migration s'effectue du pôle négatif au pôle positif. En parallèle de la migration des amplicons, un marqueur de taille (Ladder) est déposé : il permet d'évaluer la taille de l'amplicon. La révélation de la migration utilise un agent intercalant (le BET) qui se positionne à l'intérieur de l'ADN bicaténaire. Sous cette forme intercalée, il émet une lumière fluorescente après excitation. Cette émission est photographiée et mémorisée grâce à la caméra Gel Doc XR.

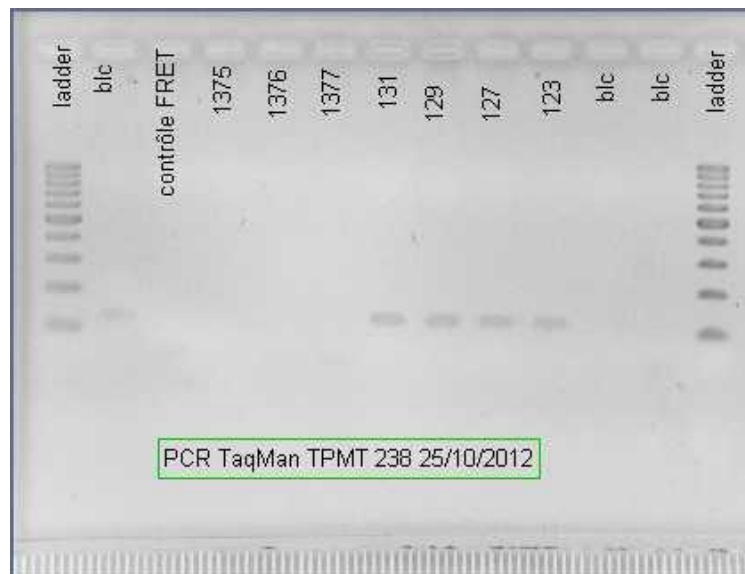


Figure 15 : Révélation de la PCR TPMT 238 du 25/10/2012 – Source personnelle

La migration sur gel met en évidence l'absence d'amplification du contrôle FRET ainsi que l'ADN 1375, 1376 et 1377. L'amplification du premier blanc est bien visible, certainement due à une contamination lors de la préparation de la plaque de réaction.

2.7.2.3. PCR en temps réel sur le Light cyclier TAQMAN 480

La technique TAQMAN est une méthode de recherche automatisée de polymorphisme connus de type mutation ponctuelle (SNP). Elle utilise des sondes d'hybridation marquées par des fluorophores. La technologie TAQMAN a été brevetée par Applied Biosystems (AB). Cette technique est réalisée sur le Light cyclier 480 de la plateforme commune de génétique diagnostique d'HEH.

Simultanément l'appareil permet l'amplification à l'aide de primers spécifiques de chaque allèle du SNP. L'amplification est réalisée à l'aide d'un Master Mix AB contenant l'ensemble des réactifs nécessaires. (37).

2.7.2.3.1. Principe

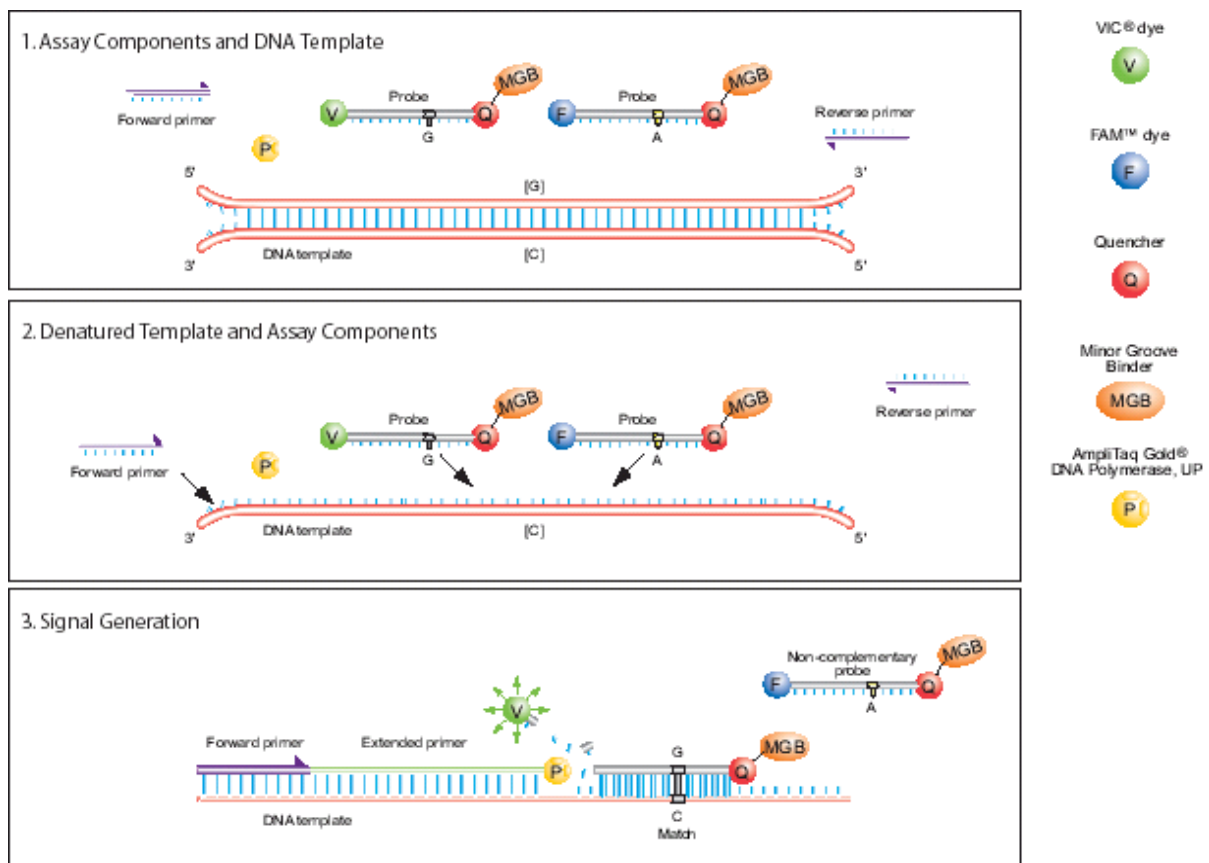


Figure 16: Mécanisme d'action des sondes TaqMan « Vic » et « Fam » - Source : Applied Biosystem TaqMan® Genotyping Assays

Les sondes sont marquées à leur extrémité 5' par un fluorochrome émetteur (reporter), et à leur extrémité 3' par un fluorochrome suppresseur (quencher) fluorescent ou non, qui inhibe l'émission du reporter lorsqu'ils sont à proximité.

Les spectres d'émission du reporter chevauchent le spectre d'excitation du quencher. L'émission du reporter est alors atténuée ou « quenchée » quand les deux fluorochromes sont proches.

Après dénaturation de l'ADN bicaténaire en ADN monocaténaire, l'hybridation permet la fixation des primers et des sondes, chacune d'elles sur sa séquence allélique si elle est présente dans l'ADN testé. Aucune fluorescence n'est émise en raison de l'absorption de la lumière émise par le quencher qui est proche du reporter.

Lors de l'amplification, la polymérisation de l'ADN monocaténaire de départ se fait à l'aide de la TAQ polymérase contenue dans le Master Mix.

En raison de son activité nucléasique, la sonde d'hybridation fixée au départ sur l'ADN monocaténaire est « grignotée » libérant le fluorophore (ou reporter) et le quencher. La distance entre ces 2 composées devient suffisante pour que la lumière émise par le fluorophore ne soit plus absorbée.

Cette méthode est appelée discrimination allélique car elle permet de différencier les ADN en fonction de la présence ou non du polymorphisme recherché.

Pour cela, deux sondes sont utilisées : l'une couplée au fluorophore VIC reconnaît spécifiquement l'allèle 1 et l'autre couplée au fluorophore FAM reconnaît spécifiquement l'allèle 2.

La lumière ainsi émise, est enregistrée par le LC480 à 2 longueurs d'onde spécifiques de chaque sonde (de 533nm à 580 nm pour VIC et de 465nm à 510 nm pour FAM).

Remarque :

-L'absence de lumière émise par l'un de ces fluorophores signe l'absence du SNP recherché (pas d'hybridation préalable → pas de « grignotage » de la sonde) et inversement. La présence de la lumière pour chaque sonde est caractéristique de la présence du SNP sous forme hétérozygote.

-Lorsque les intensités des deux signaux sont proportionnelles, cela signifie que le sujet est hétérozygote pour la mutation étudiée.

Cette technique est très sensible, très spécifique, rapide et permet le multiplexage. Toutefois, elle manque d'efficacité et de flexibilité lors de mutations variables ou localisées dans les régions comportant des séquences répétées. Elle est donc utilisée pour la recherche de polymorphismes connus.

2.7.2.3.2. Mesure du cycle seuil

Pour déterminer la positivité d'une PCR et/ou quantifier un échantillon par PCR en temps réel, on détermine le nombre de cycles à partir duquel le produit PCR est détectable. Le moment d'apparition de ce signal seuil dénommé cycle seuil ou Ct (Cycle threshold) est dépendant de la quantité de matrice initialement présente dans l'échantillon amplifié. Le Ct calculé est inversement proportionnel au logarithme décimal du nombre de copies initiales. Il apparaît toujours au cours de la phase exponentielle de la PCR. Le résultat d'une PCR en temps réel est représenté graphiquement sous forme de courbes sigmoïdes.

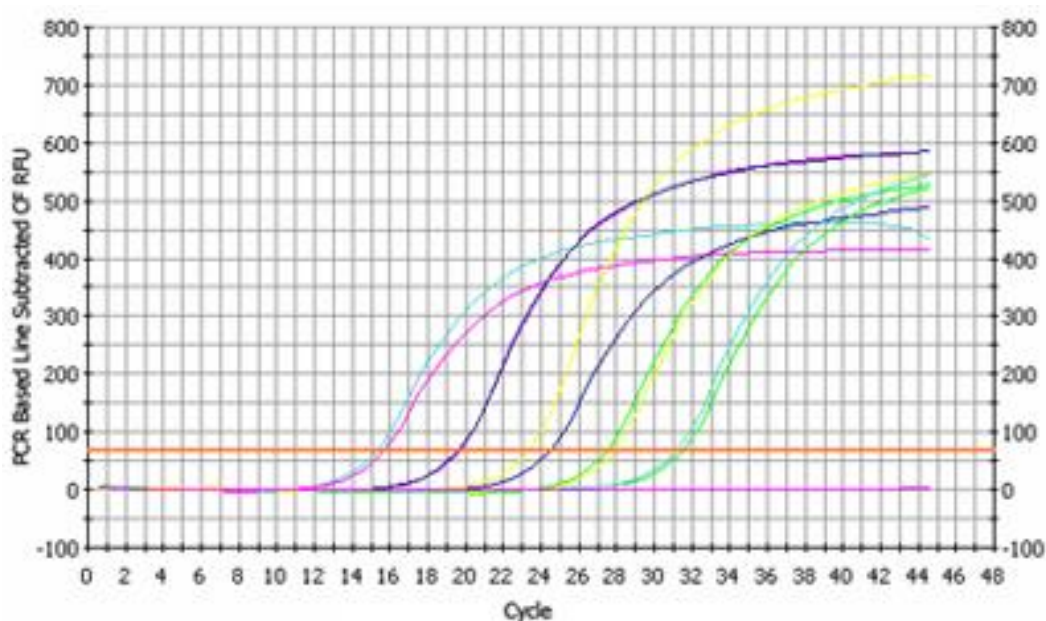


Figure 17 : Mesure du cycle seuil, source site ilm.

Chaque courbe correspond à un échantillon. Elle représente la mesure de la fluorescence de cet échantillon pour chaque cycle. Le signal seuil calculé automatiquement est matérialisé sur le graphe par une ligne horizontale.

2.7.2.3. Courbe de fusion

La courbe de fusion permet de vérifier qu'il n'y a qu'un seul produit de PCR amplifié. Elle est réalisée en soumettant les amplicons à une température progressant de 55°C à 95°C par palier de 0,5°C et en mesurant l'intensité de fluorescence en continu. Elle correspond à la variation de la fluorescence en fonction de la température.

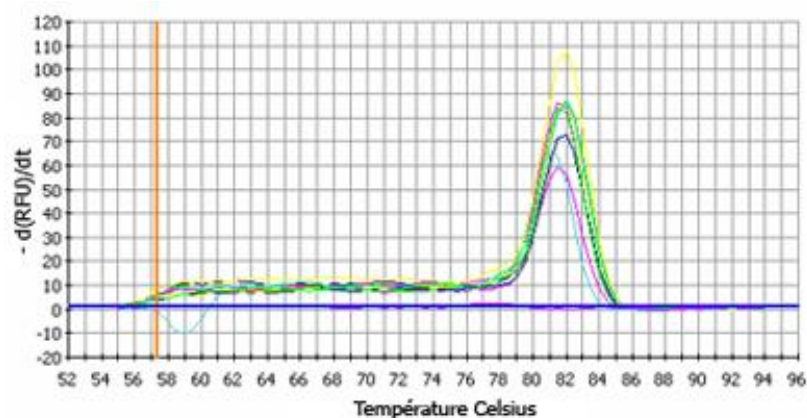


Figure 18 : Courbe de fusion, source ilm

La température de fusion des amplicons appelée T_m est représentée par un pic unique sur la dérivée primaire de cette courbe. Dans l'exemple ci-dessus, tous les échantillons ont un T_m d'environ 81,5°C. Si l'on obtient plusieurs pics à des températures différentes, ou des pics décalés par rapport au T_m attendu, c'est que l'on est en présence d'un mélange d'amplicons ou d'amplicons ayant une séquence différente. Il est recommandé, en cas de doute, de procéder à une électrophorèse du produit PCR obtenu pour vérifier la présence et la taille des amplicons.

2.7.3. Un exemple d'application : Recherche de la mutation 460

2.7.3.1. Préparation des échantillons

(Protocole disponible en annexe 2)

Le Master Mix TaqMan Universal PCR contient un tampon $MgCl_2$, la TaqPolymerase et des dNTP (DésoxyriboNucléotide Tri Phosphate).

Le Mix Drug Metabolism Genotyping contient les amorces sens et anti de sens spécifiques à amplifier. De plus, il contient deux sondes TaqMan ; l'une contenant le fluorochrome VIC détectant l'allèle 1, et l'autre contenant le fluorochrome FAM détectant l'allèle (38).

2.7.3.2. Programmation du LightCycler 480.

La première étape consiste à effectuer une dénaturation puis une activation de la TaqPolymérase. Pour cela on doit atteindre la température de 95° pendant dix minutes. Ensuite, l'appareil effectue la dénaturation des brins d'ADN en chauffant pendant 15 secondes à 92°. Les sondes viennent ensuite s'hybrider, et la TaqPolymérase effectue l'élongation des brins d'ADN (90 secondes à 60°). Cet ensemble d'opérations constitue un cycle. Pour cet exemple, cinquante cycles ont été réalisés par l'appareil. A la fin de l'analyse le LightCycler 480 retourne à une température de 20°.

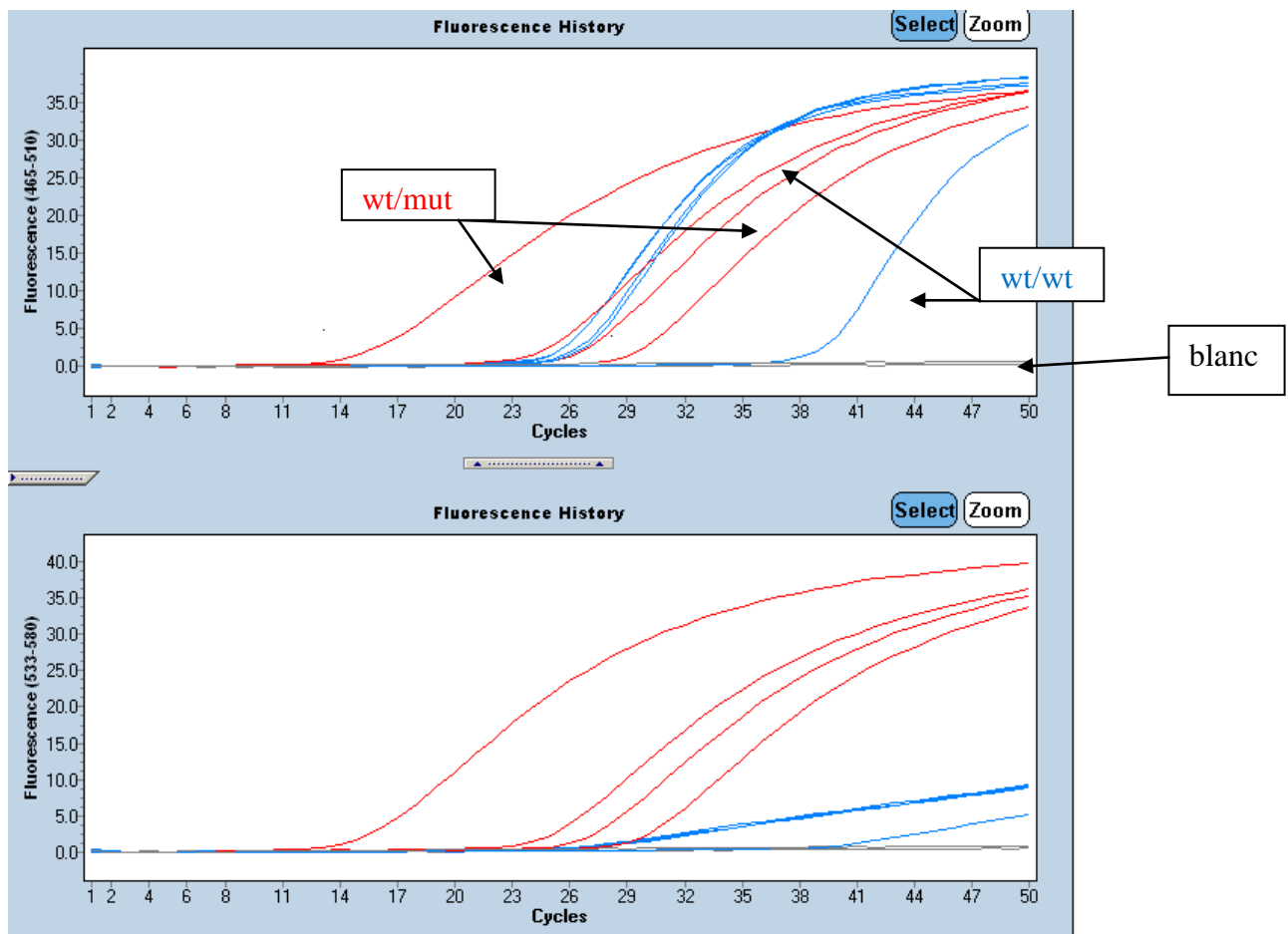
Le Protocole pour le programme de la PCR par le fabricant Applied Biosystem (39) :

Dénaturation et activation de la Taqpolymérase	10 minutes à 95°C	1 cycle
Dénaturation	15 secondes à 92°C	50 cycles
Hybridation et Elongation	90 secondes à 60°C	
Refroidissement	40°C	

Tableau 3 : Protocole de Applied Biosystem pour l'utilisation des sondes TaqMan dans un thermocycleur – Source : Applied Biosystem, TaqMan® Drug Metabolism Genotyping Assays

2.7.3.3. Interprétation des résultats du SNP 460

La fluorescence à 465-510 nm indique la présence de l'allèle non muté et la fluorescence à 533-580 nm montre la présence d'un allèle muté. Lorsque les deux fluorescences sont équivalentes le patient possède les deux allèles.



Légende :

- Les traits rouges représentent le génotype muté
- Les traits bleus représentent le génotype sauvage
- Les blancs correspondent à des échantillons d'eau distillée

Samples			Endpoint Fluorescence		Results			
...	C...	Pos	Name	465-510	533-580	Call	Score	Status
<input checked="" type="checkbox"/>		A1	blc	0.30	0.45	Negative		
<input checked="" type="checkbox"/>		A2	ctrl FR	36.63	39.87	wt/mut	0.91	
<input checked="" type="checkbox"/>		A3	1375	38.43	8.97	wt/wt	0.99	
<input checked="" type="checkbox"/>		A4	1376	37.31	9.18	wt/wt	0.96	
<input checked="" type="checkbox"/>		A5	1377	37.56	8.80	wt/wt	0.98	
<input checked="" type="checkbox"/>		A6	131	36.42	35.32	wt/mut	0.99	
<input checked="" type="checkbox"/>		A7	129	36.36	36.28	wt/mut	0.99	
<input checked="" type="checkbox"/>		A8	127	38.29	9.12	wt/wt	0.98	
<input checked="" type="checkbox"/>		A9	123	34.43	33.79	wt/mut	1.00	
<input checked="" type="checkbox"/>		A10	blc	32.03	5.14	wt/wt	0.89	
<input checked="" type="checkbox"/>		A11	blc	0.68	0.78	Negative		

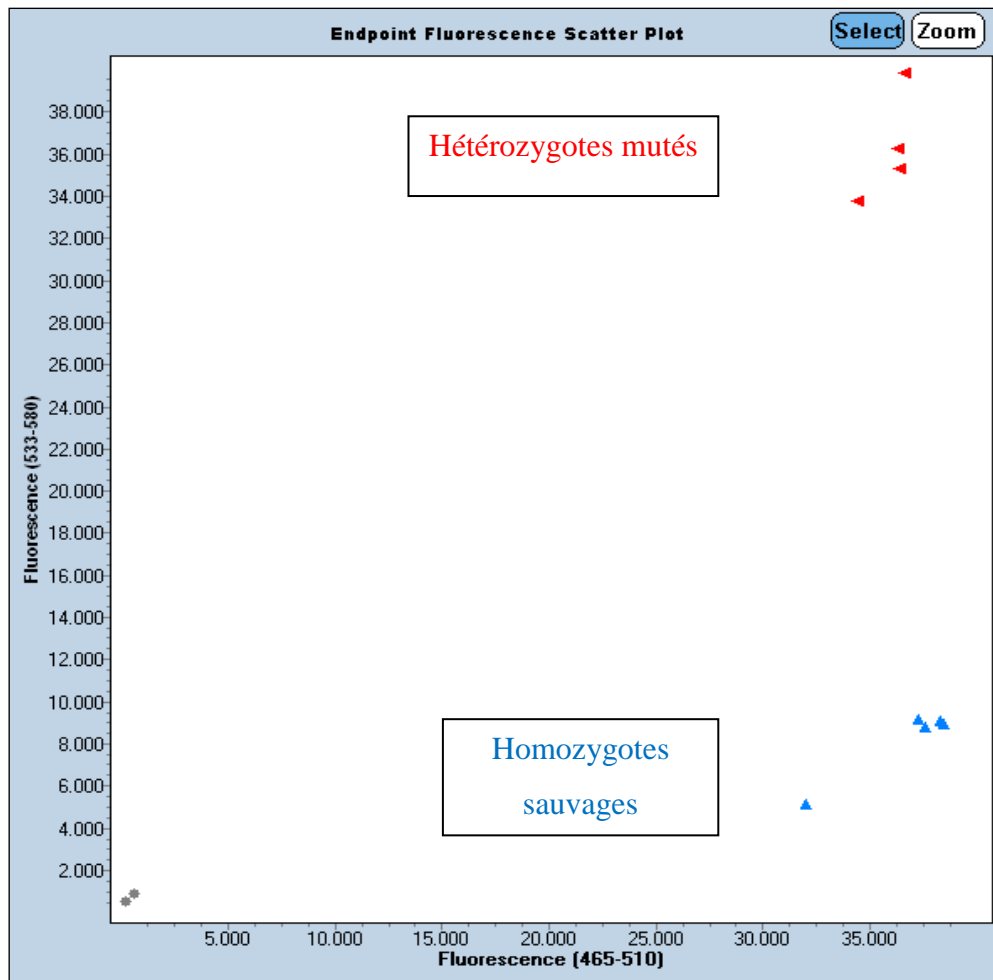


Figure 19,20,21: Résultats informatiques du génotypage sur SNP 460 sur le Light Cycler

TaqMan 480 II, source HEH

NB : En gris les blancs ou les ADN qui n'ont pas amplifiés.

2.7.4. La validation de la méthode de génotypage de la TPMT

2.7.4.1. Validation de la Technique TAQMAN

Après la mise au point de la recherche des 3 SNPs d'intérêt pour la TPMT, il faut valider la méthode retenue, en passant en parallèle un grand nombre de patients. Une cinquantaine d'ADN est génotypée pour chaque SNP. (34)

Les données ci-dessous ont été obtenues par l'utilisation des données acquises lors de l'étape de validation. L'utilisation de ces tableaux permettra de valider un futur résultat en le comparant à une moyenne des résultats obtenus avec un grand nombre d'échantillons.

L'écart-type montre la répartition des valeurs de fluorescence, c'est-à-dire l'écart moyen entre la valeur cible, ici la moyenne, et les différentes valeurs obtenues lors des manipulations. Plus l'écart-type est faible, plus les valeurs sont proches les unes des autres.

Plus le **coefficient de variation** est élevé, plus la dispersion autour de la moyenne est grande. Ce coefficient a le même but que l'écart-type mais il est sans unité et permet de comparer la distribution des valeurs dont les échelles ne sont pas comparables.

Le but est de montrer que les écarts-type et les coefficients de variation sont le plus faible possible, ce qui montrerait que cette analyse est répétable et robuste.

	Génotype	Wt/wt	Wt/mut	Mut/mut
Moyenne	Absorbance de l'allèle wt (465-510)	22,47	17,10	2,73
	Absorbance de l'allèle mut (533-580)	3,21	14,37	20,72
	Rapport wt/mut	7,00	1,19	7,6
Ecart-type	Absorbance de l'allèle wt (465-510)	0,80	2,16	0,04
	Absorbance de l'allèle mut (533-580)	0,35	3,42	0,14
Coefficient de variation	Absorbance de l'allèle wt (465-510)	3,6 %	12,6 %	1,0 %
	Absorbance de l'allèle mut (533-580)	11,0 %	23,8%	1,0 %

Tableau 4 : Moyenne, écart type et coefficient de variation pour la validation de la SNP 460

Source : HEH

En pratique, pour les valeurs usuelles le coefficient de variation doit être inférieur à 15% et pour les valeurs basses inférieure à 20%.

Dans notre cas les coefficients de variation respectent ces valeurs ce qui nous permet de valider cette méthode de portée B selon la norme ISO 15189.

2.7.4.2. Cross validation

La cross validation consiste à comparer les résultats analytique d'une méthode avec les résultats d'une méthode dite de référence. Ici, la méthode de référence est la méthode d'analyse FRET.

Cinquante patients ont été analysés via ces deux méthodes pour le SNP 460. Sur ces résultats un seul ne concorde pas, l'ADN n'a pas été amplifié lors de l'analyse avec la méthode TAQMAN.

De ce fait quarante-neuf analyses sur cinquante présentent des résultats équivalents.

Cette concordance permet de cross valider la méthode d'analyse de la TPMT selon la technique TAQMAN.

3. Rapport qualité sur le géotypage de la TPMT

3.1. Kalilab (40) et (41)

3.1.1. Présentation du logiciel et intérêts pour les HCL

Afin d'accompagner et de faciliter le LBMMS (Laboratoire de Biologie Médical Multi-Sites) dans une démarche d'accréditation, un logiciel de qualité a été mis en place. Il s'agit de Kalilab V8 commercialisé par la société Netika distribution. Ce logiciel, certifié NF par l'AFNOR, est parfaitement adapté pour l'accréditation ISO 15189. Il a été mis en place au printemps 2012. Dans les mois qui ont suivi le personnel a reçu la formation adéquate pour l'utiliser.

Après un long travail de paramétrage spécifique au LBMMS, Kalilab simplifiera le Système Qualité du LBMMS. En effet, ce logiciel en réseau permettra de regrouper l'ensemble des documents qualité. De plus, il est simple d'utilisation et facilite la diffusion de l'information Qualité grâce à une messagerie personnelle et un onglet dépêche.

C'est un outil important. La gestion d'un Système Qualité est une charge de travail supplémentaire et d'autres ressentis viennent freiner l'implication du personnel. Les sentiments de ne participer que partiellement à la démarche, de ne pas identifier clairement les objectifs à atteindre, ou de ne pas voir se concrétiser les bénéfices attendus de la Qualité sont autant de freins supplémentaires à son adhésion. Pourtant la réussite du projet Qualité du laboratoire repose en grande partie sur ce critère. Le personnel a besoin de moyens et de soutien lui permettant d'adhérer et de participer efficacement à la démarche Qualité.

A ce titre, la présence au laboratoire d'un qualicien pour organiser et sensibiliser le personnel, ainsi que d'un support de travail ergonomique et fédérateur, paraît primordiale. Dans ce sens, disposer d'un outil de gestion documentaire permet un partage instantané des informations. Le technicien (administrateur) qui a la charge de rédiger ou de vérifier un document Qualité peut le faire quand il le décide, à travers n'importe quel PC du laboratoire.

De plus, lorsque ce document est approuvé et mis en application, il est immédiatement disponible auprès du personnel concerné. De même, le personnel doit pouvoir consulter facilement et rapidement les documents souhaités. L'ergonomie et la souplesse de Kalilab rendent la recherche et l'accès aux documents extrêmement simple, voire conviviale. A tout moment, chacun peut s'impliquer et participer directement à l'organisation de son outil de travail notamment en associant des commentaires aux documents diffusés concernant son activité.

L'amélioration continue est aussi un des points majeurs de toute démarche Qualité. Ainsi de nombreuses informations doivent être tracées et analysées à l'instar des non-conformités et des actions d'améliorations.

3.1.2. Structure et fonctionnement du logiciel

Ce logiciel présente donc un grand intérêt: un gain de temps précieux par la mise en ligne instantanée des informations.

3.1.2.1. Structure

Kalilab possède 10 modules de Gestion :

-Gestion des documents

-Gestion des stocks et commandes

- Gestion du personnel

-Gestion des Fiches Qualité et Audits

-Gestion Facturation

-Gestion du CQI et CQE

-Gestion des Plannings et de la pointeuse

-Gestion Hygiène et Sécurité

-Gestion des Revues et Objectifs / Plan d'actions-Projets

-Gestion du Matériel

Parmi ces 10 modules, quatre ont été achetés et mis en place aux HCL.

Le module **Gestion des documents** comprend le cycle de vie des documents avec alarmes personnalisées (rédaction, vérification, approbation, diffusion, modification, et différences entre les versions, archivage).

Le module de **Gestion du personnel** comprend l'administration du personnel (coordonnées personnelles, professionnelles, diplômes, fiches de fonctions), les droits et accessibilités, les plans de formation (planification et évaluation), les qualifications (évaluations, habilitation et matrice des compétences), la traçabilité des actions, les gestions de tâches et mémos.

Le module de **Gestion des fiches qualité** et audits comprend les non conformités, les réclamations, les dérogations (enregistrements, recherches de causes...), les actions curatives et préventives, et le suivi de ces actions. Il contient également les indicateurs qualité

(statistiques, représentations graphique, recherche multicritères) et enfin la gestion des audits (création, planification, réalisation, clôture, traçabilité, archivage...)

Le module **Gestion du matériel** comprend les fiches signalétiques, la planification et le suivi des maintenances, des calibrations et des étalonnages. Il contient aussi les relevés de mesure, l'historique des anomalies et les documents Qualité associés.

3.1.2.2. Fonctionnement du logiciel

Tout le personnel du LBMMS a accès à Kalilab. Cependant, les accès et les fonctionnalités du logiciel sont règlementés en fonction des tâches respectives de chacun. C'est pourquoi sept administrateurs (au sein du laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire), ont été désignés afin de créer, rédiger et diffuser les documents Qualité. Ces derniers peuvent choisir à qui sont destinés les documents qu'ils diffusent. Chaque document Qualité est identifié par un numéro, une date de rédaction (et de diffusion). Les noms des personnes qui ont rédigé vérifié et approuvé les documents sont identifiés. Les sites et les services concernés sont clairement stipulés, ainsi que le destinataire pour la diffusion. Ces administrateurs ont également accès à l'ensemble des données de Kalilab (par exemple les données du personnel).

3.1.2.3. Etat des lieux des procédures Qualité

Au fur et à mesure les procédures qualité du LBMMS sont rentrées sur Kalilab. Comme la gestion du Système Qualité de notre Unité Fonctionnelle est rattachée à celle du PAM de Biologie et d'anatomie pathologique, on retrouve une série de documents et de procédures dites « transversales ». Ces documents sont pour la plupart très généraux et il convient donc de rédiger pour chaque Unité Fonctionnelle les procédures qui lui sont propres.

3.1.2.3.1. Liste des procédures écrites présentent dans l'UF 21329 :

Procédures propres au laboratoire de pharmacologie spécialisée	Procédures manquantes/ en cours d'écriture
HB-ANA-PT-009-01: Séquençage CYP2D6	COMT
HB-ANA-PT-030-01 : Gènotypage de la TPMT	UGT2B7 et UGT1A9 à revoir
PE.06.ANA.BM :Séquençage LI-COR (ARCHIVE)	MRP2 MRP4
PE.07.ANA .BM : Gènotypage du CYP 3A5	OPRM1 à compléter en intégrant le Light Cycler 480.
PE.08.ANA.BM : Séquençage du CYP 3A4	
PE.09.ANA.BM : Séquençage UDPGT2B7	
HB-ANA-PT-032-01 : Gènotypage de la PGP	
PE.11.ANA.BM : Séquençage sur ABI PRISM	
HB-ANA-PT-029-01 : Gènotypage du CYP 2B6	
PE.13.ANA.BM : Quantification de l'expression d'une protéine sur light cycler par hybridation de sondes.	
HB-ANA-031-01 Séquençage UGT1A1	
HB-ANA-PT-011-01 : CYP 2C19	
HB-ANA-PT-010-01 :CYP 2 C9	
PO-ANA-PHA 1 et PHA 2 : VKORC1	
HB-ANA-PT-009-01 : IL28B	
HB-ANA-MT-039-01 : ITPA	
PE.15.ANA.BM : Séquençage UGT1A9	
PE.19.ANA.BM : OPRM1	
PE.20.ANA.BM: Mesure de l'expression de la PGP par PCR quantitative en temps réel.	
PE.21.ANA.BM : Recherche de mutations par HRM sur Rotor-Gene pour CYP1 A2	
PE.22.BM : Validation d'une série analytique NCA recherche de polymorphisme	

Tableau 5 : Liste des procédures écrites

3.1.2.3.2. Liste des procédures transversales disponible sur Kalilab au 28 janvier 2013

Référence	Titre	Date de diffusion	Site créateur	
MU-ACHAT-IT-002-01	Constat de vérification	05-10-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ACHAT-IT-001-01	Règles d'utilisation d'une pipette à déplacement d'air	28-09-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ACHAT-PG-001-01	Procédure de gestion et de suivi des températures	25-10-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ACHAT-PG-002-01	Procédure de gestion des instruments volumétrique	02-10-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ANA-DE-002-01	SH Form44- Validation/ Vérification méthodes qualitatives	01-08-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ANA-DE-003-01	Fiche de suivi de modifications de la portée flexible	29-10-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ANA-PG-001-01	Procédure générale de validation/vérification des méthodes	12-10-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ANA-PG-002-01	Procédure de validation/vérification des méthodes quantitative	0-10-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-ANA-PG-003-01	Procédure de gestion de la portée d'accréditation	10-12-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /
MU-INFO-EX-001-01	Réussir son appel au 654	12-11-2012	HCL Fédérateur ressources mutualisées	POLE- /

Référence	Titre	Date de diffusion	Site créateur
MU-INFO-PG-003-01	Procédure de maîtrise des enregistrements et archivage	17-12-2012	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-PostA-IT-007-01	Conservation des échantillons biologiques en post analytique	20-12-2012	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-PréA-DE-007-01	Fiche d'enregistrement d'ajout d'un examen de biologie médicale	25-01-2013	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-PréA-PG-001-01	Procédure d'ajout d'un examen de biologie médicale	25-01-2013	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-006-01	Fiche de fonction-Biologiste médical	22-11-2012	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-007-01	Fiche de fonction-Chef de pôle	16-11-2012	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-008-01	Fiche de fonction-Directeur référent biologie	16-01-2013	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-009-01	Fiche de fonction- Assistant médico-administratif	16-01-2013	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-010-01	Cadre supérieur de santé	16-01-2013	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-011-01	Technicien de laboratoire	16-01-2013	HCL POLE-Fédérateur / ressources mutualisées
MU-RH-DE-014-01	Cadre de santé	21-01-2013	HCL POLE-Fédérateur
MU-RH-DE-015-01	Fiche de fonction- Pilote de processus	21-01-2013	HCL POLE-Fédérateur

Tableau 6 : Liste des procédures transversales

3.1.2.3.3 Liste des procédures de Kalilab concernant la pharmacogénétique

Numéro	Titre
HB-ACHAT-PT-002-01	Procédure de saisie de commande de réactifs en pharmacogénétique
HB-PostA-IT-008-01	Rendu des résultats de pharmacogénétique
HB-PréA-DE-003-01	Feuille de consentement de pharmacogénétique
HB-PréA-IT-007-01	Réception des analyses de pharmacogénétique
HB-ANA-PT-005-01	Validation technique et biologique d'une série analytique en pharmacogénétique
HB-ANA-PT-024-01	Processus séquençage en pharmacogénétique
HB-ANA-PT-025-01	Processus RFLP en pharmacogénétique
HB-ANA-PG-002-01	Habilitation technique à effectuer des actes de pharmacogénétique
HB-PostA-PG-003-01	Processus post-analytique en pharmacogénétique
HB-POL-PG-001-01	Organisation générale du secteur pharmacogénétique
HB-RH-DE-004-01	Fiche de poste technicien secteur pharmacogénétique
HB-ANA-PG-015-01	EEQ en pharmacogénétique
HB-ANA-MT-042-01	Procédure d'utilisation TAQMAN lightcycler
HB-ANA-PT-004-01	Technique FRET lightcycler
HB-ANA-PT-001-01	Light cycler TPMT et IL 28b
HB-ANA-014-01	Révélacion gel agarose PCR RFLP
HB-ANA-PT-009-01	Génotypage IL 28b
HB-ANA-PT-031-01	Génotypage UGT 1A1
HB-ANA-PG-003-01	Processus PCR, généralités et validaton
HB-ACHAT-PT-001-01	Pipettes contrôle pharmacogénétique
HB-ANA-PT-003-01	Validation amplification PCR en temps réel TAQMAN et FRET
HB-ANA-MT-039-01	Génotypage Polymorphismes itpa

HB-ANA-PT-002-01	Génotypage CYP 2D6
HB-ANA-PT-011	Génotypage CYP 2C19
HB-ANA-MT-043-01	Extraction ADN Qiagen sur Qiacube
HB-ANA-PT-010-01	Génotypage CYP 2C9
HB-ANA-PT-013-01	Génotypage CYP 1A2
HB-ANA-PT-029-01	Génotypage CYP 2B6
HB-ANA-PT-030-01	Génotypage TPMT
HB-ANA-PT-032-01	Génotypage ABCB1 PGP
HB-ANA-MT-044-01	Dosage ADN spectrophotomètre Genequant

Tableau 7 : liste des procédures de pharmacogénétique sur Kalilab

3.2. Rapport Qualité

Dans le cadre de l'accréditation selon la norme ISO 15189 du LBMMS, il m'a été demandé d'effectuer un audit interne pour s'assurer que la méthode de génotypage de la TPMT était conforme aux exigences qualité.

3.2.1. Difficultés rencontrées

La manière d'aborder la norme a été la première difficulté. En effet, elle ne contient pas d'exigences spécifiques mais est plutôt générale. Elle fournit une liste d'items sur lesquels le laboratoire doit s'appuyer pour bâtir son propre Système de Management de la Qualité. Cette liste est étendue afin d'être le plus largement applicable et la plus internationale possible. Il est donc nécessaire de commencer par un travail d'interprétation de la norme, dans le but de positionner le laboratoire vis-à-vis de cette dernière. En effet, elle fournit une méthode de travail pour la préparation à la mise en place d'un SMQ mais reste vague sur son contenu. Il est donc primordial d'adapter cette norme en fonction des exigences des activités spécifiques du laboratoire. C'est le moyen d'aborder le sujet en attendant que le COFRAC apporte les précisions manquantes.

Un des problèmes majeurs rencontrés lors de la mise en place d'un Système de Gestion de la Qualité est la différence entre le niveau d'exigence de la certification de l'établissement et celui de l'accréditation du laboratoire de biologie médicale. En effet, l'accréditation est une démarche beaucoup plus contraignante. Ce décalage va provoquer un ralentissement de la mise en place de la Norme ISO 15189 au sein du laboratoire. En outre, la structure administrative d'un CHU est extrêmement lourde ce qui nécessite des efforts de communication particulièrement importants.

Le coût de la démarche d'accréditation est également un problème qui freine le processus Qualité. Ce coût englobe la démarche en elle-même auprès du COFRAC, le temps au personnel, les formations Qualités, et le matériel pour être conforme à la norme.

A cela s'ajoute la difficulté de trouver des formations appropriées auprès d'organismes spécifiques (ex : AFNOR). Il convient également de libérer le personnel pour suivre ces formations.

Ce problème de financement est d'autant plus important que le budget de l'hôpital est constant et que les effectifs ont tendance à baisser. Par exemple, le PAM a dû économiser sur son budget annuel pour se financer les services d'un consultant qualité : Else Consultant. Néanmoins, même si le coût de cette démarche peut sembler important au premier abord, elle

est indispensable pour limiter les risques d'erreurs et sécuriser les analyses. Il y aura une répercussion financière significative lorsque la norme sera mise en place.

A l'heure actuelle, le LBMMS a constitué un dossier d'accréditation partielle qu'il doit déposer avant Mai 2013 auprès du COFRAC. Ce dossier délimite le premier champ d'accréditation. Ce dernier porte sur l'ensemble des actes analytiques effectués par le laboratoire mais ne comporte pas ceux réalisés par l'unité fonctionnelle de pharmacogénétique et de pharmacologie spécialisée dans laquelle j'effectue mon stage. Cependant, l'accréditation partielle de cette unité fonctionnelle est bien inscrite au calendrier prévisionnel demandé par le COFRAC.

3.2.2. Analyse des points positifs et négatifs selon la méthode des 5M

Nous avons répertorié le maximum d'informations possibles durant notre stage hospitalier. Cependant, malgré le niveau élevé d'exigence de la Norme ISO 15189, son contenu reste pour le moins évasif sur certains points. C'est pourquoi, après avoir interprété cette Norme ISO 15189, nous avons classé les informations récoltées selon cinq points.

Cette méthode est plus connue sous le nom de la règle des cinq M ; Milieu, Matériel, Méthode, Main d'œuvre, Moyen.(42), (43) et (44)

1) Points positifs

a) Milieu :

Les locaux sont adaptés, l'espace est suffisant et il n'y a pas d'activité incompatible dans la même pièce. De plus, l'entretien des locaux est assuré par la fédération d'entretien, les déchets biologiques sont évacués par le personnel de ménage. Par ailleurs, le laboratoire possède un circuit d'élimination des déchets. Les DASRI (Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux) sont traités sur place, les déchets à prions sont traités par la société Pollen. Les liquides Acides/Bases par la société Labo Express Service.

b) Matériel :

Le matériel et les réactifs ont le marquage CE. Le laboratoire dispose de tout le matériel nécessaire pour la réalisation des analyses et celui-ci est qualifié (ex : pipette non critique car en pharmacogénétique, on effectue des analyses qualitatives). De plus, il existe des fiches de vie des pipettes ainsi que des comptes-rendus de qualification présents dans chacune des pièces. Le gros matériel est identifié et le matériel défectueux est mis hors service et étiqueté clairement. On dispose également de la traçabilité de la maintenance au poste de travail. Des

fiches de maintenance, datées et signées sont présentes au-dessus des appareils. Enfin, sur chaque appareil, on dispose de l'historique des anomalies survenues (cahier de suivi)

c) Méthode :

Tous les documents diffusés font l'objet d'une validation avant diffusion. La mise en application de ces derniers est immédiate. Néanmoins, il faut être certain qu'ils ont été lus. De ce fait, le cadre responsable doit sensibiliser son personnel. Sur Kalilab, logiciel de gestion documentaire, il existe une attestation de lecture pour l'ensemble des documents.

-Pré-analytique ;

Il y a une vérification des feuilles de prescription par une personne habilitée, soit un ouvrier professionnel en biologie ou un technicien de laboratoire. Les enregistrements de la demande d'analyse sont réalisés conformément à la norme ISO 15189 par les ouvriers professionnels en biologie. Les analyses comportent des fiches de consentement signées.

-Analytique ;

Dans la plupart des cas, le laboratoire utilise des procédures analytiques reconnues ou validées en interne qui sont répertoriées dans les classeurs PKGN Gènes et PKGN Techniques. Les documents pour la réalisation des analyses comprennent la plupart des informations nécessaires à la bonne réalisation des analyses ex : méthode, type d'échantillon, interférences. Le laboratoire participe à des comparaisons inter laboratoire avec l'hôpital de Marseille ainsi que dans le cadre du réseau national de pharmacogénétique.

-Traçabilité des analyses :

La personne qui réceptionne les échantillons est bien identifiée. Les numéros de lot des réactifs sont bien inscrits. Les résultats des analyses sont bien archivés. Les fiches de résultat et les fiches de consentements sont gardées à vie dans un placard situé sous l'appareil Gel Doc pièce B05-02-14. De plus, les résultats sont mis en ligne informatiquement dans le dossier S://commun. L'accès à ce dossier est sécurisé, il faut un mot de passe.

d) Main d'œuvre :

Le personnel de laboratoire est qualifié et habilité pour les tâches exécutées. Chaque technicien effectue des tests d'habilitation lors de la prise de son poste. Les fiches d'habilitation sont conservées. Les fiches de fonctions sont présentes pour le personnel technique.

e) Moyens :

Des audits internes sont réalisés (ex : audit technique dans le secteur pharmacologie spécialisée le 12 mars 2012, audit général le 22 mars 2013). Il existe un plan de formation pour le personnel. C'est le cadre responsable qui effectue les inscriptions en fonction des demandes du personnel suite à un entretien annuel.

2) Points négatifs

a) Milieu :

La tolérance sur les conditions ambiantes n'est pas définie (température, humidité...). Ensuite, l'accès aux zones techniques n'est pas contrôlé et l'entrée dans le laboratoire n'est pas sécurisée. Les enceintes de conservation des échantillons et des réactifs sont adaptées (présence d'un thermomètre), mais il n'y a pas de signal d'alarme en cas de variation de température. De même, la température des réfrigérateurs est contrôlée, mais il n'existe pas de relevé de température. Le logiciel OCA Soft doit être mis en place afin de relever les écarts de température. Ce logiciel présente l'avantage de relier directement les sondes à un ordinateur.

b) Matériel :

En cas de non-conformité du matériel, celui-ci est envoyé à un prestataire externe mais la prestation n'est pas réalisée sous accréditation. Par ailleurs, un contrôle interne est réalisé sur les automates après réparation ou révision mais il n'y a pas de procédure écrite ni de disposition particulière pour les autres matériels.

c) Méthode :

Il n'existe pas de système d'évaluation pour vérifier que le personnel est au courant des modifications. Ce système serait un indicateur très intéressant même s'il est difficile à mettre en place.

-Pré-analytique :

Il subsiste des non-conformités sur les feuilles de prescription (informations incomplètes) et le transport des échantillons n'est pas toujours conforme (temps et conditions de transport).

-Analytique :

Le manuel des procédures analytiques n'est pas complet et n'est pas mis à jour périodiquement. Théoriquement, il devrait y avoir une mise à jour annuelle pour les documents techniques. Les documents relatifs au management doivent faire l'objet d'une

mise à jour tous les deux ans. Il subsiste des documents sauvages sur le mur. Sur certaines procédures, il existe des commentaires non datés et non signés. Il n'y a pas encore de revue de direction dans le PAM. Elle doit être effectuée une fois par an.

Enfin, le MAQ du laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire n'est pas à jour. En effet, il est intégré dans le MAQ du LBMMS qui est en cours d'écriture. Après la fin de rédaction de ce dernier, le MAQ propre au laboratoire sera mis à jour.

-Traçabilité des analyses :

Il manque des informations sur certains bons de prescription (identité du préleveur, date et heure...)

d) Main d'œuvre :

La fiche de fonction Biologiste est en cours d'écriture.

Le nombre de personnes s'occupant de l'assurance qualité reste insuffisant. De plus, la formation du personnel sur la qualité est insuffisante, elle se fait sur le terrain. L'ensemble du personnel a reçu une formation de sensibilisation par Françoise Beyerle durant l'année 2012.

Le personnel n'a pas assez de temps pour s'occuper du Système Qualité de leur laboratoire (Si le LABM a une activité importante ou une organisation complexe, la Direction du LABM aurait tout intérêt d'avoir un responsable qualité à temps plein, gardant en mémoire que cette décision reflète aussi l'engagement de la direction dans le système qualité, ce qui est un élément clé pour obtenir l'accréditation selon les exigences ISO.

Depuis cinq ans, des groupes Qualités, composés de personnel de différents postes, se réunissent dix fois par an pour discuter des tâches à effectuer. De plus, le bilan sur le suivi des indicateurs Qualités est présenté (ex : arrivée des gaz de sang dans la glace). Le compte-rendu de ces réunions est affiché sur un panneau dans le couloir au 1^{er} étage et disponible sur le réseau.

3.3. Rapport qualité sur l'ensemble de cette méthode

Après avoir répertorié les différentes étapes que requiert le génotypage de la TPMT, la manière la plus simple de couvrir la totalité de la méthode a été d'utiliser un outil qualité : le QQQQCP (Quoi, Qui, Où, Quand, Comment, Pourquoi). Ce rapport Qualité s'appuie sur la Norme ISO 15 189 V2007 qui sert de référence pour la future accréditation du laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire auquel appartient l'Unité Fonctionnelle de pharmacologie spécialisée.

3.3.1. Phase pré-analytique

N°	Tâches	Qui ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Annexe ISO 15189 V.2012
1	Réception et enregistrement de l'échantillon	Ouvrier Professionnel en Biologie	HEH B05-01-16	24h/24 et 7j/7	MAQ/008 Classeur Rouge « Réception, Tri, Enregistrement des demandes d'examens » p4à6 Pièce HEH B-05-01-16	Feuille de prescription conforme 5.4.1 Enregistrem ent conforme 5.4.7
2	Récupération des échantillons	Technicien(ne) de laboratoire	HEH B05-01-16 Bac pharmacologie	Plusieurs fois/jour	Manuel/ Procédure pour la réception des analyses de pharmacogénétique. Vesrion 02 Mars 2010p1. Classeur PKGN Techniques UF 21329 Pièce HEH B-05-02-13	*
3	Remonter des échantillons et stockage	Technicien(ne) de laboratoire	Chambre froide HEH B-05-02-09	Plusieurs fois/jour	Manuel, à pied	Conforme 5.4.6.

*NB : Il n'existe pas de point dans la norme concernant la récupération des échantillons

N°	Tâches	Qui ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Annexe ISO 15189 V.2012
4	Enregistrement de l'échantillon	Technicien(ne) de laboratoire	Pièce extraction d'ADN B-05-02-15	1 fois/jour	Procédure pour la réception des analyses de pharmacogénétique. Version 02 Mars 2010 p2 Classeur PKGN Techniques UF 21329 Pièce HEH B-05-02-13	Conforme 5.4.7
5	Réalisation de l'aliquotage	Technicien(ne) de laboratoire	Pièce extraction d'ADN B-05-02-15	1 fois/jour	Procédure pour la réception des analyses de pharmacogénétique. Version 02 Mars 2010 p3. Classeur PKGN Techniques UF 21329 Pièce HEH B-05-02-13	Conforme 5.5.1
6	Stockage des aliquots	Technicien(ne) de laboratoire	Congélateur C1029 2 ^{ème} rangée en partant du haut « Tubes primaires UF 21329 »	1 fois / jour le matin	Procédure pour la réception des analyses de pharmacogénétique Version 02 Mars 2010 p3. Classeur PKGN Techniques UF 21329 Pièce HEH B-05-02-13	Conforme 5.4.14

Tableau 8 : QOOQCP pré-analytique

On constate que l'ensemble des étapes pré-analytiques est conforme selon la norme ISO 15 189. Les procédures sont bien présentes mais ne sont pas actualisées annuellement.

3.3.2. Phase analytique

N°	Tâches	Qui ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Annexe ISO 15189 V.2012
7	Extraction ADN patient	Technicien(ne) de laboratoire	Pièce Extraction ADN B-05-02-15	Lorsque le nombre d'échantillon est suffisant (une dizaine en général)	Procédure Extraction ADN sur sang total par le kit QIAGEN sur automate QIACUBE Version 01 janvier 2010	Conforme selon procédure analytique validée
8	Stockage des extraits dans la chambre froide	Technicien(ne) de laboratoire	Chambre froide HEH B-05-02-09	Post extraction	Procédure Extraction ADN sur sang total au phénol Version 03. Mars 2007 p7 classeur PKGN Techniques UF 21329	Conforme selon procédure analytique validée
9	Récupération et préparation des échantillons pour la PCR	Technicien(ne) de laboratoire	Chambre froide HEH B-05-02-09	Avant PCR en temps réel	Protocole spécifique selon la PCR à réaliser (pas de protocole type) Procédure classeur PKGN technique	Conforme selon procédure analytique validée
10	Réalisation de la PCR en temps réel	Technicien(ne) de laboratoire	Pièce « Thermocycleurs » B-05-02-02	Matin ou Après-Midi selon disponibilité	Procédure d'exécution du génotypage de la TPMT Version 05 Novembre 2012. Classeur PKGN 21329 Gène Pièce HEH B-05-02-13	Conforme selon procédure analytique validée

N°	Tâches	Qui ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Annexe ISO15189 V.2012
11	Révélation post PCR	Technicien(ne) de laboratoire	B-02-14		Electrophorèse sur gel puis mise en évidence par BET et révélation par UV sur GEL DOC XR BIORAD Procédure à modifier	Conforme selon procédure analytique validée
12	Impression des résultats (Courbe + photo amplification)	Technicien(ne) de laboratoire	Courbe imprimante B-05-02-02 Sacanner Photo grâce GEL DOC XR B-05-02-14	Après la réalisation de la PCR en temps réel	Impression et scan	*

Tableau 9 : QOOQCP analytique

La réalisation de l'examen est entièrement détaillée dans les procédures adéquates. La norme ISO 15189 stipule seulement de posséder des procédures analytiques validées.

*NB : Il existe une procédure d'impression des résultats dans le dossier informatique « GBEA secrétariat » dans le module S : commun.

3.3.3. Phase post-analytique

N°	Tâches	Qui ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Annexe ISO 15189 V.2012
13	Validation post-analytique	PH	Bureau PH ou B-05-02-13B		Interprétation et vérification des courbes. Paraphes de la PH	Conforme 5.7.2
14	Impression du compte rendu de résultat	Secrétariat	Bureau HEH B-05-02-03		En double exemplaire : 1 pour notre UF, 1 pour le praticien demandeur de l'analyse sous lettre cachetée. Une fiche est également envoyée au service demandeur pour confirmer que l'analyse a bien été effectuée	Conforme 5.8.1
15	Envoi des résultats		HEH B-05-02-03		Procédure pour l'envoi des résultats de l'UF 21329 Version 01 Mars 2011. Situé sur ordinateur HEH Bioch/S :commun/UF 21329/ GBEA Secrétariat pharmaco	Conforme 5.8.2

N °	Tâches	Qui ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Annexe ISO 15189 V.2012
16	Les résultats sont ensuite rentrés sur Synergie	Secrétariat	HEH B-05-02-04			*
17	Archivage des résultats	Technicien(ne) de laboratoire	Placard n°4 dans la pièce HEH B-05-02-14 pour les résultats		Placard n°4 dans la pièce HEH B-05-02-14 pour les résultats. Pour les bons de demandes ; Procédure pour l'envoi des résultats de l'UF 21329. Version 01 Mars 2011 p2	Conforme 5.8.6

Tableau 10 : QOOQCP post-analytique

La phase post-analytique est également conforme selon la Norme ISO 15189.

*NB : Le serveur Synergie est une application volontaire du laboratoire, de ce fait il n'est pas mentionné dans la Norme ISO 15189.

CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR : M. CACCIAPUOTI Clément

A l'heure actuelle, le laboratoire de biologie médicale multi site (LBMMS) des HCL a constitué un dossier d'accréditation partielle qu'il a dû déposer avant octobre 2013 auprès du COFRAC (Comité Français d'Accréditation). Ce dossier précise les premiers champs d'accréditation. Il porte sur un certain nombre d'actes analytiques choisis par le LBMMS. Ceux réalisés par l'unité fonctionnelle de pharmacologie spécialisée dans laquelle j'ai effectué mon stage, n'étant pas concernés pour cette accréditation partielle. Cependant, l'accréditation partielle de cette unité fonctionnelle devra être inscrite au calendrier prévisionnel demandé par le COFRAC pour les années à venir.

Après avoir revu l'ensemble de cette technique d'analyse d'un point de vue qualité, nous constatons que le processus du génotypage de la TPMT (Thiopurine S-Methyl Transférase) est conforme à la norme ISO 15 189.

Quelques non-conformités observées pendant mon stage autour du processus analytique ont été levées depuis. On peut citer, par exemple, la mise en ligne de la documentation du laboratoire de pharmacogénétique sur le logiciel de gestion qualité: Kalilab, ainsi que la description des fonctions du personnel identifiées intervenant dans ce secteur.

Un des problèmes majeurs rencontrés lors de la mise en place d'un système de gestion de la qualité est la différence entre le niveau d'exigence de la certification de l'établissement et celui de l'accréditation du laboratoire de biologie médicale. En effet, l'accréditation est une démarche beaucoup plus contraignante. Ce décalage peut provoquer un ralentissement de la mise en place de la norme ISO 15189 au sein du laboratoire, en raison de la lourdeur et de la complexité de la structure administrative d'un CHU.

Le coût de la démarche d'accréditation est également un problème qui freine le processus qualité. Ce coût englobe, la démarche en elle-même auprès du COFRAC, le temps consacré par le personnel, les formations qualité, et le matériel pour être conforme à la norme. A cela s'ajoute la difficulté de trouver des formations appropriées auprès d'organismes spécifiques (ex : AFNOR (Association Française de Normalisation)). Il convient également de libérer le personnel pour suivre ces formations. Néanmoins, même si le coût de cette démarche peut sembler important au premier abord, elle est indispensable pour limiter les risques d'erreurs et sécuriser les analyses. Ainsi, il y aura une répercussion financière significative lorsque la norme sera mise en place.

Outre l'objectif premier d'uniformiser les pratiques des laboratoires de biologie médicale, la mise en place obligatoire de la norme ISO 15189 questionne également leurs performances organisationnelles. La faisabilité de l'accréditation dépend, en effet, très fortement de l'organisation. Un laboratoire doit désormais être techniquement performant et au meilleur coût, répondre aux attentes des prescripteurs et des patients et veiller à ce que le service rendu soit régulièrement évalué, en s'appuyant sur des équipes médicales et médico-techniques bien formées. Derrière l'accréditation, c'est la question de l'efficacité des laboratoires hospitaliers qui est posée. Après la mise en place d'une démarche qualité, prouvant le respect de la norme ISO 15189, les laboratoires hospitaliers sont avant tout face à un impératif économique.

Cette norme me paraît indispensable pour gagner en productivité et permettre une meilleure organisation de l'acte d'analyse et de sa traçabilité.

Maintenant pouvons-nous nous interroger sur l'avenir de cette norme ?

Nous observons une évolution commune entre la réglementation des laboratoires de biologie médicale et les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) des médicaments dans l'industrie pharmaceutique. On peut citer par exemple des harmonisations dans le domaine de la métrologie, les méthodes de résolutions de problèmes ou encore les systèmes de gestion centralisés des conditions de stockages des produits.

Pourrait-on assister à l'apparition de véritable service d'Assurance Qualité hospitalier ?

Selon toute vraisemblance, les tendances de l'EMA (European Medical Agency) portent sur les études de stabilité des produits, réactifs et échantillons ainsi que les interactions contenant-contenu. Il y a fort à parier que ces études seront intégrées ultérieurement dans la norme ISO 15189.

Point de départ de la réglementation de l'organisation des pratiques de biologie médicale, la norme ISO 15189 risque de subir des évolutions, allant vers une réglementation de plus en plus précise mais également contraignante.

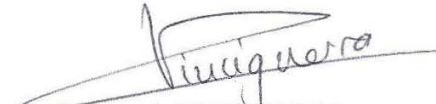
Le Président de la thèse,
Nom : COHEN R.

Signature :



Vu et permis d'imprimer, Lyon, le **8 SEP. 2014**
Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et
Biologiques, Faculté de Pharmacie

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,



Professeure C. VINCIGUERRA

5. Bibliographie

1. Gaillard M. Démarche Qualité à l'Hôpital : projet de certification iso 9001 de l'Unité de Préparation Centralisée Pharmaceutique de l'Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon. Th D Pharm. Université Claude Bernard Lyon 1, 2011.
2. COFRAC. Accréditation et biologie médicale, enjeux et perspective en 6 questions. http://www.cofrac.fr/communication/brochures/cofrac_leaflet_sante.pdf, consulté le 4 janvier 2012.
3. Qualité Online. L'accréditation COFRAC pour un LABM. http://www.qualiteonline.com/rubriques/rub_3/dossier-12-l-accréditation-cofrac-pour-un-labm-laboratoire-d-analyses-biologiques-medicales.html, consulté le 17 octobre 2012.
4. HAS. Activités de Biologie Médicale et certification des établissements de santé. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03/activite_biologie_medicale_certification.pdf, consulté le 17 octobre 2012.
5. HAS. Articuler accréditation des laboratoires de biologie médicale et certification des établissements de santé. http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1149397/articuler-accréditation-des-laboratoires-de-biologie-medicales-et-certification-des-etablissements-de-sante, consulté le 5 décembre 2012
6. Axess Qualité. <http://www.axess-qualite.fr/management-qualite.html>, consulté le 12 novembre 2012.
7. Preynat. La documentation Qualité. Cours de 5^{ème} année de pharmacie.
8. Axess Qualité. La norme ISO 15 189. <http://www.axess-qualite.fr/norme-iso-15189.html>, consulté le 2 novembre 2012.
9. COFRAC. Norme ISO 15 189 Version Avril 2007, consulté le 15 novembre 2012.
10. COFRAC. Norme ISO 15 189 Version Décembre 2012, consulté le 2 février 2013.
11. BIO RAD, Cooper G. Dispositions et réflexions pour les LABM désirant être accrédités selon ISO 15189. <http://www.qcnet.com/Portals/72/PDFs/ISO15189Bklt.pdf>, consulté le 21 décembre 2012.
12. COFRAC. Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, sh ref 02 révision 01.
13. Bio Qualité. Analyse de la norme 15189 Chapitre 4, version 02 1er octobre 2010.
14. Bio Qualité. Analyse de la norme 15 189 Chapitre 5, version 01 1er mars 2011.

15. Power Point 2012-01 Formation interne Accréditation par FB, ACQ, NR.
16. HCSP. Guide de bonne exécution des analyses et démarche Qualité dans les laboratoires <http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=ad353637.pdf>, consulté le 5 décembre 2012.
17. Tsvetanova M. La démarche d'accréditation d'un laboratoire de pharmacogénétique privé selon la norme ISO 15189. Th D Pharma Nantes 2011.
18. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. (JO 15 janvier 2010) consulté le 12 novembre 2012.
19. LOI n° 2009-879 du 21 juillet 2009 portant sur la réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires. . (JO 22 juillet 2009) consulté le 22 Novembre 2012.
20. Arrêté du 17 octobre 2012 définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation (JO 20 octobre 2012).
21. HAS. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-05/20120424_e5_niveaux_certification.pdf, consulté le 2 février 2013.
22. Axess Qualité. La procédure d'accréditation expliquée pas à pas. <http://www.axess-qualite.fr/demarche-qualite-laboratoire.html>, consulté le 13 octobre 2012.
23. COFRAC. Le portail de l'accréditation en France. <http://www.cofrac.fr/fr/cofrac/processus.php> consulté le 8 octobre 2012.
24. Philippe MERLE, Marie-Cécile CHRETIEN. Le laboratoire hospitalier face à l'accréditation ISO 15189 : quand la qualité incite à l'efficacité économique. Finances hospitalières. <http://www.finances-hospitalieres.fr/print.asp?679950863976B7>, consulté le 4 décembre 2012.
25. Ministère des affaires sociales et de la santé. Fiche pédagogique, La communauté hospitalière de territoire (CHT). http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Fiche_HPST_-_La_communaute_hospitaliere_de_territoire.pdf, consulté le 20 décembre 2012.
26. CHU-Lyon. Présentation des HCL. http://www.chu-lyon.fr/web/attached_file/Plaque%20HCL_Francais_BD.pdf?ComponentId=kmelia16&attachmentId=17535, consulté le 2 janvier 2013.
27. Procédure organisationnelle du laboratoire de pharmacologie spécialisée. Classeur PKGN Gene.

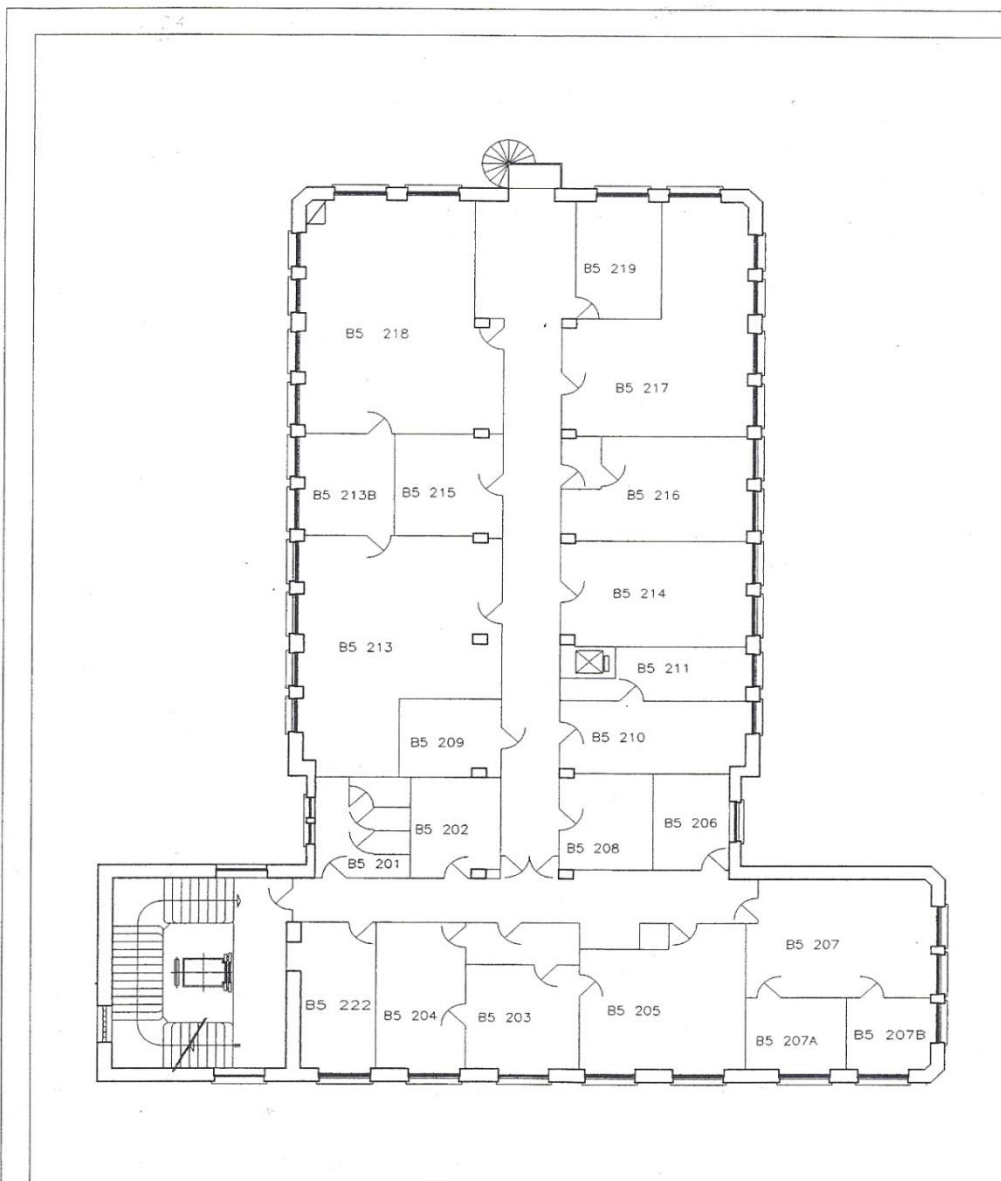
28. Becquemont L. Accueil. www.pharmacogenetics.fr, consulté le 18 novembre 2012.
29. Procédure d'exécution du génotypage de la Thiopurine Methyl Transferase Version 04. PE.05 ANA.BM Classeur PKGN Gene pièce.
30. Thériaque. Monographie du Purinethol 50 mg. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SAC&id=2186>, consulté le 20 novembre 2012.
31. Thériaque. Monographie de l'Imurel 25 mg. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=17867>, consulté le 20 novembre 2012.
32. Becquemont L. Cibles Thiopurine Methyl transférase. www.pharmacogenetics.fr, consulté le 18 novembre 2012.
33. Monteil-Ganier C. Mercaptopurine et polymorphisme de la TPMT. Th D Pharm, Nantes, 2003.
34. Hôpital Edouard Herriot. Extraction d'ADN sur sang total par le kit Qiagen sur l'automate QIACUBE. Ref HB-ANA-MT-043-01, consulté le 10 novembre 2013.
35. Hôpital Edouard Herriot. Processus PCR. Ref HB-ANA-PG-0003-01, consulté le 7 mai 2014.
36. Hôpital Edouard Herriot. Révélation sur gel d'agarose. Ref HB-ANA-IT-014-01 consulté le 7 mai 2014.
36. ENS lyon. La PCR. <http://acces.enslyon.fr/biotic/biomol/techgen/html/schempcr.htm>, consulté le 1 décembre 2012.
37. ilm. La PCR en temps réel. <http://www.ilm.pf/PCRtempsreel>, consulté le 18 novembre 2012.
38. Applied Biosystem ; TaqMan® Drug Metabolism Genotyping Master Mix ; 2010; s.ed
39. Applied Biosystem ; TaqMan® Drug Metabolism Genotyping Assays ; 2005; s.ed.
40. Dossier de presse Netika distribution. La Qualité ensemble Edition 2009-2010 Nicolas Causse.
41. Premier et unique logiciel certifié de management de la qualité Kalilab V8, Netika distribution.
42. HAS. Rapport de certification V2010 Hôpital Edouard Herriot, Mai 2012.(14)

43. Else Consultant. Compte rendu diagnostic HCL : HEH Biochimie et Pharmacotoxicologie. 25 août 2011.

44. Else Consultant. Compte rendu de diagnostic, Hospices Civils de Lyon (4 sites) 23 août 2011.

6. ANNEXES

6.1 Annexe 1 : Plan de l'UF 21 329



Hôpital Edouard HERRIOT
Bâtiment 5 2ème Etage

Etat des Lieux

Echelle : 1/200 (5mm)
Dessiné le : 20/09/99
Dessiné par : BOZZI J.M.

6.2 Annexe 2 : Protocole pour la réalisation du génotypage de la TPMT, ici pour sept patients. -Source HEH

Protocole PCR GENOTYPAGE TPMT 460 sur Lightcycleur 480				
Date :		Opérateur :		
N°	PATIENTS	[ADN] (ng/μL)	Qté eau (μL) qsp 11,25μl	Qté ADN (μL) environ 10 ng/tube
1	Blanc		0,50	0,00
2	contrôle FRET			
3	1375 -			0,50
4	1376 -			0,50
5	1377 -			0,50
6	131 +			0,50
7	129 +			0,50
8	127 -			0,50
9	123 +			0,50
10	blanc		0,50	0,00
11	blanc		0,50	0,00

		TPMT	
volume en μL		MIX = n+1	12
2X TaqMan Universal PCR Master Mix, No AmpErase UNG	O. le 24/10/2012	12,5	150
20X Drug Metabolism Genotyping Assay Mix	O. le 24/10/2012	1,25	15
Eau	O. le 24/10/2012	10,75	129
	Volume à redistribuer	24,5	294

L'ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

CACCIAPUOTI Clément

Rapport Qualité sur le Génotypage de la Thiopurine Méthyl Transférase dans le cadre d'une accréditation partielle selon la Norme Iso 15 189 à l'Hopital Edouard Herriot

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2013, 114 p.

RESUME :

La biologie médicale est un élément central du parcours de soins des patients qui détermine environ 60% des diagnostics en ville et à l'hôpital. Les biologistes jouent un rôle de premier plan en dialogue avec les autres professionnels de santé.

L'exercice de cette profession s'est considérablement modernisé. Plusieurs facteurs sont à l'origine de cette modernisation ; les progrès techniques, l'exigence croissante de qualité et de traçabilité des résultats et l'évolution de la réglementation européenne. La mise en place d'une formation initiale et continue des professionnels, le respect de bonnes pratiques élaborées au niveau national et la mise en place d'un contrôle de la qualité des actes témoignent des efforts entrepris pour maintenir une biologie d'excellence sur le territoire français. C'est dans le but de poursuivre et de renforcer ces efforts qu'une proposition de loi a été émise.

Dans ce contexte, l'article 69 de la loi n°2009-879 du 21 juillet 2009 rend obligatoire l'accréditation des Laboratoires d'Analyses Médicales selon la norme ISO 15189

Mon travail réalisé au sein de l'Unité fonctionnelle de pharmacologie spécialisée de l'hôpital Edouard Herriot de Lyon, consistait à établir un rapport qualité sur le génotypage du gène codant pour une enzyme la thiopurine methyl transferase (TPMT). Cette protéine est impliquée dans le métabolisme de médicaments thiopuriques, notamment utilisés en tant qu'immunosuppresseurs. Comme tous les gènes ce dernier possède des polymorphismes. Ceux-ci vont modifier l'activité de l'enzyme .On distingue les Métaboliseurs Lents (défaut d'activité), les Métaboliseurs Rapides (activité normale) et les Métaboliseurs Ultra Rapides (activité excessive). L'analyse Qualité de cette technique comprend la partie pré-analytique, analytique et post-analytique .L'objectif de ce rapport est de déceler les écart vis-à-vis de la norme ISO 15189. Le laboratoire de biologie médicale multisite, dont fait parti l'unité de pharmacologie spécialisée étant rentré dans une démarche d'accréditation partielle auprès du Comité Français d'Accréditation.

MOTS CLES :

Pharmacogénétique

Qualité

Accréditation

ISO 15189

JURY :

Mme GAGNIEU Marie-Claude, Docteur en Biologie -Praticien Hospitalier, M. COHEN Richard, Praticien Hospitalier-Professeur des Universités, M. François PARANT, Pharmacien-Biologiste

DATE DE SOUTENANCE : Jeudi 2 octobre 2014

ADRESSE DE L'AUTEUR :

7 avenue du château – 69003 Lyon