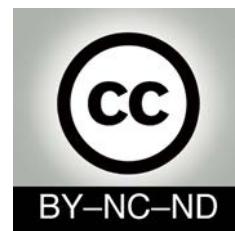




<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

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° 107

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 2 octobre 2014

par

Mme ANTONY Charlotte

Née le 20 juillet 1989 à Viriat (01)

\*\*\*\*\*

**LA QUALITE DANS L'UF BIOLOGIE DES TUMEURS DE L'HOPITAL EDOUARD HERRIOT :  
ETAT DES LIEUX ET PERSPECTIVES, EN VUE DE L'ACCREDITATION SELON LA NORME  
ISO 15189 DES EXAMENS DE BIOLOGIE MEDICALE**

\*\*\*\*\*

JURY

Mme FERRARO-PEYRET Carole, Docteur en Pharmacie

Mme GADOUX Mylène, Ingénieur en Biologie

Mme FRETIGNY Mathilde, Docteur en Pharmacie

## 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 et de la Vie Universitaire M. Philippe LALLE

## Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

### SANTE

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

### SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- Faculté des Sciences et Technologies Directeur : M. Fabien DE MARCHI
- UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) Directeur : M. Yannick VANPOULLE
- Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) Directeur : M. Pascal FOURNIER
- I.U.T. LYON 1 Directeur : M. Christophe VITON
- Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
- ESPE Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1  
ISPB - Faculté de Pharmacie 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. GABRIELE

#### **LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES**

#### **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE**

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**  
Monsieur Raphaël TERREUX (Pr – HDR)  
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)  
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)  
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU)  
Madame Christelle MACHON (AHU)
- **PHARMACIE GALENIQUE-COSMETOLOGIE**  
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)  
Madame 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 Plamen KIRILOV (MCU)  
Monsieur Fabrice PIROT (MCU - PH - HDR)  
Monsieur Patrice 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 PAILLER-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)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**  
Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)  
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**  
Madame Alexandra CLAYER-MONTEBAULT (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 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 RIOUFIOL (MCU - PH)

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE**

- **TOXICOLOGIE**  
Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)  
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)  
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU-PH)  
Madame Léa PAYEN (MCU -HDR)
- **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 Nicola KUCZEWSKI (MCU)  
  
Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)  
Monsieur Pascal THOLLOT (MCU PAST)  
Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A**

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)  
Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)  
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)  
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

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

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

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)  
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)  
Madame Ghislaine DESCOURS (AHU)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (Pr - HDR)  
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)  
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B**

- **BIOCHIMIE – 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**  
Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)  
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)
- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**  
Monsieur Philippe LAWTON (Pr - HDR)  
Madame Angélique MULARONI (MCU)  
Monsieur Patrice SEBERT (MCU – HDR)  
Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)
- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**  
Madame Emilie BLOND  
Madame Christelle MOUCHOUX  
Madame Florence RANCHON
- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**  
Monsieur Eyad AL MOUAZEN 85<sup>ème</sup> section  
Monsieur Boyan GRIGOROV 87<sup>ème</sup> section  
Madame Mylène HONORAT 85<sup>ème</sup> section  
Monsieur Abdalah LAOUINI 85<sup>ème</sup> section  
Madame Marine CROZE 86<sup>ème</sup> 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**

## **Serment de Galien**

*Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes*

*condisciples :*

*D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma*

*reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;*

*D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non*

*seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du*

*désintéressement ;*

*De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et*

*favoriser des actes criminels.*

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

*d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

# **REMERCIEMENTS**

**A Madame Carole Ferraro-Peyret,**

*Qui a accepté, avec beaucoup de gentillesse, de présider ce jury de thèse. Je vous remercie pour votre accueil, votre disponibilité, vos précieux conseils et encouragements durant mon stage hospitalier ainsi que pendant la préparation de ce manuscrit. Je garderai un excellent souvenir de notre collaboration.*

*Veuillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.*

**Je tiens également à remercier l'ensemble des membres de mon jury,**

**Madame Mylène Gadoux,**

*Je vous remercie pour l'intérêt porté à mon travail en acceptant de faire partie de ce jury de thèse. Je vous remercie également pour votre disponibilité et vos conseils avisés.*

*Veuillez recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance.*

**Madame Mathilde Fretigny,**

*Je vous remercie d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse, soyez assurée de l'honneur que vous me faites.*

*Veuillez trouver ici l'assurance de mon profond respect.*

**Mes remerciements s'adressent ensuite,**

**A mes parents Annick et Philippe,**

*Merci pour votre soutien durant ces nombreuses années d'études, sans vos encouragements et vos précieux conseils je ne serais pas celle que je suis aujourd'hui, tant au niveau professionnel que personnel. Je vous aime tant. Merci maman, merci papa.*

**A mon petit frère Romain,**

*Plus si petit maintenant je sais ! Merci d'avoir été là pour moi mon Romain. Maintenant que mes études sont sur le point de s'achever c'est à toi de commencer les tiennes, je suis très fière de toi ! Je t'aime fort.*

**A ma famille,**

*Je vous remercie de votre présence et votre amour depuis 25 ans ! Grâce à vous, et en particulier à mes grand-mères Yolande et Noëlie, j'ai pu travailler sereinement et être chouchoutée pendant mes périodes de révisions !*

*Une pensée pleine de tendresse et d'émotion pour mes grands-pères Roger et Fernand ainsi que pour ma mémé. Vous n'êtes plus là aujourd'hui pour assister à la fin de mon parcours, cependant vous gardez une place privilégiée dans mon cœur au quotidien. J'espère que vous êtes fiers de moi.*

**A mes amis pharmaciens ou presque pharmaciens,**

*Noémie, Shirley, Ludivine, Valérie, Clémentine, Sandy, Anne, Nadège et Adrien... Grâce à vous tous, ces six années de pharma ont été fabuleuses et riches en émotions !*

**A Marion et Anne-Sophie,**

*Mes meilleures amies, mes confidentes de Bourg-en-Bresse, et ce, depuis plus de dix ans. Merci pour votre présence et votre soutien depuis tout ce temps.*

**A toute l'équipe du laboratoire de biologie moléculaire,**

*Alexie, Annie, Aurélie, Rémi, Sophie et Sylvie. Ces quelques mois passés avec vous tous ont été riches et fructueux. Je porte votre bracelet au moment où j'écris ces mots ! Merci à vous !*

# **TABLE DES MATIERES**

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	8
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	12
<b>INDEX DES FIGURES .....</b>	17
<b>INDEX DES TABLEAUX.....</b>	19
<b>INDEX DES ANNEXES.....</b>	21
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	23
<b>INTRODUCTION.....</b>	26
<b>PREMIERE PARTIE : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	29
1. <b>Cadre général : introduction de la Qualité.....</b>	30
1.1. <b>Définition de la Qualité .....</b>	30
1.2. <b>Evolution de la Qualité .....</b>	32
1.2.1. <b>L'ère artisanale.....</b>	32
1.2.2. <b>L'ère industrielle .....</b>	32
1.2.3. <b>L'ère contemporaine.....</b>	33
1.3. <b>Les normes .....</b>	35
1.3.1. <b>Définition d'une norme .....</b>	35
1.3.2. <b>Définition de l'ISO .....</b>	36
1.3.3. <b>Les normes NF et EN .....</b>	36
1.4. <b>L'accréditation .....</b>	38
1.4.1. <b>Définition de l'accréditation.....</b>	38
1.4.2. <b>Distinction accréditation/certification.....</b>	39
1.5. <b>Le COFRAC.....</b>	40
1.5.1. <b>Présentation générale du COFRAC.....</b>	40
1.5.2. <b>Les missions du COFRAC .....</b>	41
1.5.3. <b>Reconnaissance internationale .....</b>	42

<b>2. Cadre appliqué aux laboratoires de biologie médicale : accréditation selon la norme ISO 15 189 .....</b>	<b>44</b>
<b>2.1. Laboratoire de biologie médicale .....</b>	<b>44</b>
<b>2.2. Examen de biologie médicale .....</b>	<b>44</b>
<b>2.3. L'accréditation selon la réglementation .....</b>	<b>47</b>
<b>2.3.1. La loi « Hôpital, Patients, Santé et Territoires ».....</b>	<b>47</b>
<b>2.3.2. L'ordonnance du 13 janvier 2010 .....</b>	<b>48</b>
<b>2.3.3. L'arrêté du 5 août 2010 .....</b>	<b>49</b>
<b>2.3.4. L'arrêté du 17 octobre 2012 .....</b>	<b>50</b>
<b>2.3.5. La loi du 30 mai 2013 .....</b>	<b>53</b>
<b>2.3.6. Domaines concernés.....</b>	<b>55</b>
<b>2.4. Processus d'accréditation des laboratoires de biologie médicale par le COFRAC ..</b>	<b>55</b>
<b>2.4.1. Critères d'accréditation .....</b>	<b>56</b>
<b>2.4.2. Démarche d'accréditation : les étapes.....</b>	<b>57</b>
<b>2.4.3. Surveillance de l'accréditation .....</b>	<b>60</b>
<b>2.5. La Qualité dans les laboratoires de biologie médicale .....</b>	<b>63</b>
<b>2.5.1. Réglementation en vigueur avant la norme : Le Guide de Bonne Exécution des Analyses .....</b>	<b>63</b>
<b>2.5.2. Composition de la norme ISO 15 189.....</b>	<b>64</b>
<b>2.5.3. La norme ISO 15 189 et ses évolutions .....</b>	<b>65</b>
<b>2.6. Les points clés de la norme ISO 15 189.....</b>	<b>66</b>
<b>2.6.1. Présentation générale .....</b>	<b>66</b>
<b>2.6.2. Organisation du laboratoire .....</b>	<b>69</b>
<b>2.6.3. Système de management de la Qualité .....</b>	<b>69</b>
<b>2.6.4. Identification et maîtrise des non-conformités.....</b>	<b>70</b>
<b>2.6.5. Service externe et approvisionnement.....</b>	<b>71</b>
<b>2.6.6. Personnel – locaux – matériel .....</b>	<b>71</b>

2.6.7. Qualité des procédures analytiques .....	72
2.6.8. Processus majeurs .....	73
2.6.9. Compte-rendu des résultats .....	74
3. Cadre défini aux Hospices Civils de Lyon.....	76
3.1. Présentation des Hospices Civils de Lyon .....	76
3.2. Le laboratoire de biologie médicale multi-sites.....	77
3.3. La politique Qualité .....	78
3.4. Le système Qualité du LBMMS .....	81
3.5. Accompagnement de la démarche d'accréditation par un prestataire spécialisé.	84
3.6. Calendrier de l'accréditation.....	86
3.7. Déroulement du projet: de la preuve d'engagement du laboratoire à l'accréditation totale .....	87
3.8. Les actions supports pour le développement du système Qualité dans le LBMMS	91
<b>DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL – PARTICIPATION A LA DEMARCHE QUALITE DE L'UF BIOLOGIE DES TUMEURS .....</b>	<b>94</b>
1. Présentation de l'UF biologie des tumeurs de l'hôpital Edouard Herriot.....	95
1.1. Profil de poste de l'étudiant en 5 <sup>ème</sup> AHU, en 2012/2013 .....	95
1.2. Le personnel .....	96
1.3. Les activités.....	97
2. Travail réalisé pour répondre aux exigences relatives au management : Maîtrise des documents .....	102
2.1. Le système documentaire .....	102
2.2. Etat des lieux .....	105
2.3. Mise à jour du système documentaire .....	105
2.4. Le logiciel KALILAB dans la gestion documentaire .....	109
3. Travail réalisé pour répondre aux exigences techniques .....	112
3.1. Le personnel .....	112

<b>3.1.1. Etat des lieux.....</b>	<b>112</b>
<b>3.1.2. Création de fiches de synthèse par poste d'activité.....</b>	<b>113</b>
<b>3.2. Matériels de laboratoire, réactifs et consommables .....</b>	<b>118</b>
<b>3.2.1. Etat des lieux.....</b>	<b>118</b>
<b>3.2.2. Le logiciel KALILAB dans la gestion du matériel de laboratoire .....</b>	<b>120</b>
<b>3.3. Processus pré-analytique, analytique et post-analytique .....</b>	<b>122</b>
<b>3.3.1. La traçabilité.....</b>	<b>122</b>
<b>3.3.2. Tests de traçabilité.....</b>	<b>123</b>
<b>3.3.3. La validation biologique .....</b>	<b>127</b>
<b>3.3.4. Création et mise en application de procédures de validation biologique.....</b>	<b>128</b>
<b>4. Perspectives et discussion .....</b>	<b>131</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>137</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>140</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>159</b>

## **INDEX DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : Roue de Deming .....	31
<b>Figure 2</b> : Évolution de la Qualité .....	34
<b>Figure 3</b> : Processus d'approbation d'une norme au niveau national .....	37
<b>Figure 4</b> : Logos des organismes accréditeurs européens .....	43
<b>Figure 5</b> : Illustration des phases pré-analytique, analytique et post-analytique .....	46
<b>Figure 6</b> : Cycle de vie d'une accréditation (d'après SH REF 05 : Règlement d'accréditation) .	61
<b>Figure 7</b> : Les étapes de l'accréditation par le COFRAC dans le cadre de la norme <i>ISO 15 189</i>	62
<b>Figure 8</b> : Le plan de la norme <i>ISO 15 189</i> .....	66
<b>Figure 9</b> : Illustration de la formation du personnel dans l'UF Biologie des tumeurs .....	68
<b>Figure 10</b> : Organisation matricielle de la Qualité au LBMMS des HCL selon le Manuel Qualité du LBMMS [72] * .....	82
<b>Figure 11</b> : Calendrier prévisionnel de l'accréditation aux HCL * .....	86
<b>Figure 12</b> : Cheminement des analyses de la réception des prélèvements au rendu des résultats (document inclus dans la « procédure d'organisation biologie des tumeurs »).....	98
<b>Figure 13</b> : Exemple de « bloc patient » inclus et fixé en paraffine .....	99
<b>Figure 14</b> : Gestion pyramidale du système documentaire .....	103
<b>Figure 15</b> : Fiche de synthèse du poste Ki-Ras, B-Raf.....	116
<b>Figure 16</b> : Fiche de synthèse du poste C-Kit .....	117
<b>Figure 17</b> : La validation biologique .....	128

# **INDEX DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1</b> : Liste des domaines/sous-domaines du LBMMS d'après le Manuel Qualité du LBMMS [72] .....	77
<b>Tableau 2</b> : Liste des examens couverts/demandés par l'accréditation à remplir par le laboratoire (SH FORM 06) .....	88
<b>Tableau 3</b> : Déclaration des examens réalisés dans l'UF Biologie des tumeurs au Responsable Qualité du LBMMS en février 2013 .....	90
<b>Tableau 4</b> : Fonctionnalités du logiciel KALILAB.....	92
<b>Tableau 5</b> : Liste des documents créés ou modifiés durant mon stage.....	108
<b>Tableau 6</b> : Exemples de documents Qualité pour le cancer pulmonaire .....	110
<b>Tableau 7</b> : Liste des équipements de l'UF Biologie des tumeurs dont l'identification et l'étiquetage devaient être réalisés en priorité .....	119
<b>Tableau 8</b> : Récapitulatif des résultats des tests de traçabilité .....	125
<b>Tableau 9</b> : Liste des procédures de validation biologique.....	130
<b>Tableau 10</b> : Liste récapitulative d'éléments de la norme <i>ISO 15 189</i> mis en place par l'UF Biologie des tumeurs (selon SH FORM 03 du COFRAC [59]) - Etat des lieux au 31 Mars 2013 .....	134

## **INDEX DES ANNEXES**

<b>Annexe 1</b> : Pays signataires des accords de reconnaissance de l'ILAC (Mutual Recognition Arrangement) .....	141
<b>Annexe 2</b> : Illustration d'une procédure Qualité et du plan de l'UF Biologie des tumeurs....	150
<b>Annexe 3</b> : Procédure « Comment effectuer la coupe, le déparaffinage et la coloration » de l'UF Biologie des tumeurs.....	151
<b>Annexe 4</b> : Illustration de l'enregistrement d'une procédure Qualité dans le logiciel KALILAB .....	157
<b>Annexe 5</b> : Illustration de l'enregistrement du matériel dans le logiciel KALILAB.....	158

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>5-AHU</b>	Cinquième année hospitalo-universitaire
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation
<b>AQ</b>	Assurance Qualité
<b>B-Raf</b>	v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
<b>CEI</b>	Commission Electrotechnique Internationale
<b>CEN</b>	Comité Européen de Normalisation
<b>CENELEC</b>	Comité Européen de la Normalisation Electrotechnique
<b>CHU</b>	Centre Hospitalier Universitaire de France
<b>CIL</b>	Comparaison Inter Laboratoires
<b>CIQ</b>	Contrôle Interne de la Qualité
<b>C-Kit</b>	V-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog (CD117)
<b>COFRAC</b>	Comité Français d'Accréditation
<b>CSP</b>	Code de la Santé Publique
<b>EA</b>	European co-operation for Accreditation
<b>EEQ</b>	Evaluation Externe de la Qualité
<b>EFTA</b>	European Free Trade Association
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Factor Receptor
<b>EN</b>	European Norm
<b>ETSI</b>	Institut Européen des normes de Télécommunication
<b>FORM</b>	Formulaire
<b>GBEA</b>	Guide de Bonne Exécution des Analyses
<b>GIST</b>	Tumeur Stromale Gastro-Intestinale
<b>GTA</b>	Guide Technique d'Accréditation
<b>HCL</b>	Hospices Civils de Lyon
<b>HPST</b>	Hôpital, Patients, Santé et Territoires

<b>ILAC</b>	International Laboratory Accreditation Co-operation
<b>INCA</b>	Institut National du Cancer
<b>INF</b>	Informations
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>K-Ras</b>	v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
<b>LBMMS</b>	Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites
<b>MLA</b>	Multilateral Agreements
<b>MRA</b>	Mutual Recognition Arrangement
<b>MSP</b>	Maîtrise Statistique des procédés
<b>NF</b>	Norme Française
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PDCA</b>	Plan Do Check Act
<b>PR</b>	Projet
<b>REF</b>	Référence
<b>RER</b>	Frequency of Replication Error
<b>SH</b>	Santé Humaine
<b>SMQ</b>	Système de Management de la Qualité
<b>UE</b>	Union Européenne
<b>UF</b>	Unité Fonctionnelle

# INTRODUCTION

La démarche Qualité des laboratoires de Biologie Médicale existe depuis longtemps, cependant, l'article 69 de la loi « Hôpital, Patients, Santé et Territoires » du 21 juillet 2009 ainsi que l'ordonnance du 10 janvier 2010, puis la loi du 30 mai 2013 ont récemment mis en place les jalons d'une réforme majeure de la Biologie Médicale. En effet, ces textes imposent la procédure d'accréditation des laboratoires de Biologie Médicale, publics comme privés, selon la norme *ISO 15 189*, et la norme *ISO 22 870* lorsqu'ils exercent une activité de biologie délocalisée.

La norme *ISO 15 189* présente de nombreuses exigences relatives au management, notamment la mise en place d'un Système de Management de la Qualité, la maîtrise des documents, ou encore l'identification et la maîtrise des non-conformités ; mais également des exigences techniques, à savoir la gestion du personnel, des locaux et la garantie de la Qualité des résultats. Les laboratoires de Biologie Médicale doivent désormais satisfaire à toutes ces exigences pour pouvoir poursuivre leurs activités. En France, le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) est chargé d'évaluer la mise en place de ces différentes exigences et ainsi de délivrer l'accréditation.

Afin de répondre à ces exigences, les Hospices Civils de Lyon se sont engagés dans une démarche Qualité notamment grâce à la création d'un Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites (LBMMS) et à la mise en place progressive d'un unique Système de Management de la Qualité. L'objectif final étant d'obtenir une accréditation selon la norme *ISO 15 189* sur les 27 sites que composent le LBMMS.

Durant mon stage hospitalier de 5<sup>ème</sup> année de Pharmacie, réalisé à temps plein d'octobre 2012 à mars 2013, j'ai participé à la démarche Qualité de l'UF Biologie des tumeurs de l'Hôpital Edouard Herriot en apportant ma contribution à certaines notions essentielles à l'obtention de l'accréditation, comme la mise à jour du système documentaire, la création

d'éléments facilitant la gestion du personnel, l'identification du matériel de laboratoire, l'amélioration de la traçabilité et enfin la création et la mise en application de procédures concernant la validation biologique.

L'objectif final de ce présent manuscrit est donc d'exposer le travail effectué, et ainsi de présenter l'entrée dans la démarche d'accréditation de l'UF Biologie des tumeurs et plus globalement du Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites des Hospices Civils de Lyon, afin qu'il puisse être utilisé ultérieurement par les différents laboratoires et ainsi servir de support.

Mon stage hospitalier ayant eu lieu entre Octobre 2012 et Mars 2013, le travail a été réalisé conformément aux réglementations en vigueur à cette période. Cependant il a été replacé dans le contexte du Système de Management de la Qualité qui s'est structuré et mis en place au sein du LBMMS après mon stage hospitalier, notamment grâce à la rédaction du Manuel Qualité et de différents documents Qualité.

# **PREMIERE PARTIE : PARTIE**

## **BIBLIOGRAPHIQUE**

# 1. Cadre général : introduction de la Qualité

## 1.1. Définition de la Qualité

La définition de la Qualité n'a cessé d'évoluer au cours de ces dernières années, c'est pourquoi il est difficile de trouver une description appropriée de ce terme [1]. La satisfaction du client ainsi que la réponse au besoin du client sont au cœur de la notion de Qualité quelle qu'en soit la version.

En suivant d'un point de vue historique l'évolution de cette notion, la norme *ISO 9000 :1982* proposait comme définition « aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire, les besoins des utilisateurs » [2]. Cette définition n'était pas satisfaisante car elle ne comprenait pas la totalité de ce qu'un client est en droit d'attendre d'un produit, mais aussi parce que le client n'est pas obligatoirement l'utilisateur (ce peut être l'acheteur du produit).

A la suite de plusieurs évolutions, la norme *ISO 9000 :2000* proposait la définition suivante : « **aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences** » [3]. Cette définition, reprise sans changement dans la version de cette norme mise à jour en 2005, représente la définition reconnue internationalement.

L'un des principes de base de la Qualité est la prévention et l'amélioration continue. Cela signifie que la Qualité est un processus continu et sans fin, dont le but est de prendre en compte les dysfonctionnements le plus en amont possible, et de tout mettre en œuvre afin d'éviter leur apparition ou leur réapparition [4].

Ainsi la Qualité peut être schématisée par un cycle d'actions correctives et préventives, appelé « roue de Deming ». Les actions correctives étant définies dans la norme *ISO 9001* comme « *des mesures prises pour éliminer la cause d'une non-conformité détectée* » et sont ainsi prises pour éviter la récidive [5]. Les actions préventives sont, quant à elles, définies

comme « *des mesures prises pour éliminer les causes potentielles d'une non-conformité* », ainsi elles sont prises pour prévenir l'apparition d'une non-conformité [5].

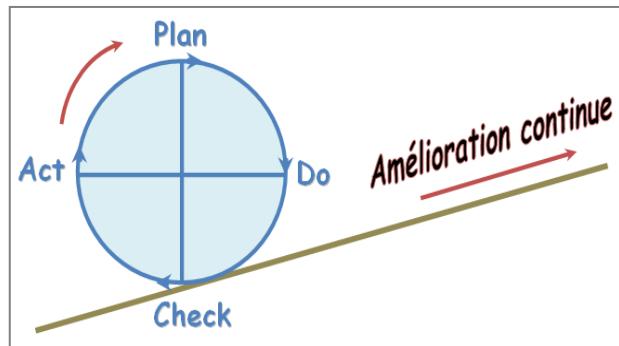


Figure 1 : Roue de Deming

La roue de Deming, comme représentée ci-dessus, est aussi nommée modèle PDCA, afin de désigner les quatre étapes suivantes [6]:

- **Plan** : il s'agit de planifier en définissant les objectifs à atteindre ;
- **Do** : il s'agit de mettre en place les actions correctives ;
- **Check** : cette phase consiste à contrôler l'atteinte des objectifs fixés ;
- **Act** : cette dernière étape consiste à agir en fonction des résultats précédents en mettant en place des actions préventives.

## 1.2. Evolution de la Qualité

### 1.2.1. L'ère artisanale

Jusqu'au XIXème siècle la Qualité représente la connaissance du métier, la conscience professionnelle, la passion du travail bien fait. La clientèle est limitée, connue et fidèle. L'artisan répond donc avec efficacité et précision aux besoins de ses clients dans des conditions comportant de faibles contraintes économiques [7].

### 1.2.2. L'ère industrielle

Au début du XXème siècle, les communications et l'industrialisation se développent, la demande s'accroît, il faut donc produire plus et plus rapidement [7] [8]. Les problèmes majeurs étant : une main d'œuvre nombreuse mais peu formée, des machines peu performantes et des coûts de production élevés, pour pallier à cela Frederick Taylor mit en place une organisation scientifique du travail visant à établir « *the one best way* », c'est-à-dire la meilleure façon de produire, de rémunérer, et finalement de fournir le rendement maximum. Cette organisation portera par la suite son nom : le Taylorisme [9].

Cette organisation a permis une hausse de la productivité mais également une baisse de la Qualité des produits. Afin de lutter contre cela, de nombreux concepts apparaissent :

- La notion de **Contrôle Qualité** en 1900 : 100% des produits sont contrôlés, et ce, uniquement en fin de fabrication. Le nombre de produits rejetés reste tout de même conséquent.
- La **Maîtrise Statistique des Procédés** (MSP) avec l'introduction de la méthode des cartes de contrôle. Ces dernières étant des représentations graphiques des écarts à

une valeur donnée de référence, elles servent à anticiper les mesures à prendre afin d'améliorer le processus de fabrication.

La Qualité des produits livrés est en hausse, mais la quantité de rebuts demeure élevée.

### 1.2.3. L'ère contemporaine

A partir des années 60, des contrôles sont mis en place en cours de fabrication afin de permettre d'adopter des actions correctives dès que des écarts par rapport aux objectifs sont décelés, ces actions correctives permettant ainsi d'éviter la répétition de tout écart détecté [10].

Une réelle concurrence s'instaure entre les différentes entreprises pour réduire les coûts de production. De plus les consommateurs deviennent plus exigeants au niveau de la performance du produit, des délais et des prix. Enfin, apparaît une mondialisation des échanges, la concurrence ne se joue plus uniquement sur des marchés intérieurs acquis. L'objectif est donc d'accroître la performance globale de l'entreprise pour faire face à la concurrence [10].

La Qualité représente alors un outil de compétitivité indispensable de l'entreprise. Les deux concepts, **Assurance Qualité** (AQ) et **Management de la Qualité** (MQ), deviennent une base importante pour la construction et le déploiement de la Qualité dans l'entreprise.

La notion d'**Assurance Qualité** est apparue la première en 1950 ; elle représente les moyens mis en œuvre par l'entreprise pour garantir la Qualité. Elle vise à donner confiance dans l'aptitude de l'entreprise à réaliser et à maintenir la Qualité exigée [11] [12].

Le **Management de la Qualité**, quant à lui, est apparu plus tard, en 1980, et correspond à un ensemble d'activités coordonnées permettant d'orienter et de contrôler un organisme en matière de Qualité [11].

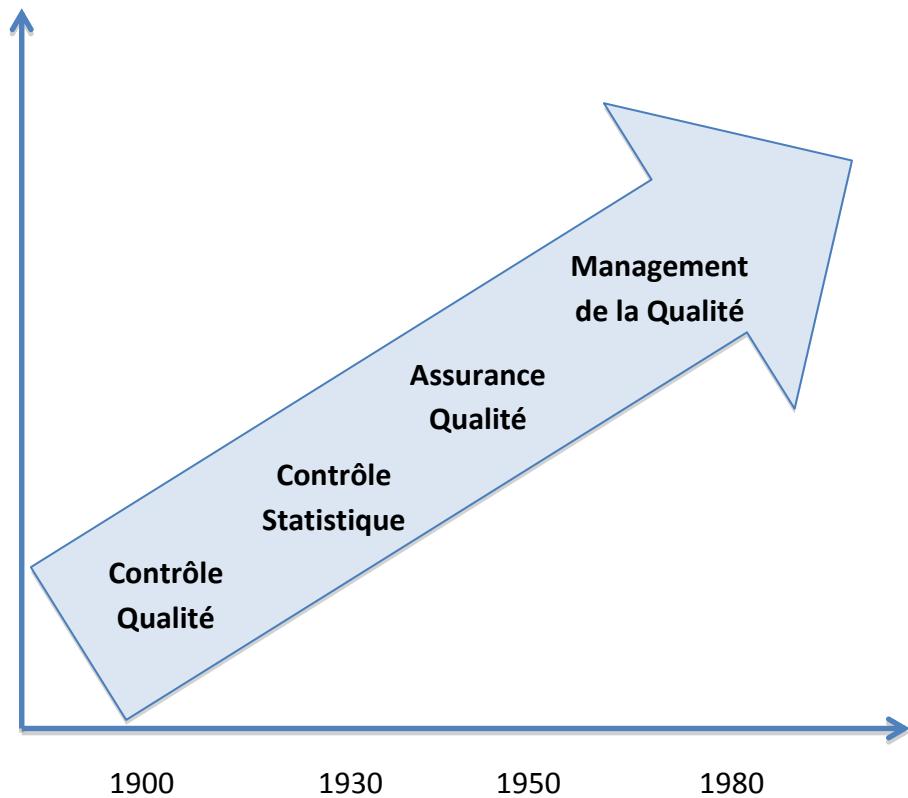


Figure 2 : Évolution de la Qualité

La figure 2 ci-dessus représente la succession des concepts de la Qualité au fil des années et permet ainsi de résumer l'évolution de la Qualité.

## 1.3. Les normes

### 1.3.1. Définition d'une norme

Une norme est un document de référence approuvé par un institut de normalisation reconnu tel que l'AFNOR en France (Association Française de Normalisation). Elle définit des caractéristiques et des règles volontaires applicables aux activités. Elle est le consensus entre l'ensemble des parties prenantes d'un marché ou d'un secteur d'activité [13].

Une norme permet de définir un langage commun entre les acteurs économiques-producteurs, utilisateurs et consommateurs, de clarifier et d'harmoniser les pratiques, de définir les niveaux de Qualité, de sécurité, de compatibilité et de moindre impact environnemental des produits, services et/ou pratiques.

Par définition une norme n'est pas obligatoire, son application est un acte **volontaire** [14]. C'est ce qui la distingue de la réglementation qui elle, relève des pouvoirs publics et dont l'application est alors imposée.

Cependant, certaines normes sont rendues obligatoires par un texte réglementaire ou un décret de loi comme c'est le cas pour la norme *ISO 15 189* que nous détaillerons ultérieurement (voir la partie **2. Cadre appliqué aux laboratoires de biologie médicale : accréditation selon la norme ISO 15 189**). Notons que seulement 1% des normes est d'application obligatoire.

### 1.3.2. Définition de l'ISO

L'ISO qui signifie **International Organization for Standardization**, est le plus grand producteur et éditeur mondial de normes internationales d'application volontaire.

C'est une organisation internationale créée en 1947 et composée de représentants des organismes nationaux de 162 pays. Elle a donc pour but de produire des normes internationales, grâce à ses nombreux comités techniques, dans les domaines industriels et commerciaux, appelées **normes ISO** [14] [15].

### 1.3.3. Les normes NF et EN

Les normes **NF** correspondent aux normes françaises, elles sont élaborées ou ratifiées par l'AFNOR, organisme de normalisation français [14].

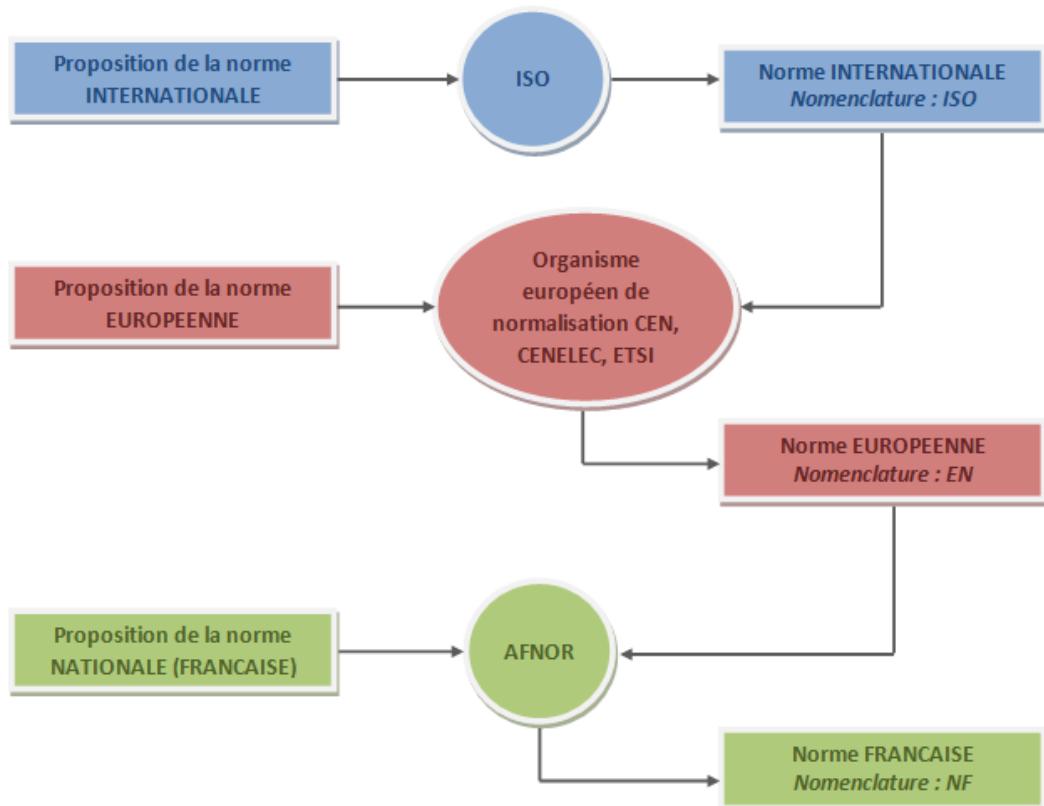
Quand une norme française est à l'état d'ébauche et de discussion préparatoire, un préfixe **PR** précède le préfixe NF. Ce document non définitif est associé à une durée de validité limitée et ne constitue pas encore une recommandation officielle, il peut ainsi subir des changements importants jusqu'à sa parution définitive ou peut finalement ne jamais aboutir en tant que norme si aucun consensus n'est obtenu entre les parties votantes.

Les normes **EN**, quant à elles, correspondent aux normes harmonisées au niveau européen, elles ont été approuvées par un des trois organismes européens de normalisation :

- le CEN : Comité Européen de Normalisation ou European Committee for Standardization [16],
- le CENELEC : Comité Européen de la Normalisation Electrotechnique ou European Committee for Electrotechnical Standardization [17],

- l'ETSI: Institut Européen des normes de Télécommunication ou European Telecommunications Standards Institute [18].

Les normes EN doivent obligatoirement être transposées en normes nationales dans toute l'Union Européenne (UE) et les pays de l'European Free Trade Association (EFTA). Les états membres doivent aussi retirer toutes les normes nationales conflictuelles : les EN prévalent sur n'importe quelle norme nationale.



**Figure 3 : Processus d'approbation d'une norme au niveau national**

La figure 3 présentée ci-dessus illustre le fait que toute norme internationale produite par l'ISO doit être ratifiée au niveau européen tout d'abord, puis au niveau français, pour enfin être reconnue en France.

La nomenclature finale de la norme sera donc « NF EN ISO ... » car c'est une norme française d'origine internationale reprise en Europe et puis validée en France [1].

## 1.4. L'accréditation

### 1.4.1. Définition de l'accréditation

La norme *ISO/CEI 17 000* définit l'accréditation comme une « attestation délivrée par une tierce partie, ayant rapport à un organisme d'évaluation de la conformité, constituant une **reconnaissance** formelle de la **compétence** de ce dernier à réaliser des activités spécifiques d'évaluation de la conformité » [19].

Le guide *ISO/CEI n°2* donne la définition suivante de l'accréditation : « procédure par laquelle une autorité **reconnaît** qu'un organisme ou un individu est **compétent** pour exécuter certaines tâches » [20].

Les termes que nous retrouvons de façon récurrente dans les diverses définitions de l'accréditation sont « reconnaissance » et « compétence ». Ainsi, nous pouvons simplifier la définition de la manière suivante : **reconnaissance formelle de compétences spécifiques**.

Concernant les laboratoires plus précisément, il s'agit en quelque sorte, d'un contrôle de second niveau. Il doit être attesté que le laboratoire est compétent pour effectuer des essais, des inspections, des étalonnages ou encore pour certifier des produits, des techniques ou des personnes.

L'objectif final d'une démarche d'accréditation est de garantir la fiabilité des examens réalisés dans le domaine de la santé et ainsi d'instaurer une **confiance** dans les prestations réalisées [21]. En effet, cette reconnaissance de compétence vise à garantir aux clients des organismes accrédités que les prestations réalisées par ceux-ci, sous couvert de leur accréditation, sont dignes de confiance.

Il est important de noter que l'accréditation est, à l'origine, de nature **volontaire**. Cependant, de plus en plus souvent, l'accréditation se développe dans le domaine réglementaire [22]. Elle est alors exigée par les Pouvoirs Publics en vue de l'application d'une réglementation nationale ou d'une notification dans le cadre d'une directive européenne. C'est le cas de l'accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale, qui est obligatoire (voir la partie **2.3. L'accréditation selon la réglementation**).

## 1.4.2. Distinction accréditation/certification

Il est important de distinguer ces deux approches. En effet si l'accréditation et la certification relèvent de la même méthodologie, elles n'ont pas les mêmes objectifs ni la même finalité [23].

Le Système Qualité d'un laboratoire peut être certifié selon la norme *ISO 9001*, cette dernière faisant référence au Système de Management de la Qualité (précédemment défini dans la partie **1.2.3. L'ère contemporaine**). Mais cette certification garantit uniquement que ce système Qualité s'améliore de façon continue. En revanche, l'accréditation, elle, vise à faire reconnaître non seulement que le laboratoire postulant est organisé, mais aussi qu'il exerce son activité de manière déontologique et selon des règles internationalement reconnues (impartialité, indépendance et compétence) [23].

C'est pourquoi l'accréditation n'est valable que pour une compétence ou un domaine de **compétence spécifique**. Ainsi, par exemple une entreprise pourra être accréditée pour le savoir-faire X et pas forcément pour le savoir-faire Y [24].

Concernant les laboratoires de biologie médicale, il est légitime de se demander s'il est plus opportun de se faire accréditer que de se faire certifier, en omettant l'obligation

réglementaire. La réponse est claire : l'accréditation est un concept plus fort que celui de la certification puisqu'il reconnaît la compétence. Il est donc plus adapté pour un laboratoire de se faire accréditer afin d'instaurer une confiance nécessaire à la réalisation de ses analyses. En effet l'accréditation va plus loin en apportant, en plus de la reconnaissance de la conformité du système Qualité, celle de l'organisation du laboratoire optimale visant l'obtention d'un résultat juste, fiable et au meilleur coût.

## 1.5. Le COFRAC

### 1.5.1. Présentation générale du COFRAC

En France, le COFRAC (**Comité Français d'Accréditation**) est désigné comme l'unique instance nationale d'accréditation, ceci par le décret du 19 décembre 2008. Crée en 1994 à l'instigation des pouvoirs publics, le COFRAC est une association qui relève de la loi du 1<sup>er</sup> juillet 1901 [25].

Tous les intérêts liés à l'accréditation sont représentés au sein de l'Assemblée générale et du Conseil d'administration et de toutes les instances de décision. Les membres actifs de cette association sont répartis comme suit au sein de trois collèges distincts [25]:

- **Collège A** : organismes accrédités ou leurs groupements ;
- **Collège B** : groupements professionnels d'entreprises ou de personnes ou structures représentatives d'acheteurs recourant ou pouvant recourir aux services des organismes du collège A ;
- **Collège C** : représentants d'intérêts publics (Etat, associations de consommateurs, etc.) assurant soit une fonction régaliennes, soit la défense d'intérêts collectifs.

Le COFRAC est aussi une équipe permanente située au 52 rue Jacques Hillairet 75012 Paris, celle-ci comporte plus d'une centaine de personnes, ainsi qu'environ 200 évaluateurs qualiticiens et plus de 1100 évaluateurs techniques qui sont régulièrement missionnés par le COFRAC. Quatre sections gèrent les accréditations [25]:

- **Section laboratoires**, elle-même composée de quatre pôles : biologie-biochimie, chimie-environnement, mécanique, physique-électricité ;
- **Section inspection** ;
- **Section certification** ;
- **Section santé humaine**.

Autour de la structure permanente du COFRAC il existe une commission d'audit interne ayant pour mission d'évaluer régulièrement le bon fonctionnement de l'accréditation ainsi que le respect par le COFRAC des exigences applicables aux organismes d'accréditation et aux quatre sections d'accréditation.

### 1.5.2. Les missions du COFRAC

Les missions du COFRAC sont les suivantes:

- Procéder à l'**accréditation**, conformément aux normes françaises et européennes ou internationales, de tous les organismes intervenant pour évaluer la conformité à un référentiel ;
- Développer la **confiance** du marché dans les laboratoires et les organismes accrédités ;
- Faire reconnaître à l'échelon européen ou international le **système français** d'accréditation ;

- Assurer la représentation des **intérêts français** dans les instances et organismes internationaux traitant de l'accréditation.

### 1.5.3. Reconnaissance internationale

Le COFRAC a été reconnu par ses pairs européens et mondiaux comme conforme aux dispositions de la norme internationale *ISO/CEI 17 011* [26]. Cette norme fait référence aux exigences générales pour les organismes d'accréditation, et permet de garantir que le COFRAC, comme tout organisme d'accréditation, fonctionne de manière compétente et impartiale. Cette reconnaissance a lieu après évaluation et réévaluation périodiques par l'**EA** (*European co-operation for Accreditation*) représentant l'organisme européen d'accréditation et l'**ILAC** (*International Laboratory Accreditation Co-operation*) représentant l'organisme mondial intervenant pour la reconnaissance de l'accréditation des laboratoires et organismes d'inspection [27].

Une accréditation en France est donc reconnue non seulement en Europe mais également dans le monde entier, cela grâce aux **accords multilatéraux** dont le COFRAC est signataire. Ainsi en application des accords multilatéraux mis en place par EA et ILAC, les signataires reconnaissent comme équivalentes entre elles les accréditations qu'ils délivrent.

Le COFRAC est donc signataire des **accords de reconnaissance** (*MLA* : *Multilateral agreements*) **de l'EA**, tout comme d'autres pays d'Europe. Les organismes d'accréditation européens sont représentés sur la figure 4 page suivante [28]:



Figure 4 : Logos des organismes accréditeurs européens

Les COFRAC est également signataire des **accords de reconnaissance de l'ILAC (MRA : Mutual recognition arrangement)** tout comme de très nombreux pays dans le monde [29]. La liste de ces différents pays est présentée en [Annexe 1 : Pays signataires des accords de reconnaissance de l'ILAC \(Mutual Recognition Arrangement\)](#) [30].

## 2. Cadre appliqué aux laboratoires de biologie médicale : accréditation selon la norme ISO 15 189

### 2.1. Laboratoire de biologie médicale

Un Laboratoire de Biologie Médicale (LBM), autrefois nommé laboratoire d'analyses médicales, est une structure au sein de laquelle sont effectués des examens de biologie médicale selon l'*article L6212-1 du Code de la Santé Publique* (CSP) [31].

En effet un laboratoire de biologie médicale correspond à un lieu où sont prélevés et analysés divers fluides biologiques d'origine humaine sous la responsabilité de biologistes, qui en interprètent les résultats dans le but de participer au diagnostic ainsi qu'au suivi de certaines pathologies.

### 2.2. Examen de biologie médicale

D'après l'*article L6211-1 du Code de la Santé Publique*, un examen de biologie médicale est un acte médical. Le texte précise par la suite le périmètre et les finalités de l'examen. Celui-ci concourt à la prévention, au dépistage, au diagnostic ou à l'évaluation du risque de survenue d'états pathologiques, à la décision et à la prise en charge thérapeutique, à la détermination ou au suivi de l'état physiologique ou physiopathologique de l'être humain [32].

L'*article L6211-2 du Code de la Santé Publique* complète cette définition en présentant les trois phases qui constituent cet examen [33]:

- La **phase pré-analytique** qui comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques, la préparation, le transport, et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il doit être analysé ;

- La **phase analytique** qui est le processus technique permettant l'obtention des résultats d'analyse biologique ;
- La **phase post-analytique** qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat, la communication appropriée au prescripteur et au patient ainsi que le traitement post-analytique des échantillons biologiques.

En Qualité ces trois phases correspondent au processus de réalisation et sont exposées dans la figure 5 présentée page suivante, et seront détaillées ultérieurement dans la partie **2.6.8**.

#### **Processus majeurs.**

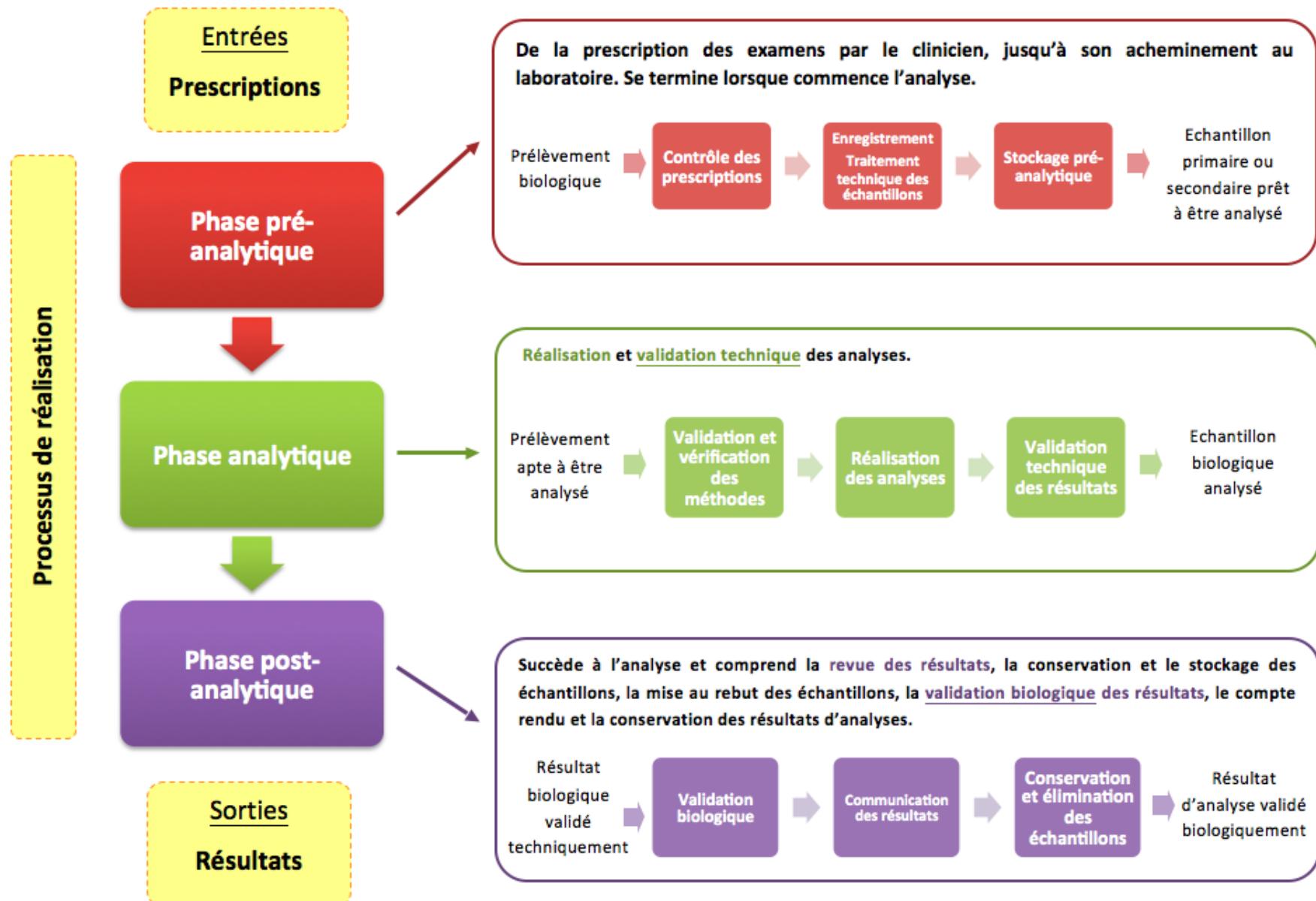


Figure 5 : Illustration des phases pré-analytique, analytique et post-analytique

## 2.3. L'accréditation selon la réglementation

### 2.3.1. La loi « Hôpital, Patients, Santé et Territoires »

L'accréditation, tout comme l'application d'une norme, sont par essence de nature **volontaire**. Cependant dans le cas présent, l'accréditation des laboratoires de biologie médicale appartient au domaine **réglementaire** puisqu'elle apparaît dans la loi n°2009-879 « Hôpital, Patients, Santé et Territoires », appelée plus couramment loi HPST [34].

La loi HPST a été promulguée le 21 juillet 2009 et publiée au journal officiel du 22 juillet 2009. Elle porte une réforme majeure : en effet, elle modifie en profondeur l'ensemble du système de santé, en prônant la modernisation des établissements de santé, l'accès de tous à des soins de Qualité, l'accès à la prévention et à la santé publique, et en définissant l'organisation territoriale du système de santé [35][36].

Concernant la biologie médicale, cette réforme intervient 33 ans après la dernière réforme générale de la biologie (Loi n° 75-626 du 11 juillet 1975 relative aux laboratoires d'analyses de biologie médicale et à leurs directeurs et directeurs adjoints) [37][38]. C'est plus particulièrement **l'article 69** de la loi HPST qui porte sur la biologie médicale et aborde ainsi la notion d'accréditation. Il convient entre autres selon la loi « d'harmoniser les dispositions applicables aux laboratoires de biologie médicale publics et privés ; **de mieux garantir la qualité des examens de biologie médicale, notamment par une procédure d'accréditation des laboratoires** » [34].

Suite à la promulgation de cette loi HSPT, de nombreux textes d'application ont été publiés. Une ordonnance ainsi que des décrets de loi sont détaillés dans les parties suivantes. En effet, l'article 69 de la loi HPST a autorisé le gouvernement, dans les conditions prévues par l'article

38 de la constitution, à publier une ordonnance, dans un délai de 6 mois à compter de la publication de la présente loi, afin de la mettre en application.

### 2.3.2. L'ordonnance du 13 janvier 2010

L'ordonnance du 13 janvier 2010 (correspondant aux *articles L6221-1 à L6242-5 du Code de la Santé Publique*) prévoit une accréditation **obligatoire et totale** de l'ensemble des laboratoires de biologie médicale, publics comme privés [39]. En effet, l'un des objectifs majeurs est de « garantir la qualité de l'activité et par là accentuer la sécurité » [40].

L'accréditation couvre toute l'activité des laboratoires de biologie médicale. Elle intègre les trois phases de l'examen de biologie médicale précédemment décrites (partie **2.2. Examen de biologie médicale**) : la phase pré-analytique, la phase analytique et la phase post-analytique. Elle porte également sur les activités biologiques d'assistance médicale à la procréation lorsque le laboratoire en réalise, et sur les examens d'anatomie et de cytologie pathologiques effectués à l'aide de techniques relevant de la biologie médicale.

Une ordonnance entre en vigueur dès sa publication, mais un projet de loi de ratification doit être déposé devant le Parlement. En effet, tant qu'elle n'est pas ratifiée, l'ordonnance conserve une nature réglementaire tandis qu'après ratification, l'ordonnance devient de nature législative [41]. C'est pourquoi un projet de loi ayant pour objet de ratifier l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale a été enregistré à la Présidence de l'Assemblée Nationale le 7 avril 2010 [42].

Une fois ce projet déposé, deux cas de figures existent: soit l'ordonnance est approuvée et ratifiée par le Parlement ce qui lui confère la valeur de loi ; soit elle n'est pas ratifiée et

conserve alors une valeur simplement réglementaire (inférieure à la loi), constituant alors un acte administratif unilatéral.

Dans le cas présent la ratification de l'ordonnance est effective grâce à la loi n°2013-442 du 30 mai 2013. Cette dernière sera développée dans la partie **2.3.5. La loi du 30 mai 2013.**

D'autres textes de loi ont permis de définir le cadre d'accréditation des laboratoires de biologie médicale. Ils sont détaillés dans les parties suivantes.

### **2.3.3. L'arrêté du 5 août 2010**

L'arrêté du 5 août 2010 a fixé les références des normes d'accréditation [43]:

- La norme **NF EN ISO 15 189** faisant référence aux activités et examens de biologie médicale, dont nous développerons le contenu dans la partie **2.6. Les points clés de la norme ISO 15 189;**
- La norme **NF EN ISO 22 870** faisant référence aux examens de biologie médicale délocalisés (EBMD).

La biologie délocalisée représente « l'ensemble des analyses biologiques réalisées à proximité du patient ou à l'endroit où il se trouve, dont les résultats peuvent entraîner une éventuelle modification des soins prodigués » selon la définition de la norme *ISO 22 870* [44]. En d'autres termes les examens de biologie médicale délocalisés (EBMD) correspondent aux examens effectués dans les établissements de santé, non pas au sein du laboratoire, mais auprès du patient.

Ainsi, les laboratoires réalisant une demande d'accréditation selon la norme *ISO 15 189* doivent aussi compléter cette accréditation par la norme *ISO 22 870* lorsqu'ils exercent une

activité de biologie délocalisée. Cette norme *ISO 22 870* étant destinée à être utilisée conjointement à la norme *ISO 15 189*.

### **2.3.4. L'arrêté du 17 octobre 2012**

L'arrêté du 17 octobre 2012, abrogeant l'arrêté du 14 décembre 2010, définit les nouvelles conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans la démarche d'accréditation [45].

Une première échéance est donnée : le **31 mai 2013**, les laboratoires doivent apporter la preuve de leur entrée dans la démarche d'accréditation avant cette date. Pour cela ils doivent adresser au COFRAC la liste détaillée des examens correspondant à la portée d'accréditation ainsi qu'un dossier relatif aux examens réalisés par le laboratoire en dehors de la portée d'accréditation partielle demandée.

Aucun laboratoire de biologie médicale non accrédité au sens de l'*article L6221-1 du Code de la Santé Publique* ne peut fonctionner après le 1<sup>er</sup> novembre 2013 s'il ne justifie pas de son entrée effective dans une démarche d'accréditation.

Pour cela le laboratoire de biologie médicale est libre de choisir l'une des deux options suivantes : l'**option A** ou l'**option B** [46].

#### **OPTION A :**

**A-1 :** Cette première catégorie de l'option A intéresse les laboratoires qui décident de déposer une demande d'accréditation partielle. Celle-ci n'est possible qu'au plus tard le 31 mai 2013, et porte sur un ou plusieurs examens de biologie médicale, de la phase pré-analytique à la phase post-analytique. Le dossier à déposer auprès du COFRAC doit

comprendre les documents relatifs à la demande d'accréditation partielle ainsi que ceux relatifs aux examens de biologie médicale réalisés en dehors de la portée d'accréditation partielle. Ces documents sont les suivants :

- Le questionnaire de renseignements (SH FORM 05 : Demande d'accréditation selon la norme *NF EN ISO 15 189* - Questionnaire de renseignements) et le questionnaire d'auto-évaluation (SH FORM 03 : Questionnaire d'auto-évaluation - Préparation de l'évaluation sur site selon la norme *NF EN ISO 15 189 : 2012*). Ces documents étant tous deux disponibles sur le site internet du COFRAC ;
- Un dossier de vérification de méthode portant sur une méthode quantitative ou qualitative. Celle-ci est incluse dans la portée de la demande d'accréditation partielle. Les formulaires à utiliser (SH FORM 43 : Fiche type quantitatif, et SH FORM 44 : Fiche type qualitatif) sont aussi disponibles sur le site internet du COFRAC ;
- Une description de l'activité du laboratoire qui n'entre pas dans sa portée d'accréditation partielle. Cette description est faite au moyen des mêmes documents de demande d'accréditation également disponibles sur le site internet du COFRAC ;
- La preuve de l'abonnement à au moins un programme d'évaluation externe de la Qualité (EEQ) auprès d'organismes d'évaluation externe de la Qualité, par famille d'examens de biologie médicale, pour les examens que le laboratoire réalise mais qui ne figurent pas dans sa portée d'accréditation partielle ;
- Le manuel d'assurance Qualité du laboratoire de biologie médicale et le manuel de prélèvement qui doivent être mis en application dans au moins deux sites du laboratoire de biologie médicale si le laboratoire est multi-sites ;
- Un calendrier prévisionnel conduisant à une accréditation sur la totalité de son activité.

**A-2 :** Cette seconde catégorie de l'option A concerne les laboratoires déjà titulaires d'une accréditation partielle. Il s'agit donc d'une demande de vérification d'entrée effective dans la démarche d'accréditation. Le dossier à déposer auprès du COFRAC doit comprendre les éléments cités ci-dessous:

- Une description de l'activité du laboratoire qui n'entre pas dans sa portée d'accréditation partielle. Cette description est faite au moyen des documents de demande d'accréditation disponibles sur le site internet du COFRAC ;
- La preuve de l'abonnement à au moins un programme d'EEQ par famille d'examens de biologie médicale que le laboratoire réalise mais qui ne figurent pas dans sa portée d'accréditation partielle ;
- Si le laboratoire est multi-sites et accrédité sur un seul site, le manuel d'assurance Qualité et le manuel de prélèvement qui doivent être mis en application dans au moins deux sites du laboratoire ;
- Un calendrier prévisionnel conduisant à une accréditation sur la totalité de son activité.

**OPTION B :** Il s'agit d'une demande de vérification d'entrée dans la démarche d'accréditation avant le 31 mai 2013. Le dossier à déposer au COFRAC doit être constitué des éléments suivants :

- Une attestation « 36 mois » en cours de validité émanant d'un organisme agréé reconnu pour l'évaluation des pratiques professionnelles en biologie médicale par la Haute Autorité de Santé. Lorsque le laboratoire de biologie médicale est implanté sur différents sites, l'attestation doit couvrir au minimum deux sites ;
- La preuve de l'abonnement à au moins un programme d'EEQ par famille d'examens de biologie médicale réalisés par le laboratoire;

- Une description de l'activité du laboratoire. Cette description est faite au moyen des documents de demande d'accréditation disponibles sur le site internet du COFRAC ;
- Un dossier de vérification de méthode portant sur une méthode quantitative ou qualitative. Celle-ci peut être incluse dans la portée d'accréditation partielle. Les formulaires à utiliser sont SH FORM 43 et SH FORM 44 ;
- Un calendrier prévisionnel conduisant à une accréditation sur la totalité de son activité.

### 2.3.5. La loi du 30 mai 2013

La loi portant réforme de la biologie médicale a été promulguée le 30 mai 2013. Elle est ensuite parue le 31 mai 2013 au journal officiel sous le numéro 2013-442 [47][48].

Elle prévoit notamment de mieux encadrer la biologie médicale afin de réduire les erreurs des analyses médicales et de freiner les dérives financières.

Concernant l'accréditation plus précisément, l'**article 1** vient ratifier l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale et ainsi lui conférer une valeur législative.

L'**article 8** fixe un calendrier progressif par lequel les laboratoires de biologie médicale ne peuvent fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur un pourcentage des examens de biologie médicale qu'ils réalisent.

Ainsi le calendrier se présente de la manière suivante:

- À compter du **1er novembre 2016**, **50 %** des examens de biologie médicale devront être accrédités ;
- À compter du **1er novembre 2018**, **70 %** des examens de biologie médicale devront être accrédités ;

- L'accréditation totale est prévue au plus tard le **1er novembre 2020** : 100 % des examens de biologie médicale devront être accrédités.

En résumé, la biologie médicale connaît, du fait de cette nouvelle législation, une mutation profonde. La Qualité et la sécurité sont au cœur de la réforme, cela dans le seul intérêt du **patient**.

En effet rappelons que l'objectif de la biologie médicale est de contribuer à la prédition, à la prévention, au dépistage, au diagnostic, à la décision thérapeutique et au suivi de l'état de santé des patients. Ainsi la biologie médicale est construite pour le patient, c'est pourquoi la réforme de la biologie médicale permet de reconnaître un principe de base qui est le suivant : **« permettre à chacun d'avoir accès à une biologie médicale de qualité prouvée, payée à son juste prix dans un cadre européen»** [49].

La procédure d'accréditation, obéissant à des normes de Qualité de haut niveau, est mise en place. Elle permet de garantir une Qualité tracée et prouvée des examens de biologie médicale par la vérification de la compétence du laboratoire de biologie médicale par les pairs [50]. Elle s'impose à tous les laboratoires de biologie médicale du secteur public comme du secteur privé. Ils ne pourront donc pas poursuivre leurs activités s'ils ne sont pas accrédités selon la norme *ISO 15 189* et la norme *ISO 22 870*.

### 2.3.6. Domaines concernés

Selon le document SH-INF-20 (Modalités de candidature à l'accréditation par la section Santé Humaine du COFRAC), les structures concernées par l'accréditation sont les suivantes [51]:

- Les laboratoires de **biologie médicale** tels que définis par le *Code de la Santé Publique* ;
- Toute autre structure 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'évaluation de l'état de santé d'êtres humains. Comme par exemple les structures réalisant les actes d'anatomie et de cytologie pathologiques, ou les actes biologiques d'assistance médicale à la procréation ;
- Les laboratoires de **biologie médico-légale**.

Cependant, selon l'article 8 de la loi du 30 mai 2013 modifiant l'article 7 de l'ordonnance du 13 janvier 2010, certaines analyses sont exclues de la procédure d'accréditation. C'est le cas notamment pour « les examens de biologie médicale innovants hors nomenclature, en cours de validation à l'aide de recherches biomédicales » [48].

### 2.4. Processus d'accréditation des laboratoires de biologie médicale par le COFRAC

La section « **santé humaine** » du COFRAC a pour mission de conduire l'évaluation et l'accréditation des structures dans lesquelles sont réalisés des actes médico-techniques, autrement dit les laboratoires de biologie médicale. Les objectifs de cette accréditation sont de garantir la fiabilité des examens de biologie médicale ainsi que la Qualité de la prestation médicale offerte par le laboratoire [52].

## 2.4.1. Critères d'accréditation

On peut dégager quatre points importants dans l'accréditation des laboratoires de biologie médicale: l'évaluation, la validation, l'harmonisation et la portée d'accréditation [53][54].

### L'évaluation

L'évaluation du laboratoire porte sur son savoir-faire, qui inclut l'organisation de son système Qualité.

### La validation

Un laboratoire peut prétendre être accrédité uniquement pour des méthodes préalablement validées. Ces méthodes peuvent correspondre à des méthodes de référence, des méthodes internes dites « maison » ou des méthodes dérivées des méthodes de référence.

### L'harmonisation

L'accréditation permet d'harmoniser les pratiques des laboratoires de biologie médicale en soumettant des règles communes à tous les critères d'accréditation. Ce processus d'harmonisation va s'effectuer au niveau européen, ce qui permet de rendre ces règles identiques en Europe et ainsi d'égaliser les niveaux de sévérité dans les différents pays.

### La portée d'accréditation

Comme défini dans la partie **1.4.1. Définition de l'accréditation**, un laboratoire n'est pas accrédité dans sa totalité, mais pour des méthodes bien précises et précédemment validées. Le domaine d'accréditation représente donc le champ pour lequel un laboratoire est déclaré compétent.

## 2.4.2. Démarche d'accréditation : les étapes

Le cycle d'accréditation est très standardisé, en effet, les étapes sont précisées et détaillées dans les documents utiles à l'accréditation et les formulaires constituant le dossier de demande d'accréditation, tous disponibles sur le site internet du COFRAC ([www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)).

Ces étapes sont les suivantes [55]:

### 1) Dépôt du dossier de demande d'accréditation

La demande du laboratoire, exprimée par écrit, marque le début de la démarche d'accréditation. Cette demande écrite doit tout d'abord préciser la portée d'accréditation sollicitée (c'est-à-dire l'énoncé formel et précis des activités pour lesquelles le laboratoire demande l'accréditation), exprimée selon les exigences du document **SH REF 08** (Expression et évaluation des portées d'accréditation) [56] déclinées dans le document **SH INF 50** (Portées-types d'accréditation) [57]. Elle doit être accompagnée de toutes les informations administratives requises par :

- Le document **SH FORM 05** (Demande d'accréditation selon la norme *NF EN ISO 15 189* - Questionnaire de renseignements) [58] ;
- Le document **SH FORM 03** (Questionnaire d'auto-évaluation - Préparation de l'évaluation sur site selon la norme *NF EN ISO 15 189 : 2012*) [59].

Cette étape marque la preuve de l'engagement du laboratoire dans la démarche d'accréditation prévue par l'arrêté du 17 octobre 2012 cité précédemment.

## 2) Réception et analyse du dossier de demande d'accréditation par le COFRAC

A la réception de cette demande, un membre de la structure permanente du COFRAC appelé « Assistant technique d'accréditation » est désigné comme interlocuteur privilégié pour le traitement de la demande.

L'instruction débute par un examen de « **recevabilité administrative** », au cours duquel des précisions peuvent être demandées au laboratoire. Cet examen vise à vérifier que le dossier de demande est bien complet. Si le dossier n'est pas jugé recevable, le demandeur est informé des pièces manquantes ou incomplètes.

En revanche, en cas d'avis favorable, l'instruction se poursuit par un examen de « **recevabilité technique** » et une convention d'accréditation accompagnée d'annexes est envoyée au laboratoire. L'examen de recevabilité technique a pour objectifs :

- De vérifier si l'organisation générale du laboratoire demandeur est compatible avec la demande d'accréditation formulée ;
- De vérifier si la section santé humaine du COFRAC est en mesure de donner suite à la demande.

## 3) Phase d'expertise

Cette phase débute dès la réception au COFRAC de la convention signée par le laboratoire. Un examen dit de « **recevabilité opérationnelle** » est effectué par la structure permanente du COFRAC, il a pour objectifs :

- De vérifier si le laboratoire demandeur a pris des dispositions pour traiter les exigences clés de la norme *ISO 15 189* ;

- De vérifier l'existence d'enregistrements relatifs à l'application du Système de Management de la Qualité.

Cet examen est complété par une expertise réalisée par un ou des experts techniques proposés par le COFRAC et acceptés par le laboratoire. Le résultat de cette phase est signifié au laboratoire en vue de l'évaluation initiale qui marquera le début de la phase suivante.

#### **4) Phase d'évaluation sur site**

Cette phase débute par une **évaluation initiale sur site** (audit initial) réalisée par une équipe d'évaluation proposée par le COFRAC et acceptée par le laboratoire. La date est convenue entre le laboratoire, l'équipe d'évaluation et le COFRAC. Cette équipe est composée d'un **évaluateur qualiticien**, plus particulièrement chargé d'examiner le Système de Management de la Qualité au regard des référentiels applicables, et d'autant d'**évaluateurs techniques** que nécessaire pour évaluer l'ensemble des compétences techniques revendiquées par le laboratoire dans la portée d'accréditation.

Ces évaluateurs sont recrutés au sein même des laboratoires de biologie médicale en général car l'accréditation repose sur des évaluations réalisées par des **pairs** afin de garantir la compétence nécessaire.

L'évaluation initiale sur site consiste à :

- Vérifier la pertinence et l'application des dispositions d'ordre organisationnel et technique par rapport au référentiel d'accréditation (norme *ISO 15 189*) ;
- Observer les activités d'examen, et évaluer la compétence des personnes les réalisant ;
- Vérifier les contrôles Qualité ;
- Examiner la traçabilité.

Au cours de l'évaluation, des écarts aux exigences d'accréditation peuvent être identifiés par l'équipe d'évaluation. Ces écarts ou demandes de clarification sont formalisés par écrit et soumis au laboratoire pour approbation.

A l'issue de cette phase d'audit, un rapport d'évaluation est transmis au COFRAC pour décision. Il comprend notamment une description du champ d'évaluation (ou portée d'accréditation) et des points examinés, une liste des documents clés analysés et des personnes évaluées, une description de la situation observée, les éventuelles fiches d'écart ou de demande de clarification ainsi que les plans d'actions associés, et enfin les impressions générales et techniques.

La **décision d'accréditation** est prise par le Directeur Général du COFRAC ou son délégué sur la base de l'avis proposé par la (les) commission(s) consultée(s). Cette accréditation est valable pour une durée maximale de 4 ans, renouvelable par période de 5 ans au maximum, comme expliqué dans le paragraphe ci-après.

### **2.4.3. Surveillance de l'accréditation**

Une fois l'accréditation initiale accordée, un plan de surveillance, incluant des évaluations périodiques sur site, est mis en place dans le but de maintenir et renouveler l'accréditation du laboratoire.

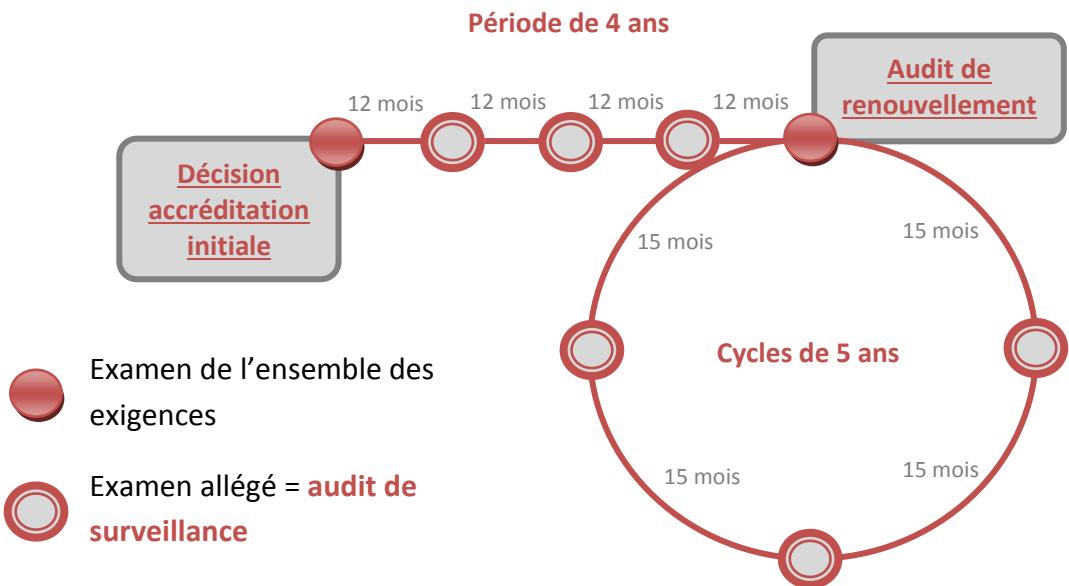
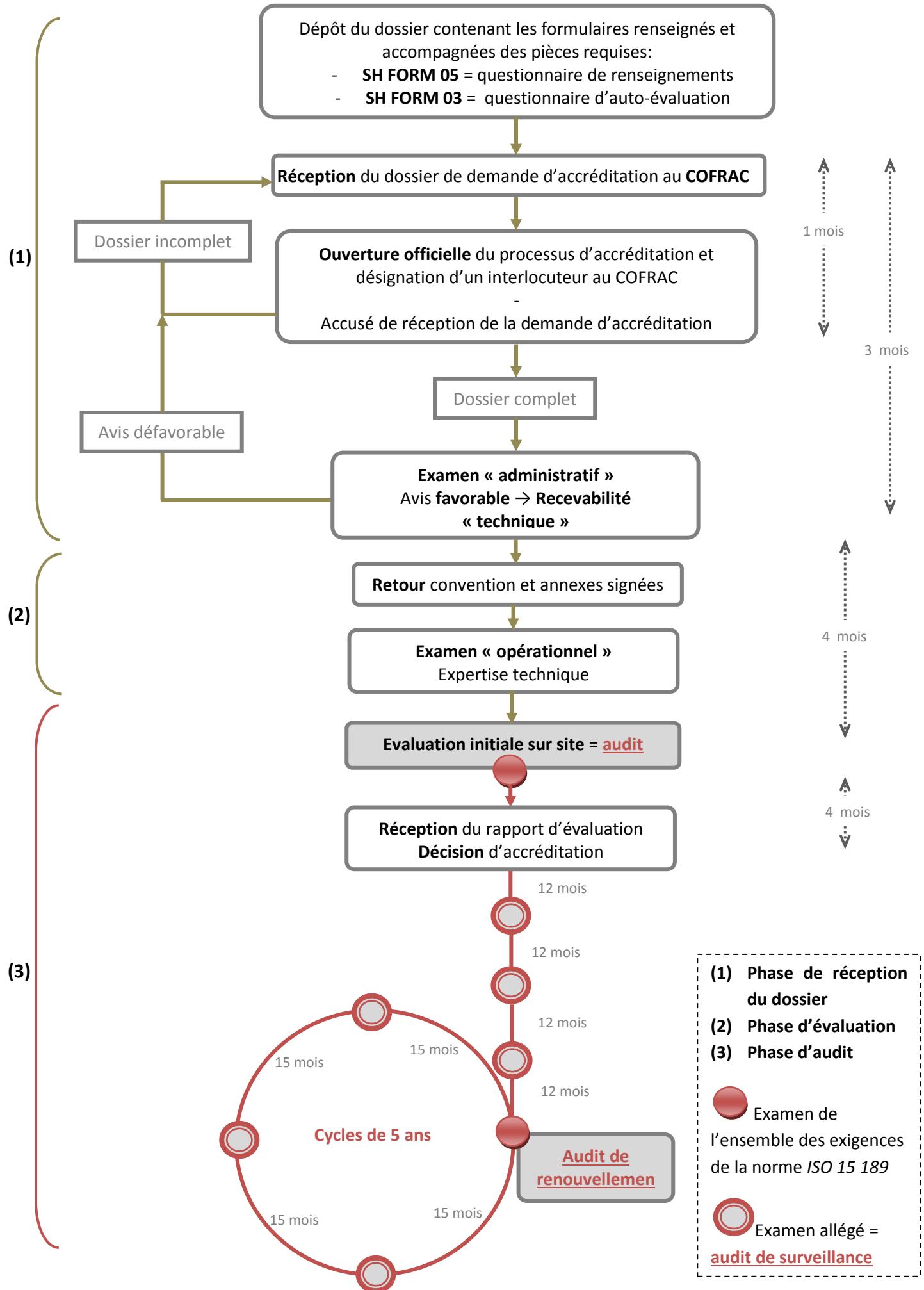


Figure 6 : Cycle de vie d'une accréditation (d'après SH REF 05 : Règlement d'accréditation)

Comme le montre la figure 6 ci-dessus, l'accréditation est délivrée pour une première période de 4 ans. Tout au long de cette période, le laboratoire est régulièrement évalué (tous les ans en moyenne) lors d'évaluations de suivi appelées **audits de surveillance**. Ces audits permettent notamment de vérifier que les dispositions du système de management continuent d'être appliquées et demeurent adaptées à l'activité du laboratoire et conformes aux exigences d'accréditation, mais aussi que les compétences du personnel sont maintenues et démontrées.

Au terme de ces 4 ans, le laboratoire est soumis à un **audit de renouvellement** à l'issu duquel son accréditation est reconduite, en cas de succès, pour une nouvelle période (5 ans au maximum). Le laboratoire accrédité reste en outre soumis à des audits de surveillance périodiquement.

Afin de résumer le processus d'accréditation du début à la fin, un schéma récapitulatif des différentes étapes de l'accréditation par le COFRAC dans le cadre de la norme *ISO 15 189* est présenté sur la Figure 7 page suivante.



## 2.5. La Qualité dans les laboratoires de biologie médicale

### 2.5.1. Réglementation en vigueur avant la norme :

#### Le Guide de Bonne Exécution des Analyses

L'arrêté du 2 novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale énonçait la mise en place du Guide de Bonne Exécution des Analyses (**GBEA**) dans les laboratoires de biologie médicale. Cet arrêté, dont une première révision est parue en 1999 puis une seconde en 2002, présentait le premier référentiel Qualité des laboratoires de biologie médicale [60].

Le GBEA était un texte réglementaire, opposable à tous les laboratoires de biologie médicale, qu'ils soient privés ou publics, qui représentait une ébauche de la mise en place d'un système d'assurance Qualité dans les laboratoires. Il était centré sur l'acte de biologie médicale et abordait les thèmes suivants [61]:

- **Organisation du laboratoire** : un système d'assurance Qualité devait être instauré ainsi qu'une définition des obligations et responsabilités, la sécurité du personnel devait aussi être prise en compte ;
- **Fonctionnement du laboratoire** : les installations et équipements devaient être choisis en fonction des performances souhaitées, l'entretien des locaux et équipements devait faire l'objet de procédures, la traçabilité des matériels et réactifs était primordiale et enfin l'outil informatique devait être maîtrisé ;
- **Exécution des analyses** : le prélèvement, l'identification, la transmission ainsi que la conservation des échantillons devaient être gérés, la transmission des résultats devait

également être définie, et enfin des contrôles de Qualité devaient être effectués régulièrement ;

- **Stockage et conservation des archives** : les archives du laboratoire devaient comporter certains documents précisés dans l'arrêté.

Le GBEA fixait donc, jusqu'à l'apparition de la norme *ISO 15 189*, les règles qui s'imposaient aux laboratoires de biologie médicale.

Jusqu'à l'obtention de l'accréditation totale selon la norme *ISO 15 189* prévue en 2020, le GBEA reste le référentiel opposable à tout laboratoire de biologie médicale.

## 2.5.2. Composition de la norme *ISO 15 189*

La présente Norme internationale, dont le titre est « Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence » [62], est fondée sur deux normes ISO : l'*ISO/CEI 17 025* et l'*ISO 9001*.

- La norme *ISO/CEI 17 025* fait référence aux exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais, elle représente le précurseur de la norme *ISO 15 189* puisque cette dernière correspond à la réécriture en termes plus faciles, et se trouve plus adaptée aux laboratoires de biologie médicale [63].
- La norme *ISO 9001*, quant à elle, fait référence au Système de Management de la Qualité (SMQ) [5], et se retrouve dans le chapitre 4 de la norme *ISO 15 189*. En effet le SMQ fait partie intégrante de la norme *ISO 15 189* et marque une profonde évolution par rapport au **GBEA** décrit précédemment.

La norme *ISO 15 189* permet également de définir de nouvelles exigences en terme de compétence et de Qualité propres aux laboratoires de biologie médicale. En effet, les

prestations fournies par les laboratoires de biologie médicale sont essentielles pour les soins prodigués aux patients ; ils doivent ainsi satisfaire les besoins à la fois des patients et des cliniciens responsables des soins dispensés à ces patients [64].

### **2.5.3. La norme *ISO 15 189* et ses évolutions**

Trois versions successives de la norme *ISO 15 189* ont été éditées.

Une première version a été rédigée en **2003**, puis une seconde en août **2007**, et enfin un projet de révision a été mis en place en janvier 2011 avant d'obtenir sa forme définitive en **décembre 2012**.

Cette dernière version a été élaborée par le Comité Technique ISO/TC 212 « Laboratoires d'analyses de biologie médicale et système de diagnostic *in vitro* » en collaboration avec le Comité Technique CEN/TC 140 « Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* ». Ces deux comités techniques appartiennent à deux organismes élaborant les normes :

- L'**ISO** (International Organisation for Standardization), Organisme international de normalisation dont on a parlé précédemment dans la partie **1.3.2. Définition de l'ISO** ;
- Le **CEN** (European Committee for Standardization), Organisme européen de normalisation évoqué auparavant dans la partie **1.3.3. Les normes NF et EN**.

## 2.6. Les points clés de la norme *ISO 15 189*

### 2.6.1. Présentation générale

Dans la dernière version en vigueur de la norme *ISO 15 189*, datant de décembre 2012, le texte s'articule autour de cinq parties, dont les deux dernières sont les plus détaillées et les plus importantes. Le plan de la norme *ISO 15 189* est présenté dans la figure 8 ci-dessous :

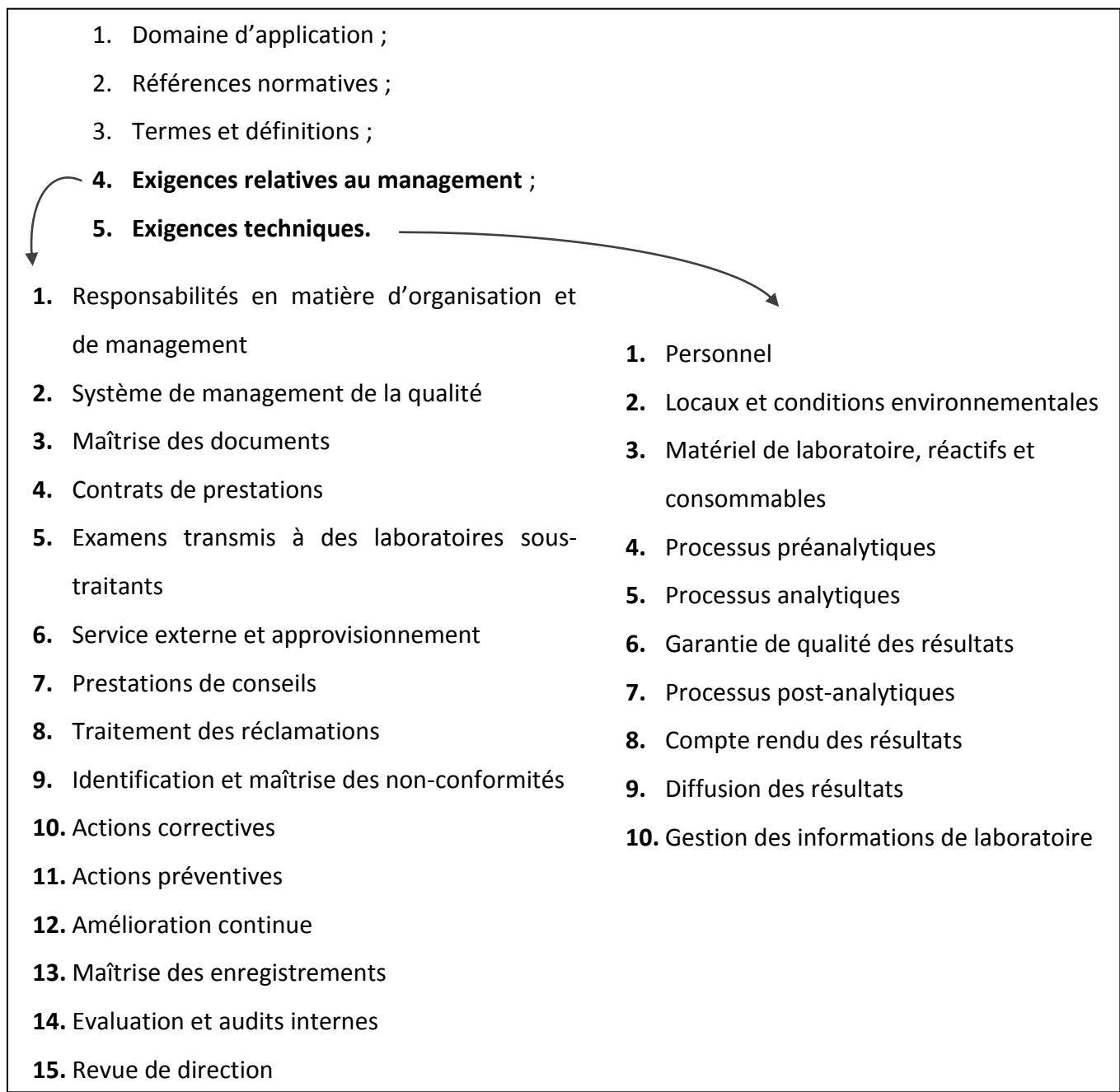


Figure 8 : Le plan de la norme *ISO 15 189*

## **1. Domaine d'application**

Le premier paragraphe intitulé « Domaine d'application » précise les destinataires de la norme *ISO 15 189*. Ces derniers étant les laboratoires de biologie médicale qui élaborent leur Système de Management de la Qualité et évaluent leur propre compétence. De plus les clients des laboratoires, les autorités de santé ainsi que les organismes d'accréditation engagés dans des activités de confirmation ou reconnaissance de la compétence des laboratoires de biologie médicale peuvent également s'y référer [62].

## **2. Références normatives**

Le second paragraphe aborde les documents de référence indispensables pour l'application de la norme *ISO 15 189*. Ces documents sont les suivants :

- *ISO 17000:2004* : Évaluation de la conformité - Vocabulaire et principes généraux ;
- *ISO/CEI 17025:2005* : Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais ;
- *Guide ISO/CEI 2* : Normalisation et activités connexes - Vocabulaire général ;
- *Guide ISO/CEI 99* : Vocabulaire international de métrologie - Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM).

## **3. Termes et définitions**

Le troisième paragraphe comporte 27 définitions essentielles à la compréhension de la norme *ISO 15 189* et ainsi à la mise en place d'un Système de Management de la Qualité.

Les parties **3** et **4** de la norme, respectivement, **Exigences relatives au management** et **Exigences techniques** seront détaillées dans les pages suivantes du manuscrit.

Afin de familiariser le personnel aux différents aspects de la norme *ISO 15 189*, un travail de synthèse a été réalisé dans le laboratoire de biologie moléculaire dans lequel j'ai effectué mon stage de 5<sup>ème</sup> année hospitalo-universitaire. Cette synthèse a été effectuée à l'aide du document édité par l'AFNOR (norme *ISO 15 189*) et du questionnaire d'auto-évaluation rédigé par le COFRAC (SH FORM 03 [59]). Ainsi ce travail a abouti à une présentation plus schématique et simplifiée de la norme *ISO 15 189* et a permis d'effectuer la formation du personnel du laboratoire de manière plus aisée.

La figure 9 présentée ci-dessous a été créée en 2011 (et mise à jour suivant les nouvelles réglementations en vigueur) pour le personnel de l'UF Biologie des tumeurs de l'hôpital Edouard Herriot, dans l'objectif de le familiariser aux 8 points importants de la norme. Ces points seront abordés chacun dans le détail dans les parties suivantes.

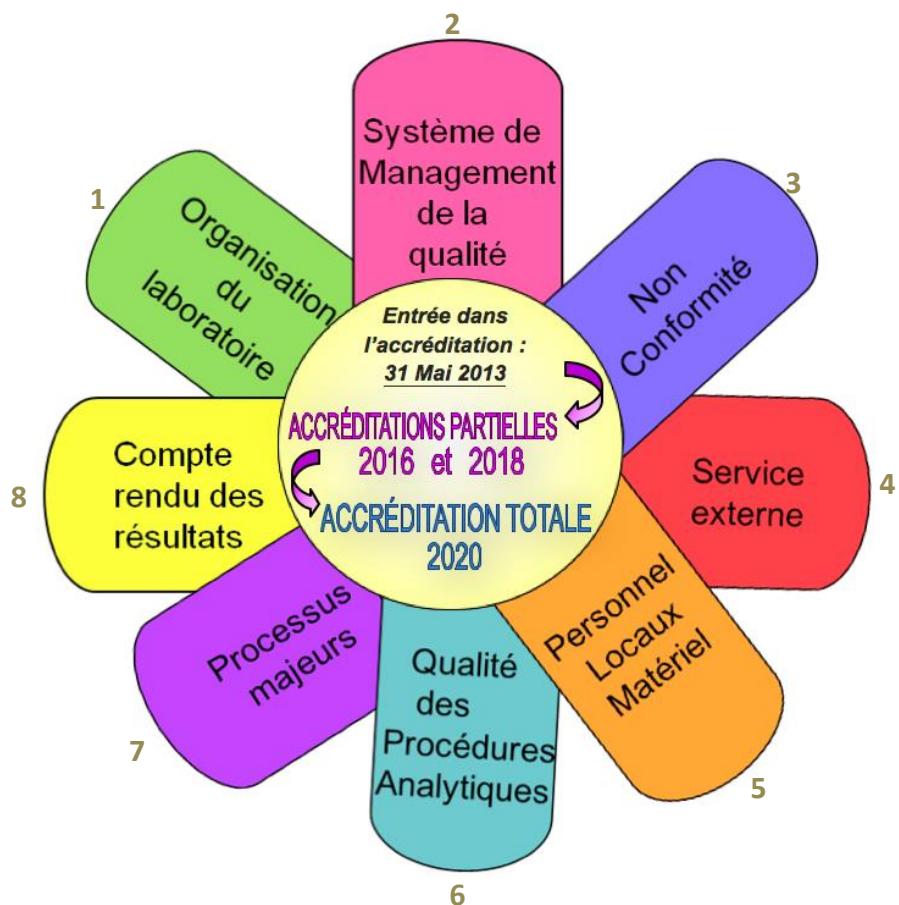


Figure 9 : Illustration de la formation du personnel dans l'UF Biologie des tumeurs

## **2.6.2.     Organisation du laboratoire**

Concernant l'organisation du laboratoire les activités à réaliser sont :

- Définir un organigramme décrivant l'organisation du laboratoire, c'est-à-dire les responsabilités et les rapports au sein du laboratoire mais aussi les relations avec tout autre organe externe ;
- Nommer un responsable Qualité parmi les membres du personnel tout en ayant une équipe Qualité et une implication de tout le personnel : facteur essentiel à la réussite de l'accréditation ;
- Mettre en place un processus de communication interne au laboratoire en organisant régulièrement des réunions brèves.

## **2.6.3.     Système de management de la Qualité**

Le Système de Management de la Qualité (SMQ), par définition, représente le système de management permettant d'orienter et de contrôler une organisation en matière de Qualité.

Les impératifs sont donc :

- Mise en place d'une politique Qualité adaptée à la finalité de l'organisation et faisant référence aux objectifs du SMQ, ainsi qu'à l'engagement du laboratoire et du personnel à de bonnes pratiques professionnelles ;
- Mise en place d'un Manuel Qualité contenant la description du SMQ, la présentation de la structure documentaire et les rôles et responsabilités de la direction technique et du responsable Qualité ;

- Maîtrise des documents grâce à un logiciel informatique aux Hospices Civils de Lyon. Il s'agit de KALILAB dont les fonctions seront détaillées dans la partie **3.8. Les actions supports pour le développement du système Qualité dans le LBMMS**. En effet le laboratoire doit contrôler les documents requis par le SMQ ;
- Etablissement de contrats avec les médecins prescripteurs, les fournisseurs, mais aussi avec les laboratoires extérieurs.

## 2.6.4. Identification et maîtrise des non-conformités

Une non-conformité correspond à la non-observation d'une exigence, c'est-à-dire à une opération, technique ou organisationnelle, présentant un écart par rapport aux exigences du SMQ ou aux résultats attendus. Pour en éviter la survenue il est donc nécessaire de :

- Mettre en place une politique et une(des) procédure(s) à appliquer en cas de non-conformité ;
- Instaurer des actions correctives et préventives lorsqu'il est déterminé que les non-conformités peuvent se reproduire :
  - Une **action corrective** permet d'éliminer la ou les causes profondes d'une non-conformité détectée ;
  - Une **action préventive** vise à éliminer la cause d'une non-conformité potentielle.

## 2.6.5. Service externe et approvisionnement

Cette partie de la norme traite de la façon dont le laboratoire sélectionne et utilise les services, équipements et consommables qu'il achète. Il est donc nécessaire de :

- Définir une politique de sélection et d'achat de services et de fournitures grâce à des procédures ;
- Effectuer des contrôles et vérifications quant à l'acceptation des fournitures.

## 2.6.6. Personnel – locaux – matériel

Le chapitre évoquant le **personnel** porte sur la politique de ressources humaines, afin de l'optimiser il est prévu de :

- Rédiger des fiches de poste et d'habilitation ;
- Mettre en place des formations du personnel (en assurance Qualité par exemple) ;
- Évaluer la compétence et la performance du personnel.

Le chapitre concernant les **locaux** porte sur l'adéquation des locaux à l'activité de biologie médicale. Il est en particulier nécessaire d'identifier chaque local et les conditions d'entretien des installations.

Le chapitre sur le **matériel de laboratoire** concerne les équipements biomédicaux ainsi que leurs réactifs. Il est indispensable :

- Que le matériel soit identifié et qualifié ;
- Qu'il existe des instructions concernant la gestion des matériels défectueux ;

- Qu'un programme de surveillance, de maintenance, et d'étalonnage soit mis en place.

## 2.6.7. Qualité des procédures analytiques

Le laboratoire doit garantir la Qualité des examens en les réalisant dans des conditions définies, pour cela des mesures sont indispensables :

- Des systèmes de Contrôle Interne de la Qualité (CIQ) ;
- Une identification des sources d'incertitudes (analyse de risque) ;
- Une identification des équipements « critiques », c'est-à-dire influant sur la Qualité/fiabilité et l'exactitude du résultat ;
- Une participation à des programmes de comparaison inter laboratoires (Évaluation Externe de la Qualité : EEQ).

Concernant le dernier point cité ci-dessus, l'évaluation externe de la Qualité, sur des échantillons de résultats inconnus, est une obligation légale (*article L6221-9 du Code de la Santé Publique*) [65]. Toutefois, tous les examens de biologie médicale ne bénéficient pas d'un programme d'EEQ. C'est pourquoi dans ces cas-là, des échanges d'échantillons avec d'autres laboratoires sont préférentiellement mis en place. La norme *ISO 15 189* propose également d'autres approches, telles que les matériaux de référence certifiés, et le matériel provenant de banques de tissus ou de cellules.

A ce sujet, l'UF Biologie des tumeurs de l'hôpital Edouard Herriot participe plusieurs fois dans l'année à des comparaisons inter laboratoires (CIL) instaurées par l'Institut National du Cancer (INCA) [66]. Celles-ci sont effectuées dans le but d'évaluer la Qualité et l'exactitude des techniques et de comparer de façon rétrospective et objective les résultats fournis par les différents laboratoires.

Le fonctionnement est le suivant: un ou plusieurs prélèvements sont envoyés de façon anonymée à tous les laboratoires participant à la CIL. Ces échantillons sont ensuite traités par le personnel du laboratoire avec les mêmes processus que ceux utilisés pour les patients en routine, jusqu'à l'obtention d'un résultat biologique. Les comptes rendus, après validation par le biologiste, sont ensuite envoyés aux prestataires responsables de comparer et analyser les résultats des différents laboratoires de toute la France. Sont contrôlés en particulier les paramètres suivants: les résultats obtenus, le contenu du compte-rendu et le délai d'obtention des résultats.

Enfin pour finir, des réunions ont lieu dans chaque laboratoire participant à une CIL afin de restituer les résultats nationaux, de discuter des résultats du laboratoire et des améliorations à apporter lorsque les critères de performances préalablement déterminés ne sont pas satisfaits.

## 2.6.8. Processus majeurs

Les processus majeurs correspondent aux trois phases de l'examen de biologie médicale. Une illustration est présentée page 46 dans la **Figure 5: Illustration des phases pré-analytique, analytique et post-analytique.**

L'accréditation intègre bien ces trois phases:

- La phase pré analytique comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il doit être analysé.  
→ Il convient donc au laboratoire de prendre des dispositions quant à ces différentes étapes.

- La phase analytique est le processus technique permettant l'obtention des résultats d'analyse biologique.
 

→ Il convient au laboratoire de mettre à disposition au poste de travail les procédures et instructions techniques ainsi que les protocoles fournisseur pour la réalisation de chaque analyse. Il est aussi essentiel de procéder à la validation des méthodes d'analyse et à leur revue périodique.
- La phase post-analytique comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat, la communication appropriée au prescripteur et au patient et enfin le traitement post-analytique des échantillons (stockage, maintenance et élimination).
 

→ Il convient donc au laboratoire de disposer de procédures en rapport avec la validation biologique des résultats avant leur diffusion ainsi qu'avec l'entreposage la conservation et l'élimination des échantillons biologiques.

## 2.6.9. Compte-rendu des résultats

Les résultats de chaque examen doivent être communiqués de manière précise, claire et non ambiguë selon la norme, pour cela il faut :

- Une prévision du mode de transmission des résultats : courrier, informatique, téléphone ou autres ;
- Une mise en place d'une procédure permettant de garantir la validité de la transcription des résultats du laboratoire ;
- Un établissement de procédures documentées concernant la diffusion des résultats des examens, comprenant par exemple le détail des personnes autorisées à diffuser les résultats et à qui. Concernant la diffusion des résultats obtenus dans l'UF Biologie

des tumeurs, un compte-rendu type a été rédigé par un groupe d'experts sous l'égide de l'INCA ;

- Une définition du délai d'obtention des résultats. De plus, selon l'article *L6211-2 du Code de la Santé Publique*, les résultats d'analyse doivent être communiqués dans un délai compatible avec l'état de l'art et les besoins cliniques [67]. Dans le cas de l'UF Biologie des tumeurs de l'Hôpital Edouard Herriot ce délai est compris entre 7 et 10 jours.

### 3. Cadre défini aux Hospices Civils de Lyon

#### 3.1. Présentation des Hospices Civils de Lyon

Les Hospices Civils de Lyon (HCL) ont été fondés le 18 Janvier 1802 par la réunion de deux hôpitaux existants et aujourd'hui fermés: l'Hôtel-Dieu et l'Hôpital de la Charité. Ils représentent un établissement de santé public et le deuxième Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de France. Ils rassemblent aujourd'hui 14 établissements pluridisciplinaires ou spécialisés, organisés en 6 groupements, qui assurent de larges missions [68] [69].

Ces 6 groupements hospitaliers sont les suivants :

- **Le groupement hospitalier Edouard Herriot:** il représente l'un des plus importants des établissements hospitaliers lyonnais, il constitue notamment le principal pôle d'accueil des urgences de l'agglomération ;
- **Le groupement hospitalier Est** regroupe l'hôpital Femme Mère Enfant, l'hôpital Louis Pradel, l'Aile A1, l'hôpital Pierre Wertheimer et l'institut d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique ;
- **Le groupement hospitalier Nord** regroupe l'hôpital de la Croix-Rousse ainsi que le service de consultations et traitements dentaires ;
- **Le groupement hospitalier Sud** est constitué du centre hospitalier Lyon-Sud ainsi que l'hôpital Henry Gabrielle ;
- **Le groupement hospitalier Gériatrie** est composé des établissements suivants : l'hôpital des Charpennes, l'hôpital Antoine Charial, l'hôpital Gériatrique Pierre Garraud et l'hôpital Gériatrique Dr Frédéric Dugoujon ;
- **L'hôpital Renée Sabran** est situé à Hyères dans le Var.

### 3.2. Le laboratoire de biologie médicale multi-sites

Selon l'article *L6222-4 du Code de la Santé Publique* « un établissement public de santé ne peut compter en son sein qu'un seul laboratoire de biologie médicale » [70]. Mais dans le cas des établissements publics de santé où les sites se multiplient la notion de laboratoire **multi-sites** apparaît : « un même laboratoire peut être implanté sur un ou plusieurs sites » (article *L6212-1 du Code de la Santé Publique* [71]).

Les Hospices Civils de Lyon représentent donc un seul établissement de santé comportant un **unique laboratoire de biologie médicale** réparti sur les différents sites : le site Lyon Est, le site Lyon Sud, le site Lyon Nord et le site de l'hôpital Edouard Herriot. Ce laboratoire unique est nommé **LBMMS** pour Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites du CHU de Lyon.

Le LBMMS assure différents types d'examens pour le compte des services de soins du CHU notamment, mais aussi pour des laboratoires extérieurs aux HCL. Il gère dans le respect des normes de la Qualité, des examens de Biologie de proximité et des activités innovantes et de recours qui contribuent à une prise en charge complète des différentes spécialités **biologiques et d'anatomie pathologique**. Ainsi les différents secteurs d'activités dépendant du Pôle d'Activité Médicale de Biologie et d'Anatomie Pathologiques (PAM BAP) du LBMMS, sont listés dans le tableau ci-dessous (selon la classification proposée par le LBMMS) :

**Tableau 1 : Liste des domaines/sous-domaines du LBMMS d'après le Manuel Qualité du LBMMS [72]**

DOMAINE	SOUS-DOMAINE	EXEMPLE DE FAMILLE
<b>Biologie Médicale</b>	Biochimie	Biochimie générale et spécialisée
	Hématologie	Hémostase
	Microbiologie	Bactériologie
	Immunologie	Auto-immunité
	Génétique	Génétique constitutionnelle
	Biologie de la reproduction	Spermiologie
<b>Anatomie et Cytologie Pathologiques</b>		Génétique somatique

Les différents secteurs d'activités sont donc déclinés par le LBMMS dans le tableau 1 précédent, selon les recommandations du COFRAC (**SH INF 50** Portées-types d'accréditation [57]). Sont ainsi représentés deux **domaines** « Biologie Médicale » et « Anatomie et Cytologie Pathologiques » subdivisés par des **sous-domaines**. Ces sous-domaines sont ensuite déclinés en **familles**, correspondant quant à elles aux diverses spécialités et disciplines de biologie médicale.

### 3.3. La politique Qualité

Le Professeur Claude NEGRIER, biologiste responsable du LBMMS des HCL, a décrit la politique Qualité du LBMMS le 27 septembre 2012 de la manière suivante :

« La **vocation** du laboratoire unique des HCL est d'offrir aux patients et prescripteurs une prestation d'examens biologiques pertinents et fiables comprenant le conseil à la prescription et l'interprétation des résultats dans le cadre d'un dialogue clinico-biologique permanent.

Cette prestation comprend la réalisation d'examens de biologie médicale couvrant l'ensemble des secteurs analytiques et permettant une prise en charge des patients 7 jours sur 7 et 24 heures sur 24 dans un souci constant d'efficience médico-économique et d'équité dans l'accès aux soins.

La **politique Qualité** des HCL a donc pour ambitions :

- D'assurer la pérennité de ses activités et promouvoir une filière publique de biologie médicale en partenariat avec les établissements du bassin de santé de la région ;
- De promouvoir les activités universitaires d'enseignement, de recours et de recherche, permettant la transmission du savoir et une amélioration constante des pratiques en adéquation avec les évolutions scientifiques et technologiques. Ce

- développement contribue à conforter la place des HCL au niveau national et international en termes de capacité d'innovation et d'amélioration de l'offre de soins ;
- De tendre vers un fonctionnement lisible et collégial dans le cadre d'un management transversal multi disciplinaire prenant en compte tous les acteurs et visant à assurer pour tous un environnement de travail de Qualité.

La réussite de cette politique passe par une implication permanente et totale de l'ensemble des membres du personnel qui doivent l'appliquer dans le respect de notre Système de Management de la Qualité et des bonnes pratiques professionnelles conformément à la réglementation en vigueur. » [73]

Cette déclaration a été reprise et diffusée via la messagerie électronique à l'ensemble du personnel du LBMMS, après mise en forme d'une « News Letter » par la Direction de la Communication des HCL le 14 avril 2013. Ainsi dans cette dernière version, il est ajouté que « la mise en œuvre de cette politique Qualité passe par la réalisation de trois grands projets :

1. La réorganisation interne de l'offre de biologie et anatomie pathologique ;
2. Le déploiement du système unique de gestion de laboratoire (PUB : Projet d'Urbanisation de la Biologie) ;
3. Le développement d'un Système de Management de la Qualité conforme aux normes

*NF EN ISO 15 189 et 22 870 pour obtenir une accréditation échelonnée. » [73]*

Cette déclaration reprend tout d'abord les éléments importants de l'ordonnance du 13 janvier 2010, à savoir la Qualité ainsi que la fiabilité des prestations proposées. Elle expose également le contexte d'efficience médico-économique non évoqué dans la norme *ISO 15 189*, mais dont l'importance est croissante aujourd'hui, car cela relève d'impératifs

économiques et politiques comme mentionné dans le « Rapport pour un projet de réforme de la Biologie Médicale » présenté par M. BALLEREAU [38].

De plus, une des ambitions principales de cette démarche d'accréditation est de promouvoir un service public pour la Biologie Médicale, cela en assurant les activités de recours non prises en charge par les laboratoires du secteur privé. En effet, assurer la pérennité de ce type d'activité représente une réelle volonté de la part des HCL.

Enfin, tendre vers un fonctionnement transversal et multi disciplinaire correspond à un objectif majeur de la politique Qualité des HCL. Ce type de management est une nouveauté au sein du LBMMS, en effet il se met en place progressivement et marque une profonde évolution au niveau du fonctionnement du LBMMS.

### 3.4. Le système Qualité du LBMMS

Une des premières étapes de la mise en place du système Qualité au LBMMS a été de définir son organisation.

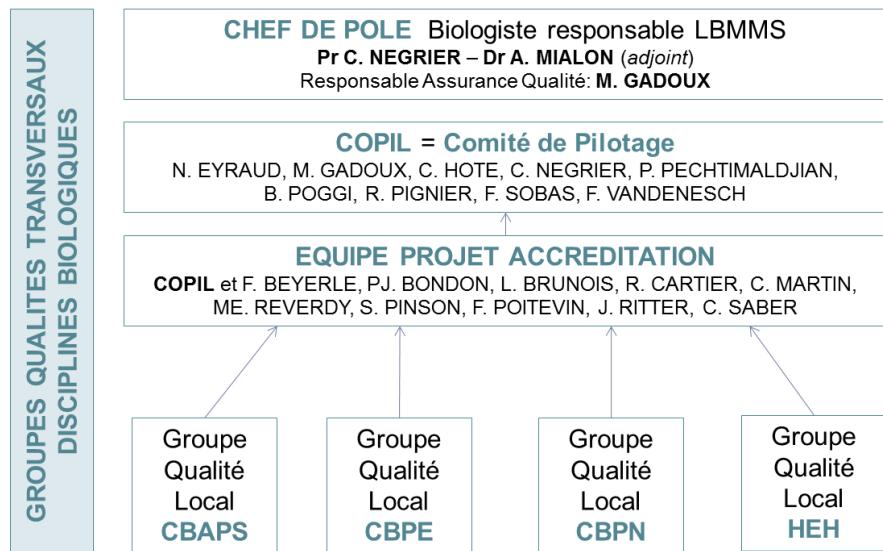
Le laboratoire de biologie médicale des HCL présente une organisation complexe de part cette multiplicité des sites et la diversité des activités, d'où une difficulté d'harmonisation entre ces différents sites et la nécessité de prendre en compte les particularités de chaque discipline ou service.

Une cohérence générale, une cohérence de site ainsi qu'une cohérence de service et de spécialité sont nécessaires et indispensables à la réussite de l'accréditation.

Pour cela une **organisation de la Qualité** a été mise en place au sein du LBMMS afin de définir à partir de la norme *ISO 15 189* ce qui est du ressort de chaque laboratoire spécifiquement, ou au contraire ce qui est transversal et donc commun à tous.

Cette organisation de la Qualité est définie et exposée dans le Manuel Qualité [72]. Elle est sous la responsabilité du Chef de Pôle ainsi que de la Responsable Assurance Qualité du LBMMS. Elle repose ainsi sur la mise en place d'un Comité de Pilotage, et d'une Equipe Projet Accréditation comportant des représentants des différentes disciplines composant le LBMMS.

Des groupes de Qualité sont aussi constitués localement sur chacun des sites (Centre de Biologie et Pathologie Sud: CBAPS ; Centre de Biologie et Pathologie Est: CBPE ; Centre de Biologie et Pathologie Nord: CBPN ; Hôpital Edouard Herriot: HEH). Un résumé de cette organisation est schématisé sur la figure 10 ci-après.



**Figure 10 : Organisation matricielle de la Qualité au LBMMS des HCL selon le Manuel**

**Qualité du LBMMS [72] \***

\* Chaque groupe représenté sur la figure 10 peut évoluer dans le temps. Ainsi le nom des personnes est donné à titre indicatif.

Les responsabilités et missions sont définies de la façon suivante :

- Le « **chef de pôle** » représenté par le Biogliste responsable du LBMMS, suit l'avancement du projet, vérifie que le déploiement progresse, apporte un soutien méthodologique et communique avec les différents responsables en collaboration avec la Responsable Assurance Qualité du LBMMS ;
- Le « **comité de pilotage** » a quant à lui un rôle décisionnel sur les propositions faites par l'équipe projet, mais il fixe aussi les orientations et arbitre les décisions clefs ;
- L' « **équipe de projet accréditation** » est présente afin de faire des propositions sur la mise en place de la démarche d'accréditation, ainsi que de coordonner les travaux des groupes locaux et transversaux ;
- Un « **groupe Qualité local** » existe sur la totalité des sites constituant le LBMMS. Chaque groupe est encadré par un Référent Qualité de site et travaille sur les particularités locales et le déploiement sur le terrain ;

- En parallèle, le Pôle d'Activité Médicale (PAM) a aussi défini des « **groupes Qualité transversaux** » pour animer le projet. Ces derniers travaillent par thème, en particulier sur : le manuel de prélèvement, la logistique, l'habilitation du personnel, la métrologie et la maîtrise des équipements, le logiciel Qualité KALILAB, la gestion documentaire et la validation de méthodes. Ce travail est réalisé en cohérence avec les différents groupes Qualité locaux et a pour objectif principal l'harmonisation des procédures et des pratiques de l'ensemble des processus du LBMMS.

Enfin, un deuxième niveau d'organisation du système Qualité est présent au sein du LBMMS.

Ce dernier est sous la responsabilité de la Responsable Assurance Qualité du LBMMS : actuellement **M. Gadoux**, qui a pour principales missions [72]:

- Gérer le système Qualité en fonction de la politique définie par la Direction ;
- S'assurer de la conformité aux exigences des normes *ISO 15 189* et *ISO 22 870* ;
- Rendre compte à la Direction du fonctionnement du système Qualité et de tout besoin d'amélioration ;
- Favoriser l'amélioration du système Qualité ;
- Sensibiliser le personnel à la démarche d'accréditation et animer les réunions.

Pour mener à bien ces missions, la Responsable Assurance Qualité s'appuie sur des Référents Qualité de site qui animent ces mêmes groupes locaux de Qualité cités précédemment. Ainsi, sur chaque site il existe des « **groupes transversaux par discipline biologique** », par exemple un groupe Génétique, un groupe Hématologie, un groupe Biochimie ou encore un groupe Anatomie et Cytologie pathologiques.

### 3.5. Accompagnement de la démarche d'accréditation par un prestataire spécialisé

Afin de garantir la réussite de leur démarche d'accréditation, les HCL ont décidé de se faire accompagner et guider pendant trois ans par un organisme externe spécialisé : **ELSE consultants**. Cette décision est inscrite dans le Manuel Qualité du LBMMS [72].

**ELSE consultants** est un cabinet de conseil, d'audit et de formation. Sa vocation est d'accompagner les entreprises dans leurs démarches de changement et d'amélioration des performances. Il s'occupe tout aussi bien des laboratoires hospitaliers et institutionnels de biologie médicale dans le cadre de l'accréditation *ISO 15 189* comme c'est le cas des Hospices Civils de Lyon, que des entreprises de nettoyage, des aéroports et ports dans le cadre de la certification *ISO 9001*, ou encore de l'industrie agro-alimentaire dans le cadre de la certification *ISO 14 001* [74].

ELSE consultants s'est adjoint l'assistance d'une autre société externe spécialisée appelée **CT2M**, Centre Technologique Méditerranéen de Métrologie [75]. **CT2M** a pour objectif d'accompagner la démarche d'accréditation des HCL pour la partie technique, la partie analytique, la partie métrologique ainsi que la gestion des contrôles et des incertitudes. Il a ainsi trois missions principales:

- Le conseil et l'expertise en Métrologie – Qualité ;
- L'étalonnage dans le cadre d'un laboratoire expert accrédité COFRAC ;
- Le transfert de technologie.

*ELSE consultants* a débuté sa mission en 2011 en proposant un accompagnement en deux phases, avec pour objectif de répondre de manière progressive à l'ensemble des exigences de

la norme *ISO 15 189* sur la totalité des domaines du laboratoire, tout en assurant l'encadrement de la phase d'accréditation partielle :

- **Phase 1** : diagnostic sur un échantillon des domaines d'activités du laboratoire ;
- **Phase 2** : action et accompagnement des équipes de référents sur les sujets identifiés lors de la phase 1. Cette phase a abouti au dépôt du dossier pour l'accréditation partielle du laboratoire en mai 2013, et aboutira au dépôt du dossier pour l'accréditation totale du laboratoire.

De plus, indépendamment de l'accompagnement par *ELSE consultants*, il a aussi été décidé au niveau du LBMMS de mettre en place des modules de formation axés « accréditation ». Ces derniers sont ouverts aux personnels médicaux et non médicaux du LBMMS dans le but de permettre le développement des compétences de chacun des membres du personnel.

Ainsi tous les secteurs du LBMMS des HCL avancent dans la démarche Qualité en parallèle dans la perspective commune de l'accréditation totale. *ELSE consultants* a mis en évidence, lors de la phase 1 de son diagnostic, que selon les différents services et les sites du LBMMS, l'état d'avancement pour l'accréditation partielle était différent. Cela a donc permis de mettre en place un échéancier de l'accréditation partielle de chacun des services selon un ordre particulier, ceci en fonction de leur état d'avancement.

Cette différence de niveau d'avancement des services est évidente, compte tenu de la taille du LBMMS qui est très importante. Mais cela est loin de représenter un désavantage pour la démarche d'accréditation. En effet le LBMMS s'appuie sur ces disparités pour mettre en commun le travail déjà réalisé et ainsi construire sur la base de l'expérience acquise par les services les plus en avance.

### 3.6. Calendrier de l'accréditation

Afin d'organiser la mise en place des procédures nécessaires à l'accréditation et de suivre leur avancée, une planification des projets a été réalisée en 2011 lors d'une réunion de lancement, ceci avec l'aide du prestataire spécialisé *ELSE consultants*.

Ce planning théorique est présenté sur la figure 11 ci-dessous. Il provient d'un document interne aux HCL intitulé « Revue de lancement de projet » [76] et rédigé par *ELSE consultants*. L'objectif principal de ce calendrier est de présenter les étapes primordiales de la démarche d'accréditation, à savoir la phase initiale de diagnostic débouchant sur un plan d'action, ainsi que sur la sensibilisation des membres du LBMMS, sur la constitution des groupes de Qualité et enfin au dépôt du dossier d'accréditation partielle (initialement prévu en décembre 2012).

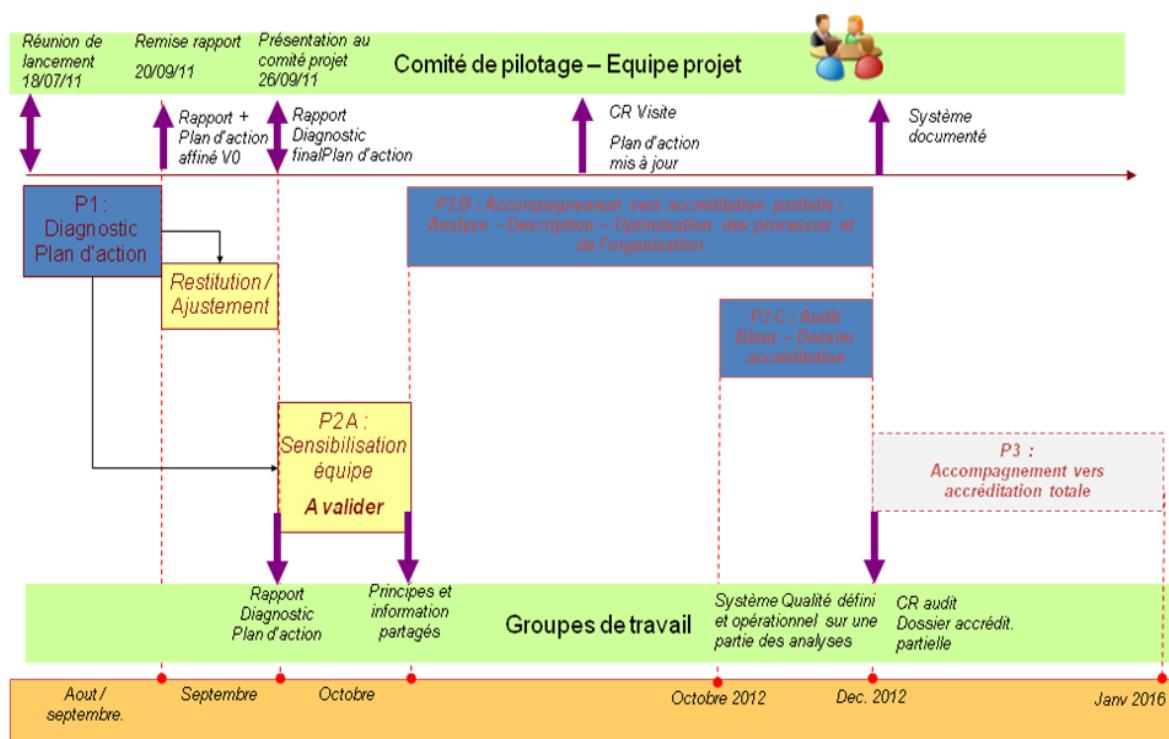


Figure 11 : Calendrier prévisionnel de l'accréditation aux HCL \*

\* Cette planification a évolué depuis sa création en 2011 en fonction des changements des textes réglementaires applicables. L'accréditation totale est en effet maintenant prévue en

2020. L'accréditation partielle, quant à elle, doit être obtenue à compter du 1<sup>er</sup> Novembre 2016 comme précisé dans la partie **2.3.5. La loi du 30 mai 2013**. Ainsi 50% des examens réalisés par le LBMMS doivent être accrédités. Ce pourcentage est à interpréter selon la classification du COFRAC (**SH INF 50** Portées types d'accréditation [57] - **SH FORM 06** Liste détaillée des examens/analyses couverts par l'accréditation [77]) : 50% des examens réalisés par « **famille** » doivent être accrédités à cette première échéance. Comme nous le verrons dans la partie suivante (**3.7. Déroulement du projet : de la preuve d'engagement du laboratoire à l'accréditation totale**), le dossier d'accréditation partielle a été déposé en mai 2013.

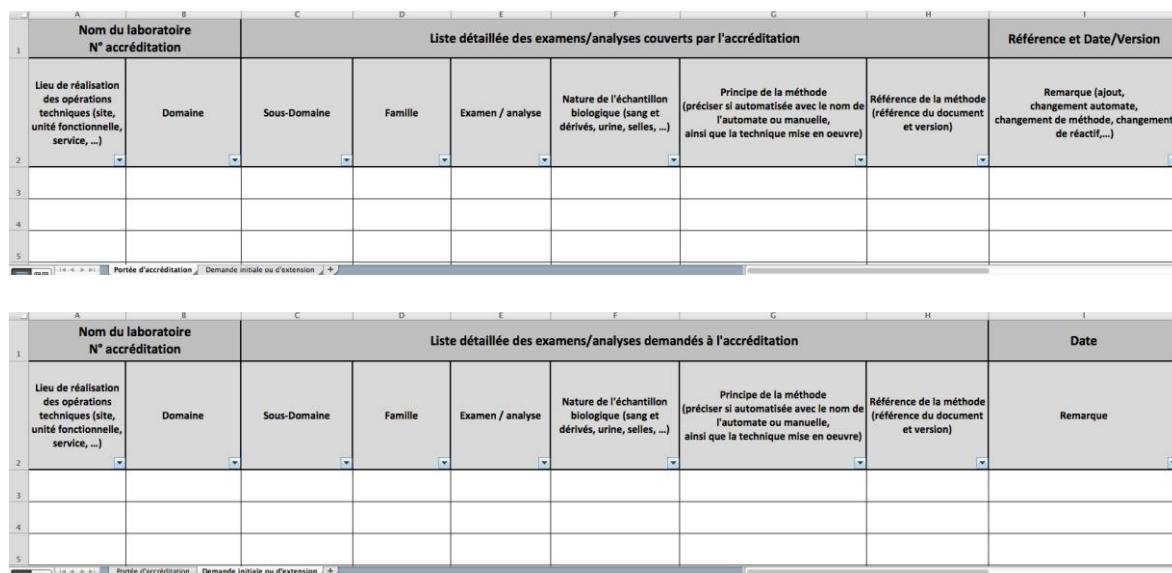
### **3.7. Déroulement du projet : de la preuve d'engagement du laboratoire à l'accréditation totale**

Comme évoqué précédemment dans la section **2.4.2. Démarche d'accréditation : les étapes** de la partie bibliographique, la toute première phase de la démarche d'accréditation correspond à la réalisation dans un premier temps de la liste détaillée des examens correspondant à la portée d'accréditation puis dans un second temps d'un dossier relatif aux examens réalisés par le laboratoire en dehors de la portée d'accréditation partielle demandée. Ces documents doivent ensuite être adressés au COFRAC en vue de l'ouverture de la procédure d'accréditation. Cette étape est essentielle et permet de justifier de l'entrée effective du laboratoire dans la démarche d'accréditation.

Cette preuve de l'engagement du laboratoire doit être présentée selon les exigences du document **SH REF 08** (Expression et évaluation des portées d'accréditation) [56] déclinées dans le document **SH INF 50** (Portées types d'accréditation) [57] du COFRAC. La liste détaillée des examens définissant le périmètre de la portée d'accréditation doit être présentée selon

un format et une codification spécifiques : un tableau Excel intitulé **SH FORM 06** (Liste détaillée des examens/analyses couverts par l'accréditation) [77] avec deux onglets « Portée d'accréditation » et « Demande initiale ou d'extension ». Une illustration des deux onglets du document **SH FORM 06** est présentée dans le tableau 2 ci-dessous :

**Tableau 2 : Liste des examens couverts/demandés par l'accréditation à remplir par le laboratoire (SH FORM 06)**



The image shows a screenshot of the SH FORM 06 Excel spreadsheet. It features two tabs at the bottom: 'Portée d'accréditation' (Accreditation Scope) and 'Demande initiale ou d'extension' (Initial Request or Extension). The main table has 9 columns: A (Nom du laboratoire N° accréditation), B (Domaine), C (Sous-Domaine), D (Famille), E (Examen / analyse), F (Nature de l'échantillon biologique (sang et dérivés, urine, selles, ...)), G (Principe de la méthode (préciser si automatisée avec le nom de l'automate ou manuelle, ainsi que la technique mise en oeuvre)), H (Référence de la méthode (référence du document et version)), and I (Remarque [ajout, changement automatique, changement de méthode, changement de réactif,...]). Rows 1 and 2 are header rows, and rows 3, 4, and 5 are data rows. The table is titled 'Liste détaillée des examens/analyses couverts par l'accréditation'.

Cette première échéance était fixée le **31 mai 2013**. Le périmètre de la portée d'accréditation a été défini par le LBMMS et transmis au COFRAC sous forme d'une **demande initiale d'accréditation** à cette date. Cette demande concernait uniquement le domaine **Biologie Médicale** et les sous-domaines **Biochimie, Hématologie et Immunologie**.

La section Santé Humaine du COFRAC a ensuite instruit et accepté la demande initiale, puis a établi une convention en Janvier 2014 définissant les droits et obligations des deux parties (le demandeur : les HCL, et l'évaluateur : le COFRAC) pendant les phases successives de la procédure d'accréditation.

Un premier audit du COFRAC a eu lieu en Mai 2014 correspondant à la phase d'évaluation de la procédure d'accréditation sur les trois sous-domaines concernés par la demande initiale d'accréditation.

L'UF Biologie des tumeurs, dont les activités appartiennent, dans le LBMMS, au domaine **Anatomie et Cytologie Pathologiques**, n'a pas été concernée par la demande initiale d'accréditation ainsi que par l'audit.

Cependant, comme dans tous les services du LBMMS, l'UF doit avancer dans la mise en place du SMQ tel que défini par le LBMMS. Durant mon stage hospitalier, j'ai donc rédigé une liste récapitulative des examens réalisés dans l'UF pour une première déclaration au COFRAC (**Tableau 3 : Déclaration des examens réalisés dans l'UF Biologie des tumeurs au Responsable Qualité du LBMMS en février 2013**).

Cette liste ne tient pas compte de la codification et du format exigés par le COFRAC (SH FORM 06), cette dernière n'étant pas encore publiée en février 2013. Ainsi, lorsqu'il sera prévu une demande d'accréditation pour ce secteur d'activités, une mise à jour de la liste des examens devra être réalisée.

Tableau 3 : Déclaration des examens réalisés dans l'UF Biologie des tumeurs au Responsable Qualité du LBMMS en février 2013

EXAMEN	NATURE DE L'ECHANTILLON BIOLOGIQUE	PRINCIPE DE LA METHODE ET EQUIPEMENT		ANNEE ENVISAGEE POUR LA DEMANDE D'ACCREDITATION DE 2013 A mars 2016	Famille du COFRAC	
Libellé	Nature de prélevement	Méthode	Principe de méthode			Discipline
Coupe	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Coupe au microtome	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Microdissection	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Microdissection laser	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Macrodissection	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Macrodissection au scalpel	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Extraction d'ADN	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Extraction purification d'acides nucléiques	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène EGFR sur les exons 18,19, 20,21	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène B-Raf sur les exons 11 et 15	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène PIK3CA sur les exons 10 et 21	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène HER2 sur l'exon 20	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène Ki-Ras sur les codons 12 et 13 de l'exon 2	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Snapshot PNA	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène C-Kit sur les exons 9, 11, 13, 17	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène N-Ras sur l'exon 3	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche des mutations V600 de l'exon 15 du gène B-Raf	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Snapshot	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène PDGFR-A sur les exons 12, 14, 18	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation des gènes IDH1 et IDH2	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Snapshot		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de l'amplification du gène EGFR	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	q-PCR		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de perte d'hétérozygotie 1p19q	Lymphocytes du sang périphérique + tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	PCR multiplex et analyse de fragments		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation des gènes H3.3 et H1.5	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Snapshot		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Etablissement phénotype RER / détection instabilité microsatellites	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	PCR multiplex et analyse de fragments	mars-16	GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Mise en évidence de méthylation promoteur du gène HMLH1	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	MSP et Pyroséquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Mise en évidence de méthylation promoteur du gène MGMT	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	MSP et Pyroséquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène AKT1 sur l'exon 3	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène RET sur les exons 10,11	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène FGFR3 sur les exons 7, 10, 15	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène MET sur l'exon 14	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène b-catéline sur l'exon 3	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire
Recherche de mutation du gène GNA sur les exons 4,5	tissus fixés + biopsies incluses en paraffine ou congelées	Biologie moléculaire	Séquençage		GEN MOLBM	Biologie moléculaire

### 3.8. Les actions supports pour le développement du système Qualité dans le LBMMS

La mise en place d'une démarche Qualité, en accord avec les textes officiels, en vue de l'accréditation COFRAC, n'est pas une tâche aisée tant les contraintes organisationnelles, techniques et temporelles sont importantes sur un laboratoire multi-sites de la taille du LBMMS des HCL. Cela représente un travail important et l'implication ainsi que l'adhésion du personnel sont essentielles.

En ce sens, des groupes de travail ont été mis en place au sein des HCL et permettent ainsi de fédérer autour d'un objectif commun qui est de tous aller dans le même sens.

De plus, les HCL ont décidé d'équiper leur LBMMS du logiciel **KALILAB**, dédié à la gestion de la Qualité, et qui permet de simplifier cette démarche d'accréditation. En parallèle, des formations à l'utilisation de KALILAB ont été organisées dans l'objectif d'optimiser l'emploi du logiciel par le personnel des HCL.

KALILAB, logiciel créé par le laboratoire **NETIKA**, représente le premier et l'unique logiciel certifié de Management de la Qualité [78]. En effet la certification *NF Logiciel* atteste la conformité et la Qualité de l'ensemble des fonctions du logiciel : c'est donc un logiciel reconnu par la profession. Cette certification est renouvelée chaque année par un audit des services de NETIKA.

Les fonctionnalités générales du logiciel KALILAB, utilisées aux HCL, sont présentées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Fonctionnalités du logiciel KALILAB

FONCTIONNALITE	DETAILS
<b>Navigation et gestion multi-sites à partir d'un même poste</b>	Standardisation et homogénéité du Système Qualité
<b>Gestion documentaire</b>	Gestion du cycle de vie des documents (rédaction, vérification, approbation, diffusion, modification, archivage)
	Différents classements simultanés des documents
	Consultation et recherche des documents par liens (services, matériels, localisations, mots clés, thèmes)
	Suivi centralisé des documents : attestations, lectures, historique, versions, étapes de validations, commentaires
<b>Gestion du matériel</b>	Fiches signalétiques contenant les données du matériel (données d'achat, fournisseur, fichiers joints)
	Planification et suivi des maintenances, des calibrations, des étalonnages, et de la métrologie
<b>Suivi des non-conformités</b>	Fiches de non-conformités informatisées (enregistrement, validation, clôture, recherche des causes, évaluation des impacts)
<b>Messagerie interne</b>	Diffusion instantanée de différentes informations avec accusé de lecture
<b>Gestion du personnel</b>	Gestion des dossiers du personnel ( coordonnées personnelles et professionnelles, fichiers joints, fiches de fonctions)
	Gestion des qualifications et des formations (évaluations, habilitations, et maîtrise des compétences)

Au travers de ses nombreuses fonctionnalités, KALILAB permet de simplifier l'ensemble des tâches inhérentes à la démarche Qualité au niveau des structures mono et multi-sites (comme c'est le cas aux HCL) [79][80].

Tout le personnel des différents sites du LBMMS des HCL possède un compte avec ses propres identifiant et mot de passe pour accéder au logiciel KALILAB, l'interface du logiciel étant personnalisable pour un confort et une simplicité d'utilisation.

De plus, tous les Référents Qualité de site, et pilotes de disciplines ont été formés à l'utilisation du logiciel KALILAB.

Au niveau du LBMMS une procédure générale a été rédigée en Septembre 2012 présentant les modalités d'utilisation de ce logiciel informatique et les consignes à respecter pour son paramétrage : **LBMMS KALILAB : Consignes pour le paramétrage** [81]. Cette procédure est accessible à toutes les personnes membre du LBMMS ayant des droits dans KALILAB. Elle décrit notamment la méthode harmonisée de paramétrage des locaux, du personnel, du matériel, des documents et des non-conformités.

De plus, suite à la fin de mon stage hospitalier, de nouvelles procédures générales ont été rédigées au niveau du LBMMS et décrivent certaines fonctionnalités de KALILAB plus en détail. C'est le cas par exemple des procédures : **Paramétrage des plans de formations KALILAB** [82] et **Instruction pour l'affectation des fonctions et des accès aux sites et services dans KALILAB** [83].

L'utilisation de cet outil informatique dans l'UF Biologie des tumeurs sera développée plus en détail dans la deuxième partie de ce manuscrit décrivant ma participation à la démarche Qualité de l'UF Biologie des tumeurs.

**DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL**

**PERSONNEL – PARTICIPATION A LA**

**DEMARCHE QUALITE DE L'UF BIOLOGIE**

**DES TUMEURS**

# 1. Présentation de l'UF biologie des tumeurs de l'hôpital Edouard Herriot

Le service d'anatomie et cytologie pathologiques est situé au niveau du groupement hospitalier Edouard Herriot à Lyon. Il réalise les activités suivantes : histopathologie, cytopathologie, immunohistochimie, tumorothèque et enfin **biologie moléculaire**.

L'**Unité Fonctionnelle (UF) Biologie des tumeurs** représente un laboratoire qui réalise essentiellement des analyses de biologie moléculaire. Il appartient au service d'anatomie et cytologie pathologiques, et à la plateforme de l'INCA de Lyon.

## 1.1. Profil de poste de l'étudiant en 5<sup>ème</sup> AHU, en 2012/2013

La cinquième année des études de pharmacie est une année hospitalo-universitaire (5-AHU). Pour ma part elle s'est déroulée pendant six mois à temps plein (d'octobre 2012 à mars 2013) au sein de l'UF Biologie des tumeurs du groupement hospitalier Edouard Herriot.

Les objectifs généraux du stage 5-AHU sont les suivants :

- Comprendre la prescription biologique et pharmaceutique, le suivi thérapeutique ainsi que la prévention du risque iatrogène ;
- Observer et comprendre tous les systèmes de vigilance ;
- Observer et comprendre les procédures d'assurance Qualité et d'accréditation à l'hôpital,
- Connaître le prescripteur, le malade, l'équipe hospitalière et le fonctionnement d'un établissement de soins ;
- Travailler en équipe pluridisciplinaire.

Concernant mon stage, l'objectif principal était de participer et d'apporter ma contribution à l'élaboration de la démarche Qualité de l'UF Biologie des tumeurs en vue de l'accréditation du LBMMS selon la norme *ISO 15 189*.

## **1.2. Le personnel**

Durant mon stage, le laboratoire central d'anatomie et cytologie pathologiques était dirigé par le Professeur Jean-Yves SCOAZEC. Le Docteur Valérie HERVIEU est depuis en charge de cette fonction.

Au sein de ce service, l'UF biologie des tumeurs est sous la responsabilité de trois biologistes :

- Docteur Pierre-Paul BRINGUIER ;
- Docteur Carole FERRARO-PEYRET ;
- Docteur Marie-Odile JOLY.

Mais l'UF biologie des tumeurs se compose aussi :

- De six techniciens de laboratoire ;
- D'un étudiant en 5<sup>ème</sup> année hospitalo-universitaire présent à temps plein six mois sur douze.

Enfin l'UF accueille tout au long de l'année des stagiaires de différentes formations, en particulier de techniciens de laboratoire (IUT, IFTAB), de Médecine ou de Pharmacie (Stage de Master 1), ou encore des internes en Médecine en anatomo-pathologie dans le cadre du Diplôme Universitaire (DU) de Biologie moléculaire.

### 1.3. Les activités

Le rôle des analyses de biologie moléculaire est représenté par la recherche d'altérations génétiques, dans l'objectif de préciser un diagnostic, de définir un pronostic, d'orienter des thérapeutiques innovantes ou encore de comprendre les causes d'une pathologie.

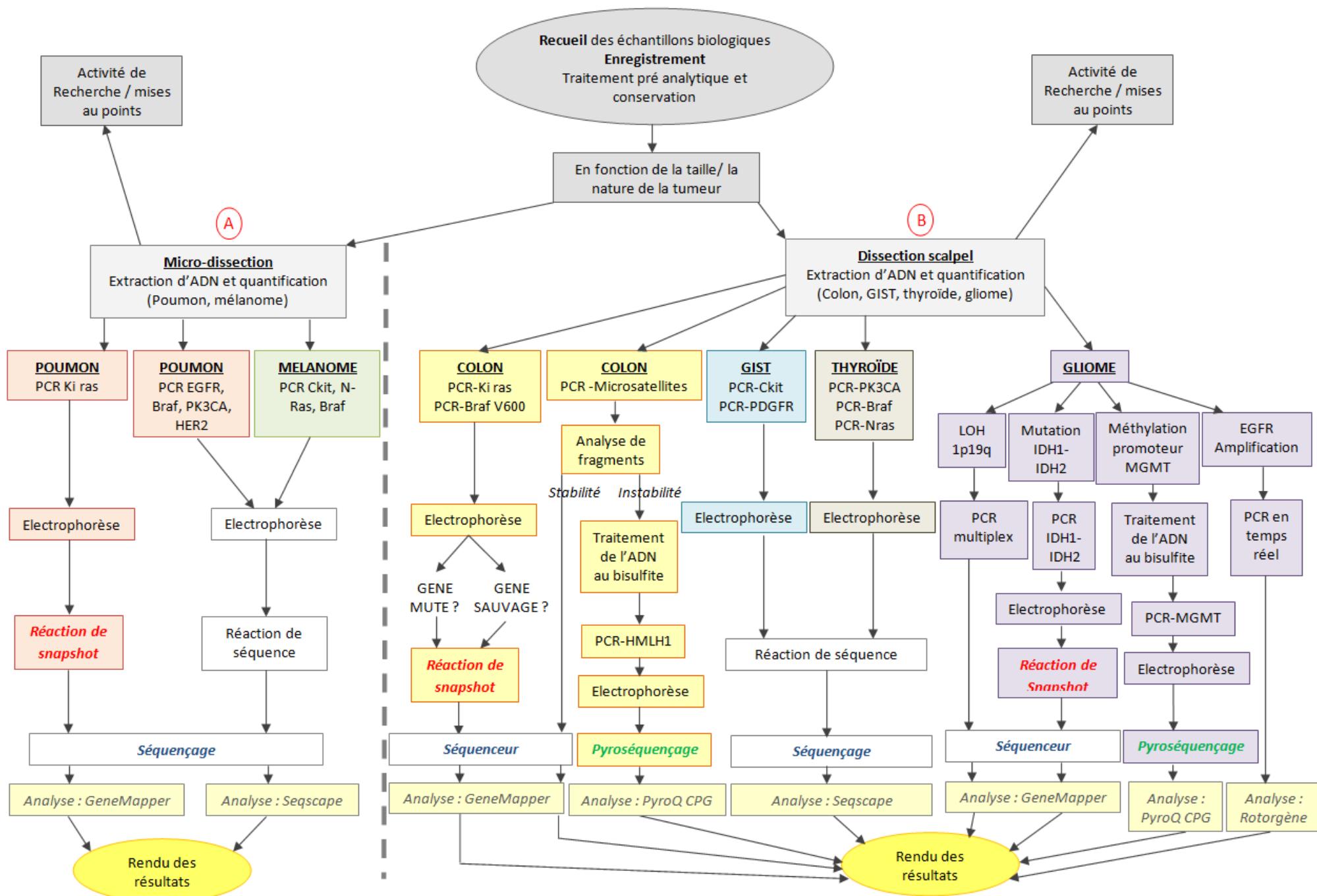
Les activités de l'UF Biologie des tumeurs sont réparties sur six postes d'activités distincts :

- Un poste enregistrement, coupe, extraction ;
- Un poste K-Ras, B-Raf, RER;
- Un poste gliome ;
- Un poste C-Kit ;
- Deux postes EGFR.

La figure 12 présentée page 98 représente une description générale de l'activité de l'UF Biologie des tumeurs, depuis la réception des prélèvements jusqu'au rendu des résultats au prescripteur.

J'ai élaboré cette figure au cours de mon stage car dès mon arrivée dans le service le 1<sup>er</sup> Octobre 2012, j'ai découvert la complexité des analyses de biologie moléculaire réalisées au quotidien. Il m'a fallu les comprendre et les assimiler afin d'effectuer mon stage dans des conditions optimales. Ainsi, il me paraissait plus aisé de représenter le **cheminement des analyses effectuées au laboratoire de la réception des prélèvements au rendu des résultats** sous forme schématique.

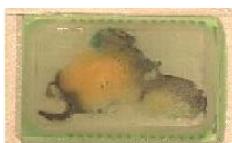
Ce document a depuis trouvé son utilité au sein de l'UF Biologie des tumeurs, en effet, il fait actuellement parti des documents mis à disposition du personnel, en particulier pour l'accueil des stagiaires ou de nouvelles recrues.



**Figure 12 : Cheminement des analyses de la réception des prélèvements au rendu des résultats**  
 (document inclus dans la « procédure d'organisation biologie des tumeurs »)

Comme le montre la figure 12 présentée page précédente, l'activité consiste dans un premier temps à **réceptionner** et **enregistrer** les prélèvements reçus, puis à traiter et conserver ces derniers avant la réalisation des analyses de biologie moléculaire proprement dites.

Notons que la particularité du laboratoire est la suivante : les prélèvements reçus correspondent à des tissus inclus et fixés en paraffine comme le montre l'exemple de la figure 13 ci-dessous :



**Figure 13 : Exemple de « bloc patient » inclus et fixé en paraffine**

Une étape de coupe et de déparaffinage du bloc est donc nécessaire et indispensable avant l'extraction d'ADN. Ainsi, le traitement de ce type de prélèvement diffère de celui d'un prélèvement sanguin et la réalisation des différentes analyses se trouve ainsi souvent plus longue.

La seconde étape correspond à l'**isolement du tissu tumoral**. En fonction de la taille et la nature de la tumeur, les échantillons peuvent être traités de deux façons différentes :

- A. Une **micro dissection** à l'aide d'un micro dissecteur laser est réalisée pour tout échantillon pour lequel la dissection manuelle (**macro dissection**) ne permet pas d'obtenir du matériel suffisamment riche en cellules tumorales. La micro dissection est systématique dans le cas du cancer du poumon et du mélanome.
- B. Une **macro dissection** au scalpel est effectuée pour la majorité des tumeurs du colon et de la thyroïde, pour un gliome et pour une GIST (Tumeur Stromale Gastro-Intestinale).

Après cette étape d'isolement du tissu tumoral, le tissu est digéré et l'**ADN est extrait**, puis différentes étapes analytiques se succèdent :

- Une **PCR** est systématiquement réalisée, elle permet d'amplifier l'ADN du patient au niveau d'une séquence d'ADN connue, c'est-à-dire de dupliquer en grand nombre cette séquence, à partir d'une faible quantité de tissu ;
- Une **électrophorèse** permet ensuite de vérifier que l'ADN a bien été amplifié au cours de la PCR ;
- Dans la majorité des cas un **séquençage** (précédé et suivi de purifications) est ensuite réalisé (par Snapshot ou Réaction de séquence), puis l'analyse au séquenceur est effectuée. D'autres techniques peuvent cependant être utilisées, à savoir une PCR en temps réel ou une analyse de fragments ;
- Enfin les données obtenues avec le séquenceur sont traitées avec le logiciel adéquat (Seqscape, GeneMapper, PyroQ CPG ou encore Rotorgène).

Une fois les différentes techniques de biologie moléculaire nécessaires à la mise en évidence des altérations moléculaires de l'ADN réalisées, les résultats sont interprétés par les biologistes, puis font l'objet d'un **compte rendu** à destination du clinicien.

Comme nous l'avons évoqué précédemment dans la partie **2.6.1. Présentation générale** de la partie bibliographique, la norme *ISO 15 189* est constituée de cinq parties dont les deux dernières sont les plus importantes en terme de contenu :

- **Partie 4 : Exigences relatives au management** ;
- **Partie 5 : Exigences techniques**.

Afin de répondre à certaines exigences de la norme *ISO 15 189*, plusieurs missions m'ont été confiées durant mon stage hospitalier. Ces missions étaient fonction des objectifs de l'UF Biologie des tumeurs pour mettre en place le SMQ. Elles se focalisent ainsi sur certains points de la norme *ISO 15 189* et peuvent être présentées en deux temps, le premier concernant les exigences relatives au management et le deuxième concernant les exigences techniques.

Le travail effectué est présenté et détaillé dans les pages suivantes. Les perspectives d'avenir ainsi que les notions restant à mettre en place en vue de l'obtention de l'accréditation du laboratoire sont aussi abordées en toute fin de manuscrit.

## 2. Travail réalisé pour répondre aux exigences relatives au management : Maîtrise des documents

Les exigences relatives au management correspondent au quatrième chapitre de la norme *ISO 15 189*. Concernant ma participation quant à ces exigences, j'ai plus spécifiquement travaillé au niveau du « Système de Management de la Qualité » et de la « Maîtrise des documents ». Ces deux derniers points évoquant tous deux la **gestion du système documentaire**.

### 2.1. Le système documentaire

La documentation Qualité est un élément essentiel à la communication, que ce soit dans le cas d'un laboratoire de biologie médicale comme dans toute autre entreprise.

Ce chapitre de la norme *ISO 15 189* porte sur les moyens développés par le laboratoire pour maîtriser sa documentation interne et externe. En effet, selon la norme *ISO 15 189*, la maîtrise des documents est indispensable, le laboratoire doit contrôler les documents requis par le Système de Management de la Qualité et veiller à éviter toute utilisation intempestive d'un document obsolète.

En effet la documentation du Système de Management de la Qualité doit comprendre les éléments suivants:

- Un **Manuel Qualité** détaillant notamment la politique Qualité et l'étendue du Système de Management de la Qualité ;
- Les **procédures** décrivant, si cela est nécessaire, tout ou une partie des processus présentés dans le Manuel Qualité ;

- les **instructions** et **modes opératoires** décrivant les méthodes de réalisation des activités ;
- Les **documents** et **enregistrements** nécessaires au laboratoire pour apporter la preuve des activités réalisées ou des résultats obtenus, ainsi que pour assurer la planification, le fonctionnement et la maîtrise efficace de ses processus ;
- Les copies des réglementations, normes en vigueur et autres documents normatifs.

Ainsi, le système documentaire peut se représenter sous forme pyramidale comme illustré sur la figure 14 ci-dessous :

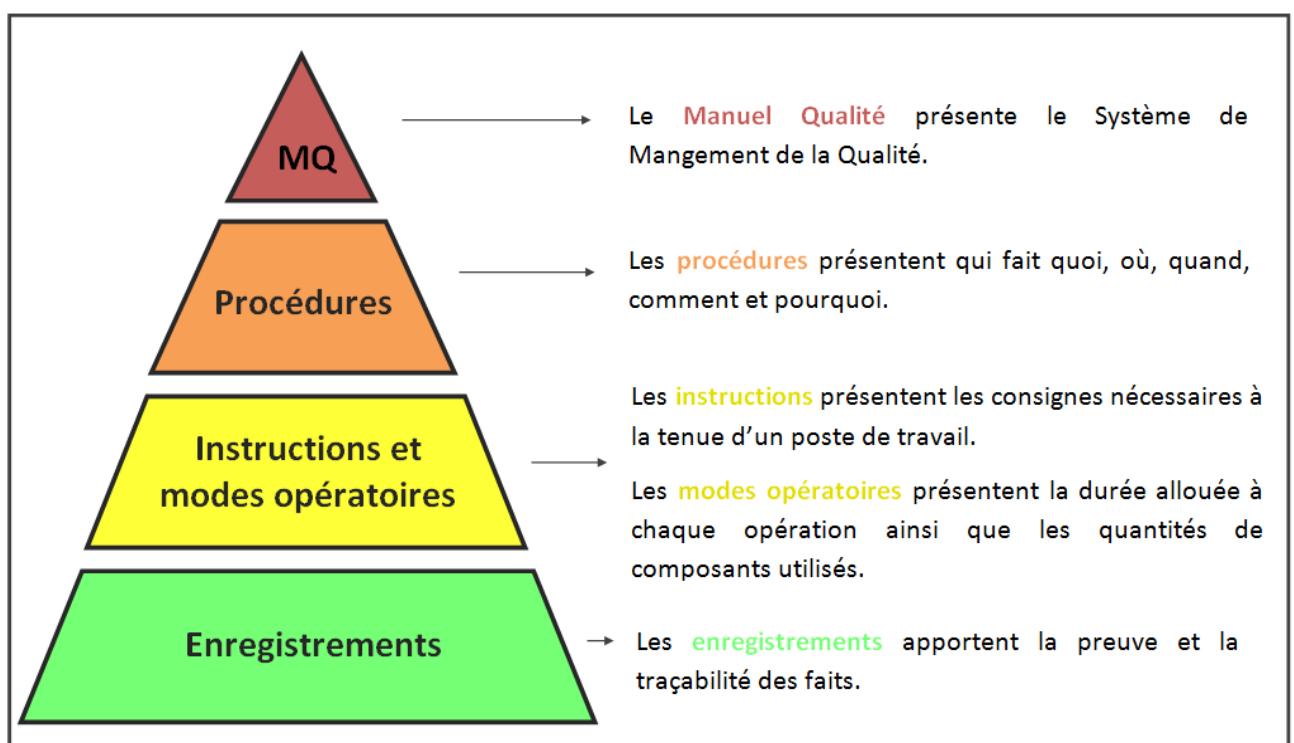


Figure 14 : Gestion pyramidale du système documentaire

Au niveau du LBMMS les différents types de documents existants sont définis et listés dans une procédure générale accessible à tous les membres du LBMMS, intitulée **Procédure de gestion documentaire** [84]. Les documents sont les suivants :

- Procédure Générale ;

- Mode opératoire technique ;
- Instruction de travail ;
- Document d'enregistrement ;
- Document interne ;
- Document externe.

Il est important de préciser qu'il existe différents niveaux dans les documents présents au sein du LBMMS. Ces niveaux sont détaillés ci-dessous.

Il existe tout d'abord des documents rédigés au niveau du LBMMS et valables pour tous les sites sans modification. C'est notamment le cas du Manuel Qualité, des procédures générales de gestion documentaire ou encore des procédures générales détaillant les modalités d'utilisation du logiciel informatique KALILAB.

Mais il existe aussi des documents généraux à décliner localement en fonction des besoins. Dans le cas de l'UF Biologie des tumeurs par exemple, il existe une procédure spécifique d'accueil des stagiaires et nouveaux arrivants avec une présentation globale des activités réalisées (*Figure 12 : Cheminement des analyses de la réception des prélèvements au rendu des résultats*), même s'il existe au niveau du LBMMS une procédure générale d'accueil des stagiaires.

Enfin il existe des documents spécifiques à chaque site du LBMMS, dans le cas l'UF Biologie des tumeurs il y a par exemple des fiches de synthèse par poste d'activité que j'ai créées durant mon stage hospitalier. Ces documents seront détaillés dans la partie **3.1.2. Création de fiches de synthèse par poste d'activité.**

## 2.2. Etat des lieux

Au sein de l'UF Biologie des tumeurs, différentes procédures Qualité, instructions et divers modes opératoires, concernant les analyses effectuées, étaient déjà créés et mis en application. En effet ces différents éléments du système documentaire ont été précédemment rédigés par des membres du personnel dans le cadre du GBEA.

Cependant des mises à jour régulières s'avèrent nécessaires compte tenu de l'évolution des techniques d'analyse ainsi que du matériel utilisé.

## 2.3. Mise à jour du système documentaire

Une des premières missions qui m'a été confiée dès mon arrivée a donc été de mettre à jour les différents documents de travail des différentes analyses : **instructions de travail** et **modes opératoires techniques**. Pour cela j'ai suivi au jour le jour le travail des techniciens et découvert les techniques de biologie moléculaire pratiquées (PCR, électrophorèse, séquençage, purifications, etc.).

Les **instructions de travail** ainsi que les **modes opératoires techniques** représentent des recommandations écrites, mises à disposition du personnel pour l'exécution des tâches. Ils sont rédigés afin de guider les actions des opérateurs dans le but d'assurer la Qualité et la fiabilité requise des tâches à exécuter. Dans la mesure où ils sont acceptés par le personnel, ils présentent un aspect sécurisant, garantissent la reproductibilité des tâches et harmonisent le savoir-faire du laboratoire.

J'ai donc, dans un premier temps, réécrit les **modes opératoires techniques** concernant des techniques qui avaient évolué, puis rédigé de nouveaux modes opératoires techniques mettant en œuvre des appareils installés récemment dans le laboratoire, et des techniques

plus innovantes (par exemple le dosage de l'ADN grâce à une méthode de fluorescence réalisé avec l'appareil *QUBIT 2.0*, utilisé pour la micro dissection).

Une mise à jour de la **procédure d'organisation** de l'UF Biologie des tumeurs a également été écrite. Ce document présente la liste détaillée des analyses effectuées par le laboratoire, des types d'échantillons biologiques analysés ainsi que des logigrammes décrivant de manière brève les étapes constituant chaque analyse. En effet le nombre et le type d'analyses sont en constante évolution, les cliniciens demandent donc de plus en plus d'analyses afin de parfaire leur diagnostic. Ce document nécessite alors des mises à jour dont la fréquence est rythmée par les besoins et les évolutions. Cette revue documentaire spécifique pour ce document diffère de la planification des revues documentaires définie au niveau du LBMMS. En effet, une procédure générale intitulée : **LBMMS - Planification des revues documentaires dans KALILAB** [85], rédigée en Juillet 2014, décrit comment doivent être actuellement gérées les revues des documents internes ou externes au LBMMS. Ainsi une revue systématique de tous les documents Qualité doit être faite au minimum tous les deux ans et annuellement pour la documentation technique.

Une liste de l'ensemble des documents créés ou modifiés, que ce soit des procédures, des modes opératoires ou instructions, est présentée dans le tableau 5, page 108. Cette liste ne fait pas figurer les procédures concernant la validation biologique, notion qui sera abordée dans la partie **3.3.3. La validation biologique**.

Une illustration de la première page d'un mode opératoire de l'UF Biologie des tumeurs que j'ai rédigé durant mon stage hospitalier ainsi qu'un exemple de plan d'un mode opératoire que j'ai créé sont présentés en **Annexe 2**. Cette dernière fait référence à la détection des mutations dans le cas des cancers pulmonaires.

Enfin, l'intégralité du mode opératoire technique intitulé « Comment effectuer la coupe, le déparaffinage et la coloration » est présentée en Annexe 3, ce document faisant aussi partie de ceux que j'ai créés.

Ces deux documents présentés en annexes 2 et 3 ayant été rédigés avant la création et la diffusion de la procédure générale du LBMMS, ils ne suivent pas le plan ainsi que le format exigés à présent. En effet la procédure en vigueur actuellement pour tous les documents du LBMMS s'intitule **Plan pour la rédaction des procédures, modes opératoires et instructions** [86].

Les documents que j'ai réalisés durant mon stage doivent donc évoluer afin de correspondre à ceux du LBMMS en terme de cadre de rédaction, de plan et de codage.

Tableau 5 : Liste des documents créés ou modifiés durant mon stage

	TITRE DU DOCUMENT	CRÉÉ/MODIFIÉ
1	Procédure d'organisation biologie des tumeurs	x
2	Comment effectuer l'enregistrement des analyses de biologie moléculaire	x
3	Comment effectuer la coupe, le déparaffinage et la coloration	x
4	Comment réaliser une extraction d'ADN	x
5	Comment réaliser une électrophorèse	x
6	Comment réaliser un séquençage	x
7	Comment réaliser un dosage d'acide nucléique sur le Nanodrop 1000	x
8	Comment réaliser le dosage d'ADN avec Qubit 2.0	x
9	Microdissection laser avec microdissecteur LMD 6000	x
10	Comment réaliser la détection des mutations dans les cancers pulmonaires	x
11	Comment réaliser la détection des mutations dans les tumeurs stromales	x
12	Comment réaliser la détection des mutations dans les mélanomes	x
13	Détection des mutations de l'exon 2 du gène Ki-Ras : comment réaliser une PCR des codons 12 et 13 du gène Ki-Ras	x
14	Détection des mutations de l'exon 2 du gène Ki-Ras : comment réaliser un mini-séquençage ou snapshot	x
15	Détection des mutations V600 du gène B-Raf : comment réaliser une PCR de l'exon 15 du gène B-Raf	x
16	Détection des mutations V600 du gène B-Raf : comment réaliser un mini-séquençage ou snapshot	x
17	Comment réaliser une amplification du gène EGFR	x
18	Comment effectuer le traitement des ADN au bisulfite	x
19	Comment effectuer une PCR en vue d'un pyroséquençage pour recherche de méthylation du promoteur MLH1 ou MGMT	x
20	Comment effectuer un pyroséquençage	x
21	Comment réaliser la recherche de mutation du gène IDH1-IDH2	x
22	Détection des mutations d'IDH1-IDH2 : comment réaliser un mini-séquençage ou snapshot	x
23	Comment effectuer la recherche de codélétion du gène LOH 1P19Q	x
24	Analyse d'une séquence sur le logiciel SEQSCAPE	x
25	Analyse d'une séquence sur le logiciel GENMAPPER	x

## 2.4. Le logiciel KALILAB dans la gestion documentaire

KALILAB est un logiciel dédié au Management de la Qualité. Au travers de ses nombreuses fonctionnalités, il permet de simplifier l'ensemble des tâches inhérentes à la démarche Qualité des HCL et notamment à la gestion documentaire, une des premières fonctionnalités de KALILAB retenue dès le départ par le LBMMS et l'UF Biologie des tumeurs.

En Décembre 2012, les documents Qualité nouvellement rédigés ou modifiés ont ainsi été enregistrés et répertoriés dans le logiciel KALILAB. Le matériel dédié à chaque technique ainsi que le personnel chargé de manipuler ont ensuite été associés au document correspondant.

Depuis la fin de mon stage en Mars 2013 une procédure a été rédigée au niveau du LBMMS décrivant les consignes de paramétrage des locaux, personnels et matériels dédiés à chaque document Qualité. Cette procédure s'intitule **Création d'un document dans KALILAB** [87]. En effet l'accès aux documents Qualité dans KALILAB est réglementé et défini en fonction du service ainsi que de la qualification et la fonction du personnel. Par exemple une notion de confidentialité peut être paramétrée dans KALILAB, le document concerné ne sera ainsi visible que par les personnes autorisées.

Lorsque toutes les informations indispensables ont été renseignées dans le logiciel par le réacteur, une vérification par une seconde personne, appelée vérificateur (biographe, cadre, technicien), a été réalisée à une date prévue, cela correspond à une première relecture du document. Puis une approbation, assimilée à une deuxième relecture, a été faite par une troisième personne appelée approbateur à une date prévue. Et enfin un Référent Qualité de site (RQS) appelé diffuseur sera chargé de diffuser le document sur le logiciel à une date prévue: après cette étape le document sera visible par toutes les personnes paramétrées

dans la liste des destinataires pour diffusion. Ces personnes peuvent ainsi lire le document et rédiger des commentaires afin de l'améliorer.

La gestion du cycle de vie des documents est réalisée grâce au logiciel KALILAB. Les missions de vérification, approbation et diffusion sont prévues et encadrées par le Référent Qualité de site (RQS) à une date précise, en effet il choisit un des membres du personnel pour chacune. Ainsi lorsqu'une personne se connecte à KALILAB, une alarme apparaît pour chaque tâche à réaliser. Cela permet de mettre en place un calendrier et de s'y tenir. Cette fonction n'a cependant pas encore été utilisée dans l'UF Biologie des tumeurs.

Une illustration de l'enregistrement dans KALILAB d'un document Qualité que j'ai rédigé durant mon stage est présentée en [Annexe 4](#). Les informations présentes dans cette dernière sont à mettre à jour suivant la procédure générale du LBMMMS **Création d'un document dans KALILAB** citée précédemment [87].

Prenons l'exemple du cancer du poumon : la réalisation des analyses suit le cheminement décrit sur la figure 12. Des modes opératoires ont donc été écrits et/ou mis à jour pour chacune des étapes de réalisation et enregistrés dans KALILAB. Les documents, dans l'ordre d'exécution, sont recensés dans le tableau 6 ci-dessous :

**Tableau 6 : Exemples de documents Qualité pour le cancer pulmonaire**

ÉTAPE		MODE OPÉRATOIRE	RÉFÉRENCE KALILAB
1	Réception/ enregistrement	<i>Comment effectuer l'enregistrement des analyses de biologie moléculaire</i>	PT-HA14-001-01 *
2	Coupe, déparaffinage et coloration	<i>Comment réaliser la coupe, le déparaffinage et la coloration</i>	<u>NOUVEAU</u> , à enregistrer
3	Microdissection	<i>Microdissection laser avec microdissecteur LMD 600</i>	MT-HA14-001-01 *
4	Dosage de l'ADN	<i>Comment réaliser le dosage d'ADN avec Qubit 2.0</i>	<u>NOUVEAU</u> , à enregistrer
5	PCR multiplex, électrophorèse, séquençage et lecture au séquenceur	<i>Comment réaliser la détection des mutations dans les cancers pulmonaires</i>	<u>NOUVEAU</u> , à enregistrer
6	Analyse des résultats	<i>Analyse d'une séquence sur le logiciel Seqscape</i>	MT-HA14-006-01 *

\* Les références KALILAB indiquées dans le tableau correspondent à un codage temporaire défini lors de mon stage hospitalier réalisé entre Octobre 2012 et Mars 2013. Ce codage est donc à mettre à jour selon les exigences formulées par le LBMMS dans le paragraphe « Principes d'identification des documents » de la **procédure de gestion documentaire** [84].

L'utilisation de l'outil informatique KALILAB dans le cadre de la gestion documentaire s'est faite progressivement au sein du LBMMS, ainsi qu'avec des niveaux d'avancement différents entre les sites composant le LBMMS. Ainsi, même si la gestion documentaire via le logiciel informatique KALILAB a représenté une charge supplémentaire au départ, cette fonctionnalité est rapidement devenue opérationnelle en présentant des avantages non négligeables comme un gain de temps dans la recherche de documents dans la base documentaire, et un gain de productivité qui en découle. Effectuer la gestion documentaire sous forme papier se serait avérée impossible de par la quantité de documents et de données générés quotidiennement.

Le LBMMS présentant la particularité d'être implanté sur différents sites, tous les documents doivent pouvoir être consultés par les membres du LBMMS ayant accès à KALILAB sur n'importe quel site. Un grand besoin de communication est indispensable entre les différents sites. Cela aurait été rigoureusement impossible sans l'outil informatique.

Concernant l'UF Biologie des tumeurs plus spécifiquement, elle a tout d'abord requis beaucoup de rigueur et de temps de ma part afin de remplir tous les champs définis dans l'outil KALILAB, et ainsi de saisir tous les éléments nécessaires pour chacun des documents.

Ce début d'enregistrement documentaire est prévu d'être poursuivi par l'ensemble des membres du personnel de l'UF.

### **3. Travail réalisé pour répondre aux exigences techniques**

Les **exigences techniques** correspondent au cinquième et dernier chapitre de la norme *ISO 15189* précédemment vue dans la section **2.6.1** de la partie bibliographique.

Ma participation quant à ces différentes exigences s'est concentrée sur certains points qui sont les suivants: le personnel, les locaux et les équipements ainsi que les processus pré-analytique, analytique et post-analytique.

#### **3.1. Le personnel**

Le personnel représente un élément central et indispensable dans le fonctionnement de l'UF Biologie des tumeurs, comme dans toute entreprise.

##### **3.1.1. Etat des lieux**

Au sein de l'UF Biologie des tumeurs, des éléments nécessaires à la bonne gestion du personnel avaient été mis en place avant mon arrivée, par les membres du personnel. Il existait en particulier :

- Des **fiches de poste** décrivant les missions et activités qui incombent au salarié dans le laboratoire, ceci en tenant compte de sa situation fonctionnelle, son positionnement hiérarchique et ses responsabilités ;
- Des **fiches d'habilitation du personnel** étaient également mises en place, elles permettent de différencier plusieurs niveaux de compétence, et sont validées, datées et signées par le tuteur et le biologiste responsable du laboratoire.

Mais la création de nouveaux documents s'est avérée utile et nécessaire en vue d'améliorer le fonctionnement du laboratoire.

### 3.1.2. Création de fiches de synthèse par poste d'activité

Ces fiches de synthèse sont des documents permettant de résumer de manière schématique et synthétique les activités à réaliser pour un poste en particulier.

La création de fiches de poste a été réalisée pour les postes suivants:

- **Poste K-Ras, B-Raf** ;
- **Poste C-Kit**.

Face à la complexité des tâches à réaliser ainsi qu'à la multiplicité des étapes de chacune des analyses, des documents annexes aux procédures ont été créés. Ceci a été réalisé dans l'objectif de mieux organiser la journée des techniciens et d'optimiser le temps de réalisation des analyses. En effet les fiches de synthèse par poste d'activité permettent aux techniciens de repérer rapidement les éléments clés de chacun de ces deux postes.

Ainsi ces documents ont trouvé leur utilité au sein de l'UF et sont actuellement utilisés par les techniciens lors des rotations de poste, mais aussi pour faciliter l'apprentissage de nouveaux arrivants à un poste, ou encore pour présenter plus en détail les activités de chaque poste lors de l'accueil des stagiaires.

Un exemplaire de chacune de ces deux fiches de synthèse pour le poste **K-Ras, B-Raf** et le poste **C-Kit** est présenté respectivement sur les figures 15 et 16 ci-après.

Recherche des mutations au niveau des codons 12 et 13 de l'exon 2 du gène **Ki-Ras** pour savoir si on met en place un traitement.  
 Si mutation Ki-Ras → on ne peut pas traiter  
 Si mutation Ki-Ras → on ne fait pas B-Raf car ne sera pas muté

Recherche de la mutation V600E au niveau de l'exon 15 du gène **B-Raf**

### 1. PCR KI-RAS (exon 2 codons 12 et 13)

Réactifs :

- Taq polymérase
- Tampon
- MgCl<sub>2</sub> indispensable pour la Taq
- Nucléotides
- Oligonucléotides : amores sens et anti-sens
- PNA
- Enzyme UK-UNG
- ADN
- Eau stérile

2PCR :

- 1 **sans PNA** pour voir si l'ADN est de bonne qualité et si l'amplification est correcte
- 1 **avec PNA** pour différencier brin d'ADN sauvage/muté

La **PNA** est une amorce flanquée qui va s'hybrider avant les amores (hybridation à 70°C) : elle va amplifier les séquences mutées.  
 → Si le brin est sauvage, PNA va s'accrocher donc pas d'amplification du brin d'ADN  
 → si le brin est muté, amplification

### 2. Electrophorèse puis révélation aux UV

Permet de voir les résultats de la PCR sur un gel d'Agarose à 2%.

Pour les tubes AVEC PNA : si **absence** de bande on **s'arrête**, si **présence** de bande on **continue** car la PNA n'a pas gêné les amores. La PNA n'a pas pu se fixer à cause de la **mutation**.

### 1. PCR B-RAF (exon 15 mutation V600E)

Réactifs :

- Taq polymérase
- Tampon
- MgCl<sub>2</sub> indispensable pour la Taq
- Nucléotides
- Oligonucléotides : amores sens et anti-sens
- Enzyme UK-UNG
- ADN
- Eau stérile

1 seule PCR normale **PAS DE PNA**

### 2. Electrophorèse puis révélation aux UV

Permet de voir les résultats de la PCR sur un gel d'Agarose à 2%.

### 3. Purification = étape pré snapshot

Permet d'éliminer les réactifs de la PCR et les nucléotides par digestion enzymatique avec EXOSTAR (exonucléase).

### 4. Réaction de SNAPSHOT Mini-séquençage

Mix de snapshot = mix SNP multiplex secret (contenant des didéoxynucléotides marqués ddNTP qui modifient la migration) + mix amores du codon 12 (GGT) et du codon 13 (GGC)

### 4. Réaction de SNAPSHOT Mini-séquençage

Mix de snapshot = mix SNP multiplex secret (contenant des didéoxynucléotides marqués ddNTP qui modifient la migration) + mix amores sens et anti-sens

### 5. Purification = étape post snapshot

Permet d'éliminer les ddNTP\* (marqués)

### 6. Lecture au séquenceur : électrophorèse capillaire

Avant de lancer les différents run (8 patients par run) : préparer les barrettes de micro-tubes avec:

- 6µl de formamide (dénaturant)
- 2µl de standard interne dilué 120LIZ (marqueur de taille)
- 2µl d'échantillon SNP dilué au 1/4

### 7. Analyse des résultats avec GeneMapper

Pour voir si le patient est muté, et pour savoir où se trouve la mutation (sur l'amorce du codon 12 ou du codon 13) il existe un code couleur sur le logiciel **GeneMapper**. La mutation ne peut se situer que sur un des deux G, pas sur la 3<sup>ème</sup> base, et on ne peut avoir qu'une seule mutation par codon.

Bleu : G

Vert : A

Rouge : T

Noir : C

Codon 12: GGT

AGT	G12 S	}
CGT	G12 R	
TGT	G12 C	

Mutation du 1<sup>er</sup> G

GCT	G12 A	}
GAT	G12 D	
GTT	G12 V	

Mutation du 2<sup>ème</sup> GCodon 13: GGC

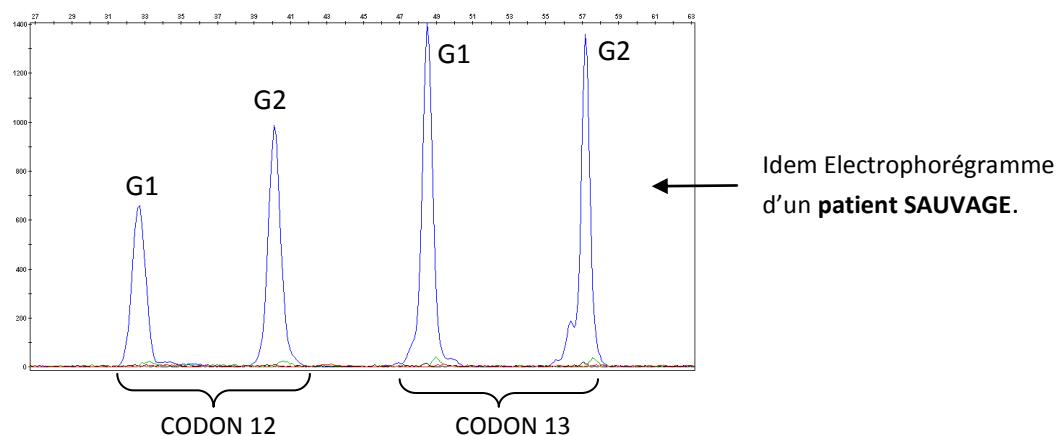
AGC	G13 S	}
CGC	G13 R	
TGC	G13 C	

Mutation du 1<sup>er</sup> G

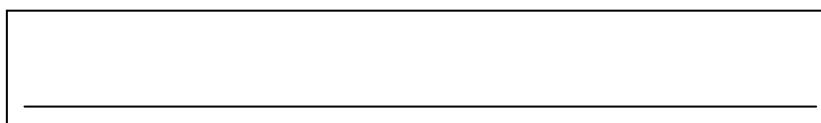
GAC	G13 D	}
GCC	G13 A	
GTC	G13 V	

Mutation du 2<sup>ème</sup> G

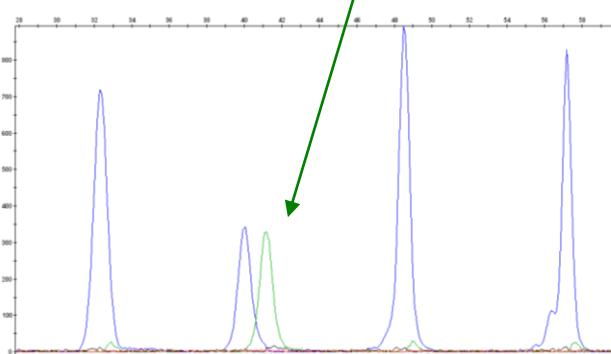
- ❖ C<sub>0</sub> → 4 pics car 4 amores fluorescentes utilisées pendant le SNAPSHOT



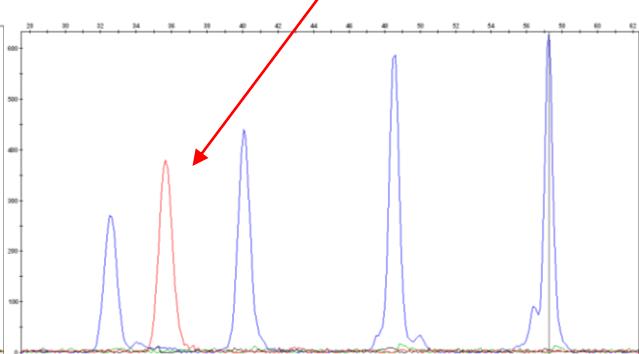
- ❖ T<sub>0</sub> → aucun pic donc pas de contamination



- ❖ Patient muté en G12D : GAT  
(Mutation au 2<sup>ème</sup> G de l'amorce)

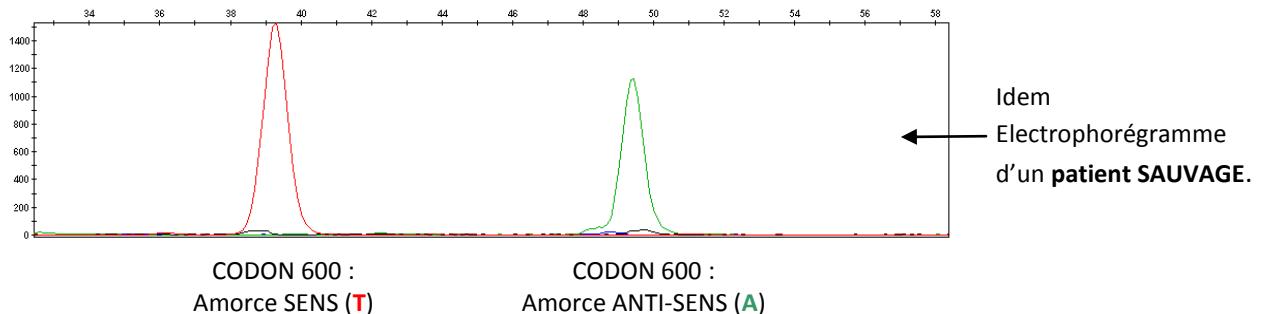


- Patient muté en G12C : TGT  
(Mutation au 1<sup>er</sup> G de l'amorce)



- Codon 600 : **GTG** (acide aminé correspondant : **VALINE**)
- La recherche de mutation s'effectue sur le **T**.

- ❖  $C_0 \rightarrow 2$  pics car 2 amores fluorescences utilisées pendant le SNAPSHOT (*amorce SENS* et *amorce ANTI-SENS*).



- ❖ Patient muté par la **mutation V600E** : inversion des pics (**codon GAG** correspondant à l'acide aminé **ACIDE GLUTAMIQUE**. Le profil muté se superpose au profil sauvage) :

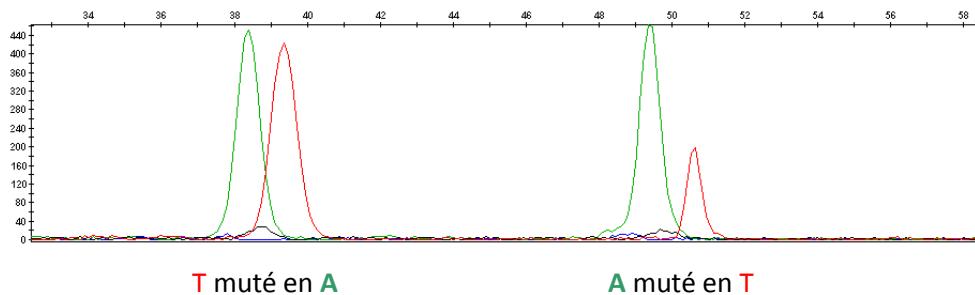


Figure 15 : Fiche de synthèse du poste Ki-Ras, B-Raf

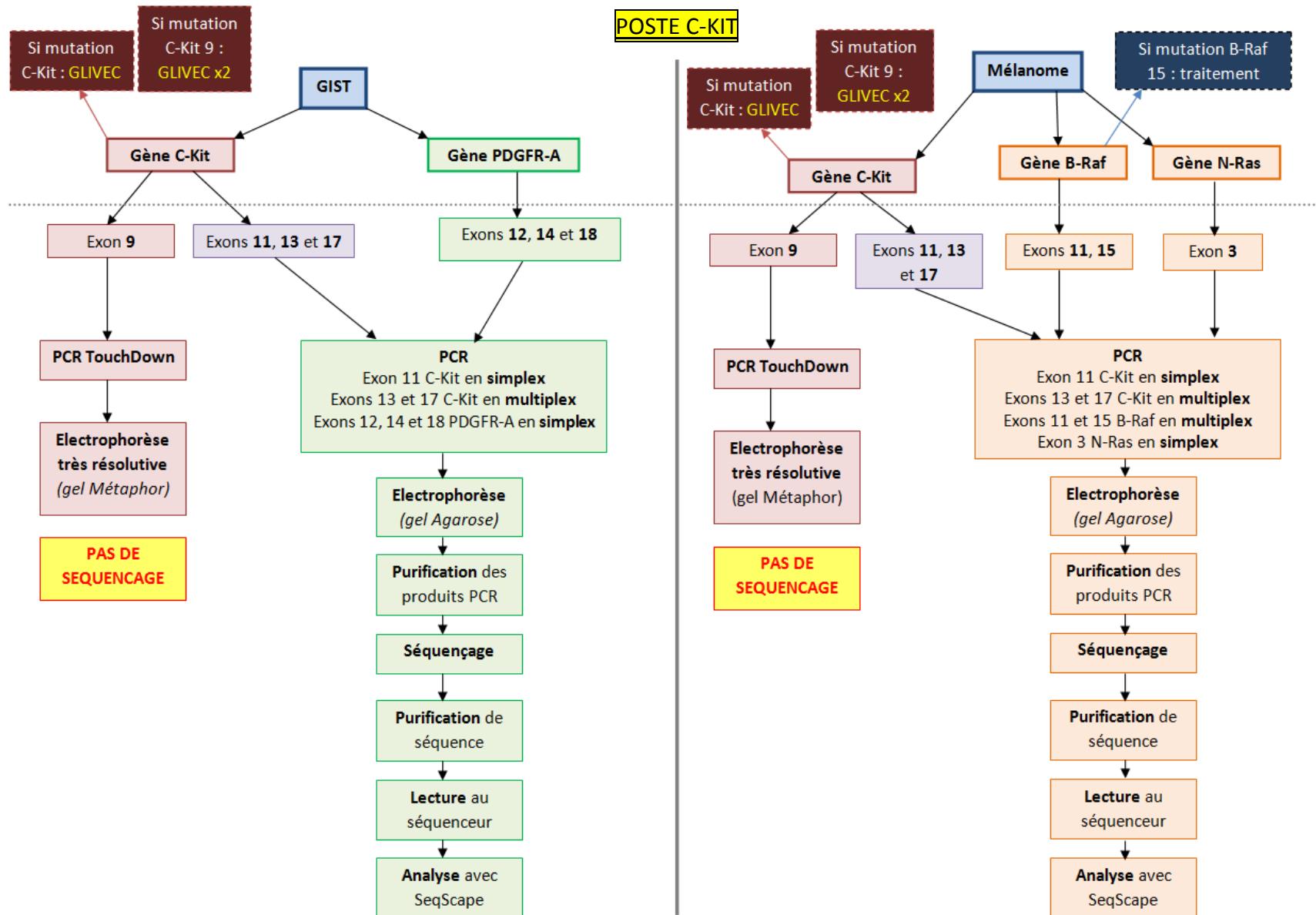


Figure 16 : Fiche de synthèse du poste C-Kit

## **3.2. Matériaux de laboratoire, réactifs et consommables**

Ce chapitre de la norme porte sur les exigences relatives au matériel de laboratoire que sont les équipements biomédicaux et leurs réactifs, l'ensemble des consommables, les matériaux de référence et les systèmes d'information du laboratoire. Il porte également sur la maintenance des appareils qui la nécessitent.

### **3.2.1. Etat des lieux**

À mon arrivée dans l'UF Biologie des tumeurs, le matériel n'était pas répertorié de façon exhaustive par le service de gestion du matériel biomédical, car de nombreux équipements ont été achetés sur différents crédits ou étaient parfois très anciens.

L'identification de chacun des équipements s'est avérée indispensable afin de permettre le suivi de leur durée de vie, de leur maintenance, de leur entretien, mais aussi le suivi des appareils défectueux et de la localisation de certains appareils.

En effet, la localisation du matériel est très importante dans le cas d'un laboratoire de biologie moléculaire car certains équipements doivent rester impérativement dans un secteur donné, afin d'éviter toute contamination des échantillons. C'est le cas notamment pour les pipettes de prélèvement qui doivent obligatoirement rester dans la salle pré-PCR ou la salle post-PCR. En ce sens, l'identification des pipettes était absolument nécessaire afin que ce soit visible par les techniciens et ainsi que les pipettes ne passent pas d'un secteur à l'autre du laboratoire : il a donc été ajouté sur l'ensemble des pipettes leur identification ainsi que leur localisation, « pré-PCR » ou « post-PCR » par exemple.

Les équipements de l'UF dont l'identification ainsi que l'étiquetage devaient être réalisés en priorité sont listés dans le tableau 7 ci-après. En effet ces matériels se déplaçant facilement, il fallait que leur secteur d'appartenance soit facilement repérable par les techniciens les manipulant quotidiennement.

**Tableau 7 : Liste des équipements de l'UF Biologie des tumeurs dont l'identification et l'étiquetage devaient être réalisés en priorité**

TYPE DE MATÉRIEL	NOMBRE
Pipette	54
Centrifugeuse	2
Vortex	7
Thermocycleur	8
Mini-centrifugeuse	5
Balance	1
Plaque agitatrice	4
Spectrophotomètre Qubit 2.0	1
Spectrophotomètre NanoDrop 1000	1
Cuve à électrophorèse	5

En plus des équipements détaillés dans le tableau 7 ci-dessus, j'ai également répertorié et enregistré dans KALILAB les agitateurs magnétiques, les congélateurs, les réfrigérateurs, les combinés réfrigérateurs/freezers et réfrigérateurs/congélateurs, les étuves, les hottes, le microdissecteur, les micro-ondes, le microscope, la plaque chauffante, la plaque refroidissante, le pyroséquenceur, et le portoir à agitation constante.

En effet, l'identification et la liste de la totalité du matériel de laboratoire ont bien été réalisées, ceci dans le but de l'enregistrer dans KALILAB et ainsi d'optimiser la traçabilité du matériel dans le laboratoire (la notion de traçabilité sera abordée ultérieurement dans la partie **3.3.1. La traçabilité**).

### **3.2.2. Le logiciel KALILAB dans la gestion du matériel de laboratoire**

Suite à l'identification de tout le matériel de l'UF, il a ensuite fallu les intégrer au logiciel KALILAB. Cela a été réalisé en collaboration avec les techniciens du laboratoire, dans le but de les impliquer dans la démarche d'accréditation, dont l'enregistrement du matériel de laboratoire représente une étape essentielle. L'aide apportée par Mme G. Gentil-Perret, technicienne membre du Groupement Hospitalier Est Virologie, concernant la méthode de saisie des informations dans le logiciel, a été d'une grande utilité.

Les informations à remplir pour chaque matériel concernent son type (qui est à sélectionner dans le menu déroulant de KALILAB, par exemple « Thermocycleur »), sa désignation, ses éléments d'indentification (référence, marque, numéro de série, matériel critique, date...), les coordonnées du fournisseur et les données d'achat. Ces informations n'étant pas toujours disponibles à cause de l'ancienneté de certains matériels, la fiche signalétique n'est alors pas remplie en totalité. La localisation du matériel représente aussi une donnée essentielle comme nous l'avons précisé précédemment, c'est donc une donnée à indiquer dans la fiche signalétique de KALILAB. Cependant dans le cas spécifique de l'UF Biologie des tumeurs, la définition des locaux n'étant pas encore réalisée dans le logiciel, il s'est avéré impossible de renseigner l'onglet « Localisation ». Une solution temporaire a été choisie durant mon stage. Elle consiste à indiquer dans l'onglet « Caractéristiques techniques - Environnement particulier » Pré-PCR ou Post-PCR par exemple, afin de tout de même le préciser.

De plus les informations utiles au suivi et à la maintenance sont renseignées. En effet l'enregistrement du matériel dans KALILAB présente un intérêt important en ce qui concerne le suivi de la maintenance, le planning de maintenance de l'ensemble des appareils pouvant

être géré électroniquement. A la date prévoyant une maintenance ou une calibration d'une pipette par exemple, une alarme avertira le membre du personnel chargé de cette opération. Ceci permet de fixer un calendrier et de le respecter.

Une copie d'écran du logiciel KALILAB est présentée en [Annexe 5](#) et permet d'illustrer l'enregistrement des informations concernant le matériel dans KALILAB.

Tout comme pour la gestion documentaire, l'utilisation de l'outil informatique KALILAB pour la gestion du matériel représentait au départ une charge supplémentaire très importante pour les membres du personnel. C'est pourquoi ma contribution à l'entrée des données nécessaires à chaque matériel a permis d'alléger cette première étape et de voir les avantages de cette fonctionnalité apparaître.

### 3.3. Processus pré-analytique, analytique et post-analytique

Comme détaillé dans les parties **2.2. Examen de biologie médicale** et **2.6.8. Processus majeurs**, les processus pré-analytique, analytique et post-analytique représentent les processus majeurs et correspondent aux trois phases de l'examen de biologie médicale. Tout au long de ces différentes phases la traçabilité est une notion indispensable.

#### 3.3.1. La traçabilité

La traçabilité est une exigence réglementaire à appréhender efficacement afin d'optimiser le fonctionnement et les performances du laboratoire. Le système de traçabilité doit donc être un outil indispensable pour identifier les failles ainsi que pour obtenir rapidement les causes d'un quelconque dysfonctionnement.

Selon la norme *ISO 9000*, la traçabilité représente « **l'aptitude à retrouver l'historique, la mise en œuvre ou l'emplacement de ce qui est examiné** » [3].

En effet la traçabilité est une notion essentielle pour retrouver une erreur et/ou analyser les causes pour en éviter la répétition, mais aussi essentielle en vue de l'accréditation. Lorsqu'une erreur est détectée on regarde l'impact sur le résultat et grâce à la traçabilité on est à même de voir tous les patients touchés.

Dans le cas de l'UF Biologie des tumeurs, grâce à la traçabilité nous devons être capables à tout moment de retrouver rapidement pour chaque prélèvement reçu, le patient concerné, la (les) activité(s) réalisée(s) sur l'échantillon, les techniciens concernés, ainsi que les réactifs et matériels utilisés.

De plus cette notion de traçabilité n'existe pas dans l'UF Biologie des tumeurs avant l'année 2011. En effet, elle a été introduite lors d'une sensibilisation du personnel réalisée cette année-là, cela dans l'objectif de les faire réfléchir quant aux améliorations à apporter au fonctionnement de l'UF en terme de traçabilité. C'est pourquoi, nous avons décidé d'effectuer cette première évaluation de la traçabilité au sein de l'UF durant mon stage, afin de voir si les mesures mises en place précédemment étaient bien appliquées afin d'assurer la traçabilité.

### **3.3.2. Tests de traçabilité**

Pour évaluer la traçabilité au sein du laboratoire trois dossiers, sélectionnés au hasard, ont été examinés :

- Un patient atteint d'un adénocarcinome pulmonaire ;
- Un patient atteint d'un glioblastome ;
- Un patient atteint d'un adénocarcinome du sigmoïde.

Le dossier-patient en main (comportant la demande initiale ainsi que le compte rendu des résultats), le but était de retrouver toutes les informations concernant chaque étape de la/les analyse(s) effectuée(s). Les étapes étant les suivantes :

- **La réception de l'échantillon** : la date doit être inscrite sur la demande initiale ainsi que sur le logiciel de traitement des demandes du laboratoire d'anatomopathologie (DIAMIC) ;
- **L'enregistrement de la demande** : la date doit aussi être inscrite ainsi que le nom du technicien ayant réalisé cette étape ;

- **La coupe du bloc** : la date, le nom du technicien et les numéros de blocs dans l'ordre de coupe doivent figurer sur le cahier de coupe ;
- **La micro ou macro dissection** : La date, le nom du technicien ainsi que le tampon utilisé doivent être inscrits dans le cahier de microdissection ou dans le classeur d'extraction. De plus lorsqu'un avis de biologiste ou médecin anatomopathologiste est donné il doit aussi être consigné ;
- **L'extraction** : la date, le nom du technicien et le kit d'extraction utilisé doivent être notés dans le classeur d'extraction ;
- **Les techniques** : la date de validation ainsi que le nom du technicien doivent apparaître pour chaque technique sur DIAMIC. De plus le numéro de lot des réactifs utilisés et l'identification du thermocycleur ainsi que du séquenceur utilisés doivent figurer sur les feuilles de travail correspondant aux différentes techniques ;
- **La validation** : la date doit être inscrite sur le logiciel DIAMIC ;
- **Le rendu des résultats** : la date ainsi que le nom du biologiste ayant validé les résultats doivent être inscrits sur le compte rendu à destination du clinicien ayant prescrit la ou les analyses.

Le tableau 8 présenté ci-après, résume les résultats et les problématiques soulevées lors de ces tests de traçabilité. En effet, quelques manquements aux éléments indispensables à la traçabilité ont été observés : par exemple le tampon utilisé lors de l'étape d'extraction de l'ADN n'était pas consigné pour les trois patients ; les références des thermocycleurs, les numéros de lots des réactifs, et le nom du séquenceur utilisés n'étaient pas indiqués dans la fiche prévue à cet effet.

Tableau 8 : Récapitulatif des résultats des tests de traçabilité

		Patient COLON			Patient GLIOME			Patient EGFR			
Recherche		Info trouvée ?	Remarques ?	Où ?	Info trouvée ?	Remarques ?	Où ?	Info trouvée ?	Remarques	Où ?	
1. Informations patient	Nom, prénom, âge	Oui		CR	Oui		CR	Oui		CR	
	Numéro HE	Oui		CR	Oui		CR	Oui		CR	
	Numéro bio mol	Oui		CR	Oui		CR	Oui		CR	
2. Réception	Date	Oui		Diamic	Oui	2 dates différentes	Courrier de demande et Diamic	Oui		Diamic	
3. Enregistrement	Date	Oui		Diamic	Oui		Diamic	Oui		Diamic	
	Technicien	Oui		Diamic	Oui		Diamic	Oui		Diamic	
4. Coupe	Date	Oui		Cahier de coupe	Oui		Cahier de coupe	Oui		Cahier de coupe	
	Technicien	Oui			Oui			Oui			
5. Microdissection et Macro dissection	Date						Oui			Classeur micro dissection	
	Technicien						Oui				
	Tampon						Oui				
Avis biologiste ou anapath	Non	absent		Non	absent		Non	absent			
6. Extraction	Date	Oui		Classeur extraction	Oui		Classeur extraction	Oui		Classeur extraction	
	Technicien	Oui			Oui			Oui	2 personnes différentes		
	Tampon	Non			Non			Non			
7. Techniques	Validée oui/non + date		Oui		Oui		Oui sauf une				
	Technicien qui valide		Oui		Oui		Oui				
	Date de réalisation		Oui		Oui		Oui				
	Technicien qui manipule		Oui		Oui		Oui				
	Réactifs		?		Mentionné 1 fois		Oui				
	Thermocycleur		?		Mentionné 1 fois		Oui				
	Séquenceur		?		?		Oui				
8. Validation	Date	Oui		Oui		Oui					
9. Rendu des résultats	Date	Oui		CR	Oui		CR	Oui		CR	
	Biologiste	Oui			Oui			Oui			
10. Commentaires		→ Pour l'extraction il manque le tampon utilisé → Pour la dissection au scalpel il manque l'avis du biologiste ou anapath. → Pour les techniques il manque le numéro du thermocycleur, le numéro de lot des réactifs utilisés et le nom du séquenceur				→ Pour la réception attention dates différentes → Pour l'extraction il manque le tampon utilisé → Pour la dissection au scalpel il manque l'avis du biologiste ou anapath. → Pour les techniques il manque le numéro du thermocycleur, le numéro de lot des réactifs utilisés et le nom du séquenceur				→ Pour la microdissection si un biologiste ou un anapath donne son avis il n'est pas noté → Une technique n'est pas validée	

Une réunion avec l'ensemble des techniciens a clôturé ces tests de traçabilité. L'objectif de cette intervention était tout d'abord de sensibiliser à nouveau les techniciens à cette notion de traçabilité, encore relativement nouvelle pour eux, mais aussi de créer des outils pour améliorer la traçabilité dans le laboratoire.

Durant la réunion j'ai donc restitué les résultats des trois tests aux techniciens de l'UF, patient par patient. Cela a ainsi permis d'observer ensemble les manquements, d'en tirer les conclusions avec eux et donc d'améliorer la méthode de travail et d'éviter la répétition des oubliés détectés pendant les tests.

Au terme de cette réunion des fiches de suivi ont notamment été créées, et les fiches de travail existantes ont, quant à elles, été modifiées et donc perfectionnées. Cela a été réalisé dans l'objectif final d'optimiser au maximum la traçabilité dans le laboratoire, la traçabilité représentant un élément indispensable et essentiel de la norme *ISO 15 189*.

### 3.3.3. La validation biologique

La validation des résultats de biologie médicale est double. Elle comporte à la fois une validation analytique (ou technique), qui peut être réalisée par le personnel d'exécution (le technicien) sous la responsabilité du biologiste, ainsi qu'une validation biologique qui est de la compétence exclusive du biologiste médical selon l'article *L6211-18 du Code de la Santé Publique* [88].

La validation biologique fait partie des exigences majeures de la norme *ISO 15 189* dans le cadre de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. Cette validation biologique a lieu pendant la phase post-analytique de l'examen de biologie médicale. Elle permet de s'assurer qu'un résultat a été obtenu dans des conditions techniques satisfaisantes.

La validation biologique correspond plus précisément au contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats des examens d'un même dossier, à la lumière éventuelle des résultats antérieurs, de l'état clinique du patient et des traitements qu'il reçoit. Elle intervient après la validation technique (c'est-à-dire la validation réalisée par les techniciens). Autrement dit la validation biologique correspond à la dernière étape de processus de réalisation du laboratoire de biologie médicale, l'ultime contrôle des résultats avant leur communication au clinicien. Par cette opération de validation, le biologiste médical atteste de la réalisation des différents examens dans les règles de l'art et engage sa responsabilité professionnelle sur leur validité.

Une illustration du cheminement de l'analyse depuis sa réalisation jusqu'à la communication du résultat au clinicien est présentée sur la figure 17. Ce graphique simple a été présenté aux techniciens lors d'une réunion interne à l'UF Biologie des tumeurs, afin d'expliquer l'importance de la validation technique, en amont de la validation biologique.

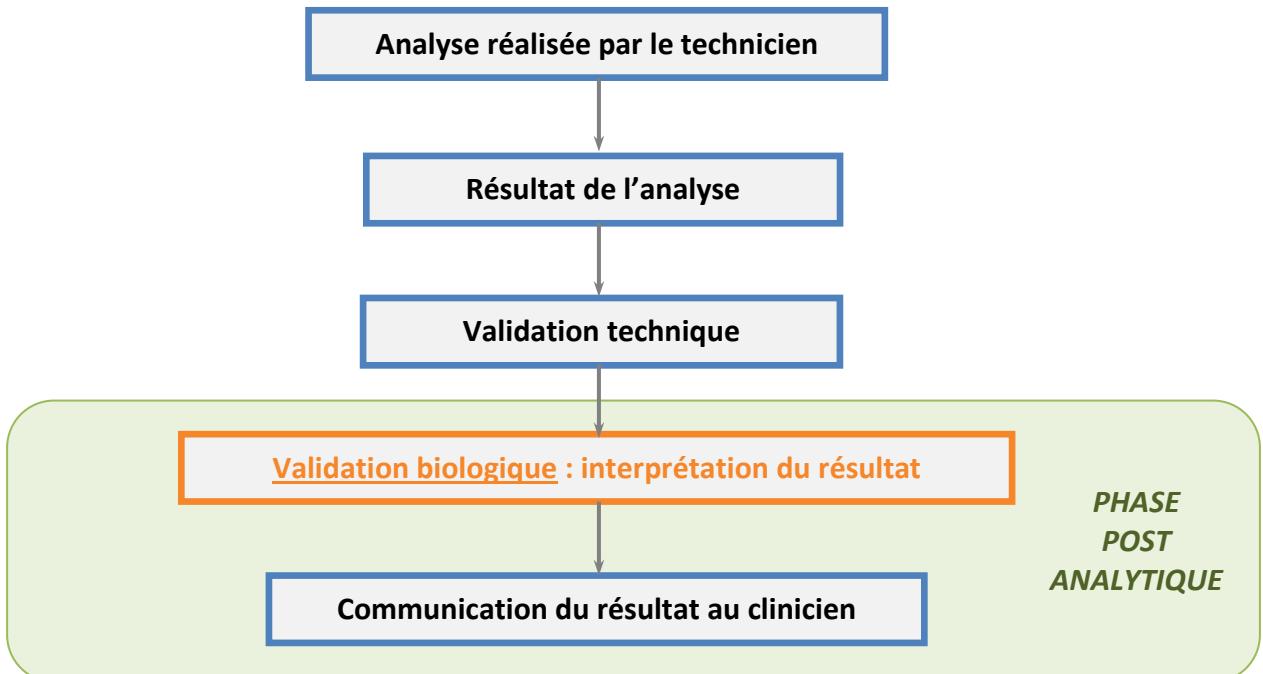


Figure 17 : La validation biologique

### 3.3.4. Création et mise en application de procédures de validation biologique

Dans le cas de l'UF Biologie des tumeurs, la validation biologique est assurée par les trois biologistes médicaux. Il a donc été nécessaire de rédiger des procédures décrivant de manière détaillée les étapes pour chacune des techniques réalisées. En effet lorsqu'un des biologistes est absent du laboratoire, ses dossiers ne peuvent pas rester en suspens et ses résultats doivent tout de même être validés et communiqués au clinicien, ceci par les deux autres biologistes. Ainsi ces procédures sont indispensables à la reproductibilité du rendu des résultats, de quelque analyse que ce soit.

Ces procédures, tout comme les autres procédures d'instructions précédentes, sont rédigées selon une trame spécifique et sont enregistrées dans le logiciel KALILAB afin d'être mises à disposition de l'ensemble des biologistes concernés. La trame des procédures de validation biologique est présentée page suivante:

## **1. Objets et finalités**

Le premier paragraphe présente brièvement l'objet de la procédure et définit la nature du résultat de l'analyse : qualitative ou quantitative. Par exemple, pour un résultat d'analyse de nature qualitative, le biologiste médical inscrira sur le compte rendu :

- Soit présence de la mutation ;
- Soit absence de mutation ;
- Soit impossibilité de réaliser l'analyse car l'ADN est de mauvaise qualité : non interprétable.

## **2. Critères analytiques de validation**

Le second paragraphe de la procédure présente dans un premier temps la liste des critères de validation technique vérifiés auparavant par les techniciens. Les étapes de la validation biologique sont détaillées dans un second temps. Ainsi le biologiste vérifie à nouveau les points de la validation technique et interprète les résultats de l'analyse.

## **3. Interprétation biologique et critères d'alerte**

La présence de la mutation peut conditionner le diagnostic et la prescription ou non d'un traitement particulier ou peut être un facteur de bon ou mauvais pronostic.

## **4. Communication des résultats**

Les résultats sont saisis à l'aide d'un logiciel informatique DIAMIC, ils sont ensuite validés, puis imprimés et transmis par courrier ou par voie électronique au laboratoire demandeur de l'analyse. La validation du résultat dans le logiciel informatique DIAMIC permet sa visualisation dans CRISTALNET pour l'ensemble des laboratoires des HCL.

La liste des procédures de validation biologique réalisées est présentée dans le tableau 9 ci-dessous :

**Tableau 9 : Liste des procédures de validation biologique**

	<b>TITRE DE LA PROCEDURE DE VALIDATION BIOLOGIQUE</b>
<b>1</b>	<b>Validation biologique</b> : Analyses réalisées par la méthode utilisant le Snapshot – Recherche des mutations des codons 12 et 13 du gène <u>K-Ras</u>
<b>2</b>	<b>Validation biologique</b> : Analyses réalisées par la méthode utilisant le Snapshot – Recherche des mutations V600E de l'exon 15 du gène <u>B-Raf</u>
<b>3</b>	<b>Validation biologique</b> : recherche de l'amplification du gène du récepteur de l' <u>EGF</u> ( <u>EGF-R</u> ) par PCR en temps réel.

A mon départ du laboratoire il restait des analyses de biologie moléculaire pour lesquelles les procédures de validation biologique n'étaient pas décrites. La rédaction de ces procédures restantes devra donc être réalisée par les biologistes, ainsi que l'intégration de l'ensemble des procédures de validation biologique dans le logiciel KALILAB, tout en respectant la codification et les masques de saisie définis par le LBMMS.

## 4. Perspectives et discussion

Les exigences de la norme *ISO 15 189*, telles que détaillées dans la partie **2.6. Les points clés de la norme ISO 15 189** de la partie bibliographique, sont nombreuses. Elles sont résumées dans le tableau 10. Ce tableau a été réalisé à l'aide de la norme *ISO 15 189* ainsi que du questionnaire d'auto-évaluation édité par le COFRAC (SH FORM 03 [59]).

Le tableau permet d'exposer les éléments de la norme relevant du LBMMS et donc du Système de Management de la Qualité unique défini dans la Manuel Qualité [72]. En effet nous avons vu tout au long de ce manuscrit qu'il existe des éléments à mettre en place de manière globale et harmonisée, cela relève donc du LBMMS. C'est le cas en particulier pour tout ce qui est relatif à la définition de la Politique Qualité globale avec notamment la rédaction du Manuel Qualité, au service externe, à la gestion de l'entretien ou encore aux relations avec les fournisseurs. Ces différents éléments ne sont pas du ressort de chaque laboratoire spécifiquement, mais ils doivent au contraire être mis en place de façon générale et commune à tous. Ces notions sont présentées dans la colonne « LBMMS » du tableau.

Le tableau permet aussi de mettre en évidence les éléments de la norme réalisés au sein de l'UF Biologie des tumeurs, c'est-à-dire mis en application avant mon arrivée ou mis en place durant mon stage, ainsi que les éléments restant à prévoir afin de respecter la totalité des exigences.

Concernant les différents éléments mis en place pendant mon stage, ces derniers correspondent en majorité aux objectifs qui m'étaient fixés à mon arrivée dans l'UF Biologie des tumeurs, à savoir la mise à jour du système documentaire avec l'enregistrement des documents dans KALILAB, mais aussi l'étiquetage du matériel de laboratoire et l'enregistrement dans KALILAB, les tests de traçabilité, ou encore la rédaction de procédures

de validation biologique. Toutefois, la création du document présenté sur la **figure 12**, ainsi que des Fiches de synthèse pour les postes K-Ras/B-Raf et C-Kit présentés sur les **figures 15** et **16** respectivement, ne faisait pas partie des objectifs initiaux de mon stage. La rédaction de ces documents provient de mon initiative personnelle afin de mieux comprendre les analyses effectuées au sein de l'UF et d'en avoir une vue d'ensemble. Ces documents sont actuellement totalement intégrés aux documents de l'UF et régulièrement utilisés par les biologistes et techniciens.

Certaines notions ont été mises en place au niveau du LBMMS sans être encore adaptées dans tous les différents services, et dans l'UF Biologie des tumeurs en particulier : la gestion des non-conformités, des réclamations et des actions d'amélioration ; la gestion de la communication interne ; ou encore la gestion des revues documentaires font notamment parties des éléments à décliner dans l'UF Biologie des tumeurs. L'objectif final est de tendre vers une homogénéisation parfaite entre les sites et les services composant le LBMMS, au terme du processus d'accréditation.

Ainsi à mon départ de l'UF, de nouveaux objectifs ont été fixés pour l'année 2013 concernant les éléments de la norme non mis en place jusqu'à présent mais pourtant indispensables. Ces éléments sont matérialisés dans le tableau 10 par la couleur rouge. C'est notamment le cas de la définition de l'organisation du laboratoire, de la gestion des non-conformités ou encore de la mise en place d'indicateurs. Ces notions sont considérées comme prioritaires car elles représentent la base de la démarche Qualité et sont donc indispensables à la mise en application des autres notions de la norme.

La procédure en cas de non-conformités représente en effet un point clé de la norme *ISO 15189* dans un objectif d'amélioration continue. Cet élément permet notamment de mettre en place des actions correctives et préventives lorsque les non-conformités touchent les phases

pré analytique, analytique ou post analytique de l'examen de biologie médicale, ainsi que l'organisation du laboratoire. Cela pouvant donc induire un doute concernant la conformité du laboratoire avec ses propres procédures. C'est pourquoi la maîtrise des non-conformités, via le logiciel informatique KALILAB, doit notamment être mise en place en priorité au sein de l'UF Biologie des tumeurs.

L'organigramme fait lui aussi partie des éléments prioritaires, il représente la structure hiérarchique ainsi que la répartition des responsabilités au sein de l'UF. Il est indispensable car il permet tout d'abord au personnel de se situer, de savoir « qui fait quoi » et « qui dépend de qui » c'est donc un moyen de communication interne. Il permet aussi à la direction de l'UF d'analyser et détecter d'éventuels dysfonctionnements, et enfin il permet aux usagers et partenaires extérieurs de connaître les différents services et ainsi de s'adresser au plus approprié, c'est donc un moyen de communication externe.

Enfin la mise en place d'indicateurs permettant le suivi et l'analyse du fonctionnement du laboratoire et ainsi d'en dégager, dès que cela s'avère nécessaire, des actions d'amélioration, a été effectuée au niveau du LBMMS : des revues de direction, revues de processus, audits internes et externes, enquêtes de satisfaction et analyses des résultats représentent les éléments permettant de surveiller et améliorer efficacement les performances du LBMMS.

Par contre au niveau de l'UF Biologie des tumeurs cela n'a pas encore été mis en place, or des indicateurs pertinents permettraient de surveiller le bon fonctionnement de l'UF, évaluer systématiquement la Qualité des prestations ou encore mesurer l'atteinte des objectifs fixés au sein de l'UF. La mise en place d'indicateurs matérialisés par des outils simples, représente donc un élément indispensable et prioritaire en vue de l'accréditation.

Tableau 10 : Liste récapitulative d'éléments de la norme ISO 15 189 mis en place par l'UF Biologie des tumeurs (selon SH FORM 03 du COFRAC [59]) - Etat des lieux au 31 Mars 2013

ÉLÉMENTS NÉCESSAIRES À LA NORME ISO 15 189	LBMMS		UF	
	Réalisés	À prévoir	Réalisés	À prévoir
<b>ORGANISATION DU LABORATOIRE</b>				
Organigramme	x			x
Responsable Qualité	x			x
Processus de communication interne	x			x
<b>SYSTÈME DE MANAGEMENT DE LA QUALITÉ</b>				
Politique Qualité	x			x
Maîtrise du système documentaire	x		x	
<b>NON CONFORMITÉS</b>				
Procédure en cas de non-conformités	x			x
Actions correctives et préventives	x			x
<b>SERVICE EXTERNE</b>				
Politique de sélection et d'achat de services/fournitures		x		x
Contrôle et vérification pour l'acceptation des fournitures		x		x
Inventaire des fournitures		x		x
<b>PERSONNEL - LOCAUX - MATÉRIEL</b>				
Fiches de poste et d'habilitation du personnel	x		x	
Formation du personnel, évaluation de la compétence et qualification du personnel	x		x	
Définition de chaque local et des conditions d'entretien des installations	x			x
Qualification du matériel	x			x
Surveillance, maintenance, étalonnage du matériel	x			x
Instructions sur la gestion des matériels défectueux	x			x
Validation/protection du système informatique	x			x
<b>QUALITÉ DES PROCÉDURES ANALYTIQUES</b>				
Contrôles internes (CIQ) et externes de Qualité (EEQ)	x		x	x
Identification des incertitudes et points critiques				x
Équipements critiques	x		x	
<b>PROCESSUS MAJEURS</b>				
Dispositions pour le transport, la réception, la conservation et le stockage	x		x	
Procédures analytiques, protocoles fournisseurs	x			x
Validation et vérification des méthodes	x			x
Revue périodique des instructions et méthodes analytiques	x			x
Revue systématique des résultats	x		x	
Stockage des échantillons	x		x	
<b>COMPTE RENDU DES RÉSULTATS</b>				
Méthode de transmission des résultats	x		x	
Traçabilité de validation des CR	x		x	
Délais d'obtention des résultats	x		x	
Procédures sur la diffusion des résultats	x			x

 Notion à mettre en place prioritairement

La démarche d'accréditation, matérialisée par la mise en place de l'ensemble des exigences de la norme *ISO 15 189*, représente une charge supplémentaire pour les membres du LBMMS quelle qu'en soit leur fonction : technicien, cadre ou biologiste. En effet, la mise en place du système Qualité demande beaucoup de temps et d'énergie afin de former le personnel et le sensibiliser régulièrement aux notions essentielles de la norme *ISO 15 189*. De plus la surveillance et l'écueil des résultats des différentes mesures mises en place pour répondre aux exigences ne sont pas immédiats et prennent donc aussi du temps. Or toutes ces activités ne comprennent la réalisation quotidienne des analyses de biologie médicale, qui elles, représentent le domaine prioritaire d'activités des membres du LBMMS.

C'est pourquoi l'adhésion du personnel au projet d'accréditation est une notion essentielle et indispensable selon moi. Ainsi, durant mon stage hospitalier j'ai tenté d'impliquer les techniciens de l'UF Biologie des tumeurs au maximum dans mes activités concernant l'accréditation, notamment lors de l'enregistrement du matériel dans le logiciel informatique KALILAB ainsi que lors de la réalisation des tests de traçabilité. L'objectif de ma démarche était de leur faire prendre conscience des aspects favorables de la démarche d'accréditation. Par exemple le perfectionnement de la justesse et de la fiabilité des résultats obtenus et ainsi l'amélioration du service rendu au patient font parties des éléments perçus par le personnel de manière très positive et bénéfique puisqu'ils correspondent à la finalité de leur travail au quotidien.

Enfin ma contribution à la démarche d'accréditation au sein de l'UF Biologie des tumeurs et plus globalement du LBMMS m'a permis d'enrichir mes connaissances en découvrant le milieu hospitalier. Ces six mois de stage m'ont donné l'opportunité d'élargir ma formation après mes diverses expériences en pharmacie d'officine, et avant ma spécialisation dans le

secteur de l'industrie pharmaceutique, et plus particulièrement dans les affaires réglementaires.

De plus, dans l'industrie pharmaceutique la Qualité du médicament, la Qualité du service médical rendu ainsi que le patient sont au cœur des priorités, comme c'est le cas à l'hôpital. Ainsi, le fait d'avoir participé, à l'échelle des compétences d'une stagiaire de cinquième année de Pharmacie, à la mise en place d'éléments répondant aux exigences de la norme *ISO 15189*, m'a permis de découvrir concrètement le domaine de la Qualité, d'en comprendre les mécanismes et ainsi de pouvoir aborder mon insertion professionnelle au sein de l'industrie pharmaceutique avec des connaissances supplémentaires et d'une grande utilité.

# **CONCLUSION**

## CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR : **Mlle Charlotte ANTONY**

La loi « Hôpital, Patients, Santé et Territoires » du 21 juillet 2009, puis l'ordonnance du 10 janvier 2010 et enfin la loi du 30 mai 2013 imposent aux laboratoires de Biologie Médicale, qu'ils soient du secteur public ou privé, d'être accrédités selon la norme *ISO 15 189*. Cette accréditation, délivrée par le Comité Français d'Accréditation, ou COFRAC, permet de garantir une Qualité « tracée et prouvée » des examens de Biologie Médicale. Au 1<sup>er</sup> novembre 2020, si les laboratoires n'ont pas accrédité la totalité de leurs examens de Biologie Médicale, ils ne pourront pas poursuivre leurs activités.

Après avoir défini les notions de Qualité et d'accréditation, une description de l'évolution de la Qualité au cours de ces vingt dernières années, depuis l'apparition du Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) jusqu'à la mise en pratique de la norme *ISO 15 189*, est alors présentée. L'organisation du système Qualité au sein des Hospices Civils de Lyon (HCL), grâce à la création du Laboratoire de Biologie Médicale Multi-sites (LBMMS), est ensuite exposée. En effet, la démarche Qualité représente un challenge pour les HCL, de par la multiplicité de ses sites et de ses disciplines. Une harmonisation entre les différents sites est nécessaire tout en prenant en compte les particularités de chaque discipline ou service.

Au cours de mon stage de cinquième année hospitalo-universitaire, du 1<sup>er</sup> octobre 2012 au 31 mars 2013, j'ai pu participer à la démarche Qualité de l'Unité Fonctionnelle (UF) Biologie des Tumeurs. Cette UF appartient au service d'anatomie et de cytologie pathologiques, situé actuellement au sein de l'Hôpital Edouard Herriot. Plusieurs types d'analyses de Biologie

Moléculaire y sont réalisés afin de rechercher diverses anomalies génétiques présentes dans les tumeurs. Différentes missions m'ont alors été confiées, à savoir la mise à jour du système documentaire, l'utilisation du système informatique de gestion de la Qualité KALILAB, l'amélioration de la traçabilité que ce soit pour les phases pré-analytique, analytique ou post-analytique, et enfin la mise en place de nouvelles procédures, instructions, mode opératoire ou fiches de postes. Ce travail m'a tout d'abord permis de découvrir le fonctionnement et les spécificités d'un laboratoire réalisant des analyses de biologie moléculaire. De plus il m'a également permis de mettre en perspective les exigences de la norme *ISO 15 189*, leurs déclinaisons au sein du LBMMS et le début de leur mise en œuvre sur un de ses sites.

De nombreuses exigences de la norme *ISO 15 189* doivent être encore installées pour permettre l'accréditation de l'UF Biologie des Tumeurs. *In fine*, en mars 2013, ce travail a permis d'établir un état des lieux des écarts entre ce qui a déjà été réalisé et ce qui est exigé par la norme *ISO 15 189*, mais aussi de proposer les prochaines mesures à mettre en place pour poursuivre la démarche vers l'accréditation.

**Le Président de la thèse,**

Nom : Carole FERRARO-PEYRET

Signature :

Vu et permis d'imprimer, Lyon, le

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**

## **ANNEXES**

Annexe 1 : Pays signataires des accords de reconnaissance de l'ILAC (Mutual Recognition Arrangement).

***Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement***

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
1	Organismo Argentino de Acreditacion (OAA)	Argentina	1	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	11 Aug 2005 11 Aug 2005 26 Oct 2013
2	National Association of Testing Authorities, Australia (NATA)	Australia	2	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
3	Joint Accreditation System of Australia and New Zealand (JAS-ANZ)	Australia/New Zealand	2	Inspection ISO/IEC 17020	07 Nov 2012
4	Akkreditierung Austria	Austria	3	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	22 Sept 2002 22 Sept 2002 24 Oct 2012
5	<sup>(e) (p)</sup> Belgian Accreditation Structure (BELAC)	Belgium	4	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	01 Aug 2006 01 Aug 2006 29 Mar 2013
6	Institute for Accreditation of Bosnia and Herzegovina (BATA)	Bosnia and Herzegovina	5	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	21 Nov 2012 21 Nov 2012 21 Nov 2012
7	<sup>(t)</sup> Coordenação Geral de Acreditação General Coordination for Accreditation (CGCRE)	Brazil	6	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 27 Feb 2013
8	<sup>(t)</sup> Canadian Association for Laboratory Accreditation Inc. (CALA)	Canada	7	Testing ISO/IEC 17025	17 Nov 2005
9	Quality Management Program – Laboratory Services (QMP-LS)	Canada	7	Testing ISO 15189	05 Dec 2012
10	Standards Council of Canada (SCC)	Canada	7	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	02 Nov 2000 02 Nov 2000
11	Instituto Nacional de Normalización (INN)	Chile	8	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	08 Oct 2010 08 Oct 2010
12	<sup>(b) (o)</sup> China National Accreditation Service for Conformity Assessment (CNAS)	People's Republic of China	9	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012

**Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement**

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
13	Hong Kong Accreditation Service (HKAS)	China, Hong Kong	10	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
14	Ente Costarricense de Acreditación (ECA)	Costa Rica	11	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	16 Jan 2007 22 Mar 2010 24 Oct 2012
15	Croatian Accreditation Agency (HAA)	Croatia	12	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	29 Apr 2010 29 Apr 2010 24 Oct 2012
16	National Accreditation Body of Republica de Cuba (ONARC)	Cuba	13	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	17 Sept 2005 17 Sept 2005
17	Cyprus Organisation for the Promotion of Quality (CYS) Cyprus Accreditation Body (CYSAB)	Cyprus	14	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Inspection ISO/IEC 17020	18 Oct 2011 27 Feb 2013
18	Czech Accreditation Institute (CAI)	Czech Republic	15	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
19	Danish Accreditation (DANAK)	Denmark	16	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
20	Organismo De Acreditacion Ecuatoriano (OAE)	Ecuador	17	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	03 Dec 2011 03 Dec 2011 24 Oct 2012
21	<sup>(x)</sup> Egyptian Accreditation Council (EGAC)	Egypt	18	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	10 Oct 2009 10 Oct 2009
22	<sup>(x)</sup> Finnish Accreditation Service (FINAS)	Finland	19	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
23	Comite Francais d'Accreditation (COFRAC)	France	20	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012

**Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement**

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
24	<sup>(w)</sup> Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DakkS)	Germany	21	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
25	<sup>(i)</sup> Hellenic Accreditation System S.A. (ESYD)	Greece	22	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	22 May 2004 22 May 2004 30 Nov 2012
26	Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA)	Guatemala	23	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	26 June 2008 14 Mar 2012 02 Apr 2013
27	Hungarian Accreditation Board (NAT)	Hungary	24	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	28 Apr 2010 28 Apr 2010 24 Oct 2012
28	National Accreditation Board for Testing and Calibration Laboratories (NABL)	India	25	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	02 Nov 2000 02 Nov 2000
29	National Accreditation Board for Certification Bodies (NABCB)	India	25	Inspection ISO/IEC 17020	16 Sept 2013
30	National Accreditation Body of Indonesia (KAN)	Indonesia	26	Testing ISO/IEC 17025 Testing ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	20 June 2001 14 Mar 2013 30 Dec 2003 24 Oct 2012
31	<sup>(h)</sup> Irish National Accreditation Board (INAB)	Ireland	27	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
32	Israel Laboratory Accreditation Authority (ISRAC)	Israel	28	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	03 Nov 2001 03 Nov 2001 24 Oct 2012
33	<sup>(i)</sup> L'Ente Italiano di Accreditamento (ACCREDIA)	Italy	29	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 07 Oct 2010 07 Nov 2012
34	Jamaica National Agency for Accreditation (JANAAC)	Jamaica	30	Testing ISO/IEC 17025	31 Aug 2013

**Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement**

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
35	(a) International Accreditation Japan (IAJapan)	Japan	31	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	02 Nov 2000 02 Nov 2000
36	Japan Accreditation Board (JAB)	Japan	31	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 28 July 2003 24 Oct 2012
37	Voluntary EMC Laboratory Accreditation Center INC (VLAC)	Japan	31	Testing ISO/IEC 17025	16 Jan 2007
38	National Centre of Accreditation (NCA)	Kazakhstan	32	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	27 Oct 2010 27 Oct 2010
39	Korea Laboratory Accreditation Scheme (KOLAS)	Republic of Korea	33	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	02 Nov 2000 20 June 2001
40	The Kyrgyz Center of Accreditation (KCA)	The Kyrgyz Republic	34	Testing ISO/IEC 17025	23 Oct 2013
41	Office Luxembourgeois d'Accréditation et de Surveillance (OLAS)	Luxembourg	35	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	14 Apr 2011 19 Apr 2012 24 Oct 2012
42	Department of Standards Malaysia (Standards Malaysia)	Malaysia	36	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	16 Jan 2003 19 Nov 2003
43	entidad mexicana de acreditación a.c. (ema)	Mexico	37	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	17 Nov 2005 17 Nov 2005 24 Oct 2012
44	Mongolian Agency for Standardization and Metrology, Accreditation Department (MNAS)	Mongolia	38	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	07 June 2012 07 June 2012
45	Dutch Accreditation Council (RvA)	The Netherlands	39	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
46	International Accreditation New Zealand (IANZ)	New Zealand	40	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012

**Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement**

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
47	<sup>(1)</sup> Norsk Akkreditering (NA)	Norway	41	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
48	Pakistan National Accreditation Council (PNAC)	Pakistan	42	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	21 May 2009 21 May 2009
49	Papua New Guinea Laboratory Accreditation Scheme (PNGLAS)	Papua New Guinea	43	Testing ISO/IEC 17025	12 May 2010
50	Organismo Nacional de Acreditacion (ONA)	Paraguay	44	Testing ISO/IEC 17025	27 April 2012
51	National Institute for the Defense of Competition and Protection of Intellectual Property - National Accreditation Service (INDECOPI-SNA)	Peru	45	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	15 April 2013
52	<sup>(4)</sup> Philippine Accreditation Office (PAO)	Philippines	46	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	17 Nov 2005 17 Nov 2005
53	Polish Centre for Accreditation (PCA)	Poland	47	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	19 Jan 2005 19 Jan 2005 24 Oct 2012
54	Instituto Portugues de Acreditacao (IPAC)	Portugal	48	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	10 May 2006 10 May 2006 24 Oct 2012
55	Romanian Accreditation Association (RENAR)	Romania	49	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	22 May 2004 28 May 2009 28 Nov 2013
56	Association of Analytical Centers "Analitica" (AAC "Analitica")	Russian Federation	50	Testing ISO/IEC 17025	21 May 2009
57	Accreditation Body of Serbia (ATS)	Serbia	51	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	24 May 2012 24 May 2012 24 Oct 2012
58	Singapore Accreditation Council (SAC)	Singapore	52	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012

**Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement**

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
59	Slovak National Accreditation Service (SNAS)	Slovakia	53	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	11 June 2001 11 June 2001 24 Oct 2012
60	Slovenian Accreditation (SA)	Slovenia	54	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	28 Nov 2003 28 Nov 2003 24 Oct 2012
61	South African National Accreditation System (SANAS)	South Africa	55	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
62	Entidad Nacional de Acreditacion (ENAC)	Spain	56	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
63	Sri Lanka Accreditation Board for Conformity Assessment (SLAB)	Sri Lanka	57	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	09 Dec 2009 08 June 2012
64	Swedish Board for Accreditation and Conformity Assessment (SWEDAC)	Sweden	58	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
65	Swiss Accreditation Services (SAS)	Switzerland	59	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	02 Nov 2000 02 Nov 2000
66	<sup>(d)</sup> Taiwan Accreditation Foundation (TAF)	Chinese Taipei	60	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
67	Bureau of Laboratory Accreditation, Department of Science Service, Ministry of Science and Technology (BLA-DSS)	Thailand	61	Testing ISO/IEC 17025	23 Aug 2006
68	<sup>(m)</sup> The Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand (BLQS-DMSc)	Thailand	61	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189	04 April 2003
69	<sup>(i) (t)</sup> National Standardization Council of Thailand – Office of the National Accreditation Council (NSC – ONAC)	Thailand	61	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	03 Nov 2001 03 Nov 2001 24 Oct 2012

**Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement**

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
70	The Accreditation Institute of the former Yugoslav Republic of Macedonia (IARM)	The former Yugoslav Republic of Macedonia	62	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	19 Apr 2012 19 Apr 2012 24 Oct 2012
71	Tunisian Accreditation Council (TUNAC)	Tunisia	63	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025	02 Apr 2008 02 Apr 2008
72	Turkish Accreditation Agency (TURKAK)	Turkey	64	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	10 May 2006 10 May 2006 24 Oct 2012
73	Dubai Accreditation Department (DAC)	United Arab Emirates	65	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	18 Oct 2009 18 Oct 2009 24 Oct 2012
74	United Kingdom Accreditation Service (UKAS)	United Kingdom	66	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
75	Organismo Uruguayo De Acreditación (OUA)	Uruguay	67	Testing ISO/IEC 17025	22 Oct 2010
76	American Association for Laboratory Accreditation (A2LA)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025 & ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 02 Nov 2000 24 Oct 2012
77	<sup>(s)</sup> ANSI-ASQ National Accreditation Board <i>doing business as</i> ACLASS & FQS	USA	68	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	14 Sept 2006 14 Sept 2006 05 Dec 2012
78	AIHA Laboratory Accreditation Program, LLC (AIHA-LAP, LLC)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025	22 Aug 2010
79	American Society of Crime Laboratory Directors/Laboratory Accreditation Board (ASCLD/LAB)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025	07 April 2009
80	<sup>(c)</sup> International Accreditation Service, Inc (IAS)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 09 May 2005 05 Nov 2012
81	Accreditation Services Bureau (A-S-B) dba Laboratory Accreditation Bureau (L-A-B)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	06 Dec 2007 06 Dec 2007

*Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement*

No.	Accreditation Body	Economy		Scope	Original Signing Date
82	National Voluntary Laboratory Accreditation Program (NVLAP)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	02 Nov 2000 02 Nov 2000
83	Perry Johnson Laboratory Accreditation, Inc. (PJLA)	USA	68	Testing ISO/IEC 17025 Calibration ISO/IEC 17025	06 June 2008 21 May 2009
84	(n)Bureau of Accreditation (BoA)	Vietnam	69	Testing ISO/IEC 17025 Testing ISO 15189 Calibration ISO/IEC 17025 Inspection ISO/IEC 17020	02 Nov 2000 05 Dec 2012 02 Nov 2000 24 Oct 2012

## Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement

- (a) IAJapan was formed from a restructure of JCSS and JNLA on 1 April 2002.
- (b) CNAL was formed from a restructure of CCIBLAC and CNACL on 20 Feb 2003
- (c) IAS was formed from a restructure of ICBO on 1 Dec 2002
- (d) TAF was formed from a restructure of CNLA on 16 April 2005
- (e) BELTEST and BKO/OBE originally signed the MRA
- (f) Diretoria de Credenciamento e Qualidade/Instituto Nacional de Metrologia, Normalizacao e Qualidade Industrial (INMETRO) originally signed the MRA
- (g) FINAS, Finnish Accreditation Service Centre for Metrology and Accreditation originally signed the MRA. Their name changed to Finnish Accreditation Service (FINAS)
- (h) The Irish National Accreditation Board (NAB) originally signed the MRA. NAB changed their name to Irish National Accreditation Board (INAB)
- (i) Thai Laboratory Accreditation Scheme (TLAS) originally signed the MRA. TLAS changed their name to TISI
- (j) Hellenic Accreditation Council originally signed the MRA. Hellenic Accreditation Council changed their name to Hellenic Accreditation System S.A. (ESYD)
- (k) Norwegian Accreditation originally signed the MRA. Norwegian Accreditation changed their name to Norsk Akkreditering (NA)
- (l) Sistema Nazionale per l'Accreditamento originally signed the MRA. Sistema Nazionale per l'Accreditamento changed their name to Sistema Nazionale per l'Accreditamento di Laboratori (SINAL).  
ACCREDIA was formed as a result of the incorporation of SINAL and SINCERT and was accepted as signatory to the EA MLA on 29 May 2009 for testing only.  
SIT (original signing date – 9 April 2003 for calibration only) was incorporated into COPA. EA MLA signatory status was transferred to COPA on 4 November 2009.  
Signatory status of COPA to the ILAC MRA was withdrawn effective 21 May 2010 as a result of the termination of COPA's membership in EA as per EA Resolution 2010 (25) 3.  
ACCREDIA assumed the responsibilities for the accreditation of calibration laboratories in Italy from July 2010 as COPA was no longer operational. ACCREDIA was accepted as a signatory to the EA MLA for calibration on 7 October 2010.
- (m) Bureau of Laboratory Quality Standards (BLQS) Department of Medical Sciences (DMSc) originally signed the MRA. Their name changed to The Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand (BLQS-DMSc)
- (n) Vietnam Laboratory Accreditation Scheme (VILAS/STAMEQ) originally signed the MRA. Their name changed to Bureau of Accreditation (BoA)
- (o) CNAS was formed from the merger of CNAL and CNAB
- (p) BELTEST and BKO/OBE ceased to exist on 1 August 2006
- (q) PAO was reinstated as a signatory by the APLAC MRA Council for testing and calibration on 10 December 2008. This follows the suspension as a result of the Resolution of the APLAC MRA Council on 5 June 2008 whereby the signatory status for calibration and testing for PAO was suspended.
- (r) Canadian Association for Environmental Analytical Laboratories (CAEAL) originally signed the MRA. CAEAL changed its name to Canadian Association for Laboratory Accreditation Inc. (CALA) on 23 June 2008
- (s) Assured Calibration and Laboratory Accreditation Select Services was acquired by ANSI-ASQ National Accreditation Board and are now known as ANSI-ASQ National Accreditation Board *doing business as* ACLASS as of 18 September 08. As of 1 January 2012, ANSI-ASQ National Accreditation Board acquired Forensic Quality Services (FQS) a signatory to the ILAC MRA for testing since 10 December 2010 and are now known as ANSI-ASQ National Accreditation Board *doing business as* FQS.
- (t) TLAS changed their name to National Standardization Council of Thailand – Office of the National Accreditation Council on 29 January 2009.
- (w) DakkS was formed from a merger of DGA and DKD in December 2009.  
DGA was formed from a merger of Deutsches Akkreditierungssystem Prufwesen (DAP), Deutsche Akkreditierungsstelle (DACH), and Deutsche Akkreditierungsstelle Technik in Trägergemeinschaft für Akkreditierung German Association for Accreditation GmbH (DATEch in TGA GmbH).
- (x) National Laboratories Accreditation Bureau (NLAB) merged into EGAC as of 28 December 2009.

 Service d'anatomo-pathologie Hôpital Edouard Herriot La Qualité comme atout	Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques Hôpital Edouard Herriot 5, place d'Arsonval 69437 Lyon cedex 03  S'ATELIER EN LABO\BIOLOGIE MOLÉCULAIRE	- 1/22 -  Hôpitaux de Lyon															
<b>COMMENT REALISER LA DETECTION DES MUTATIONS DANS LES CANCERS PULMONAIRES</b>																	
Document de référence : .../.../ Code document : PTEC/PE//  N° version : A																	
PQUA <input type="checkbox"/> PTEC <input checked="" type="checkbox"/> PADM <input type="checkbox"/> PMED <input type="checkbox"/> PSUP <input type="checkbox"/> FP <input type="checkbox"/> PO <input type="checkbox"/> PE <input checked="" type="checkbox"/> Annexe <input type="checkbox"/>																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: left;">Historique du document :</th> <th style="text-align: right;">Rédacteur</th> <th style="text-align: right;">Vérificateur Q.</th> <th style="text-align: right;">Approbateur</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 15%;">Indice Date</td> <td style="width: 45%;">Chapitre(s) Concerné(s)</td> <td style="width: 15%; text-align: right;">C. Antony</td> <td style="width: 15%; text-align: right;">S. Baldassini</td> <td style="width: 15%; text-align: right;">C. Ferraro-Peyret</td> </tr> <tr> <td>A Octobre 2012</td> <td>Création</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Historique du document :		Rédacteur	Vérificateur Q.	Approbateur	Indice Date	Chapitre(s) Concerné(s)	C. Antony	S. Baldassini	C. Ferraro-Peyret	A Octobre 2012	Création			
Historique du document :		Rédacteur	Vérificateur Q.	Approbateur													
Indice Date	Chapitre(s) Concerné(s)	C. Antony	S. Baldassini	C. Ferraro-Peyret													
A Octobre 2012	Création																
<b><u>PLAN</u></b>																	
<ol style="list-style-type: none"> <li><b>1. OBJECTIFS ET FINALITES</b></li> <li><b>2. DOSAGE DE L'ADN</b></li> <li><b>3. PREPARATION DE LA PCR</b></li> <li><b>4. LANCEMENT DE LA PCR MULTIPLEX</b></li> <li><b>5. ELECTROPHORESE DU PRODUIT DE PCR</b> <ol style="list-style-type: none"> <li><b>a. PREPARATION DES SUPPORTS DE GEL</b></li> <li><b>b. PREPARATION DES GELS</b></li> <li><b>c. DEPOT DES PCR</b></li> <li><b>d. MIGRATION</b></li> <li><b>e. VISUALISATION A L'AIDE DE GENE FLASH</b></li> </ol> </li> <li><b>6. PREPARATION DES SEQUENCES</b></li> <li><b>7. PURIFICATION DES PRODUITS PCR</b></li> <li><b>8. REACTION DE SEQUENCE</b></li> <li><b>9. PURIFICATION DE LA REACTION DE SEQUENCE</b></li> <li><b>10. ELECTROPHORESE CAPILLAIRE</b></li> <li><b>11. ANALYSE AVEC LE LOGICIEL SEQSCAPE</b></li> <li><b>12. ANALYSE MANUELLE PAR LE BIOLOGISTE</b></li> </ol>																	

Annexe 3 : Procédure « Comment effectuer la coupe, le déparaffinage et la coloration » de  
l'UF Biologie des tumeurs

	<p>Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques Hôpital Edouard Herriot 5, place d'Arsonval 69437 Lyon cedex 03</p> <p>S\TECHNICIEN LABO\BIOLOGIE MOLECULAIRE\</p>	<p>- 1/6 -</p>
--	--	----------------

**COMMENT REALISER LA COUPE, LE DEPARAFFINAGE ET LA COLORATION ?**

Document de référence :...

Code document : PTEC/PE

N° version : A

PQUA	<input type="checkbox"/>	PTEC	<input checked="" type="checkbox"/>	PADM	<input type="checkbox"/>	PMED	<input type="checkbox"/>	PSUP	<input type="checkbox"/>
FP	<input type="checkbox"/>	PO	<input type="checkbox"/>	PE	<input checked="" type="checkbox"/>	Annexe	<input type="checkbox"/>		

**Historique du document :**

Indice Date	Chapitre(s) Concerné(s)	Rédacteur	Vérificateur Q.	Approbateur
A	Création	C. Antony	A. Poulet	

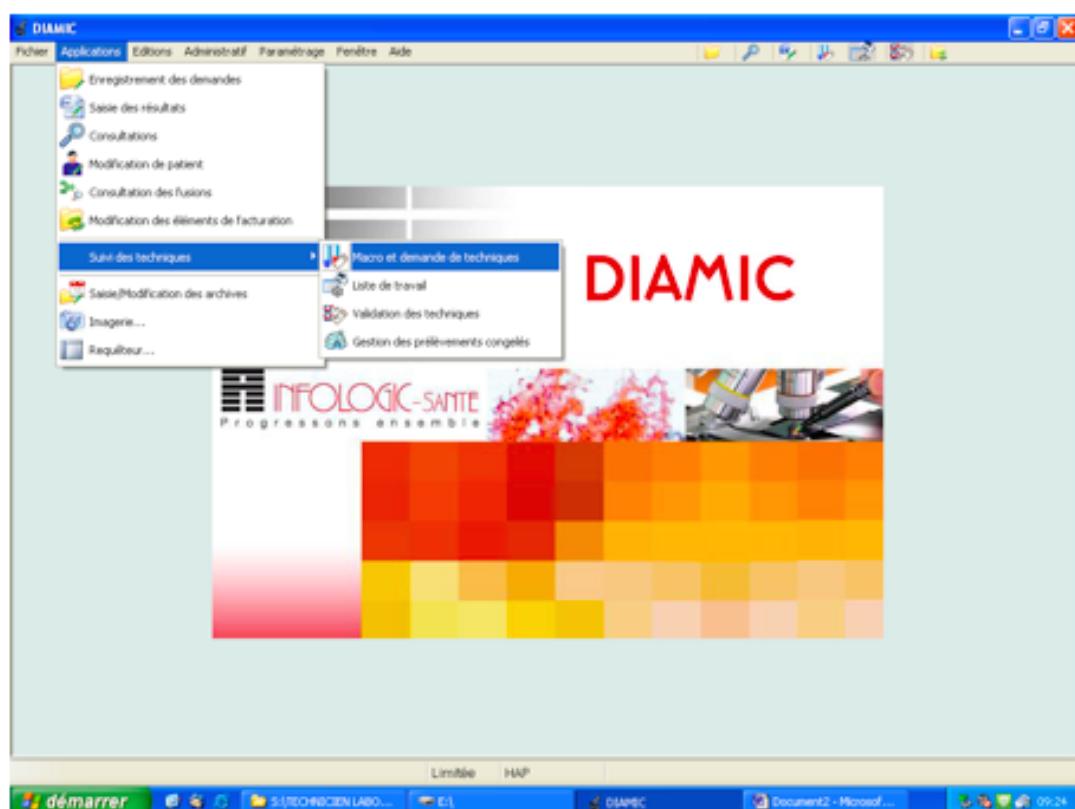
## Comment réaliser la coupe, le déparaffinage et la coloration?

Ces étapes précèdent la micro-dissection (pour le poumon et le mélanome) ou la macro-dissection au scalpel (pour le colon, les GIST, la thyroïde et les glioblastomes) et l'extraction de l'ADN.

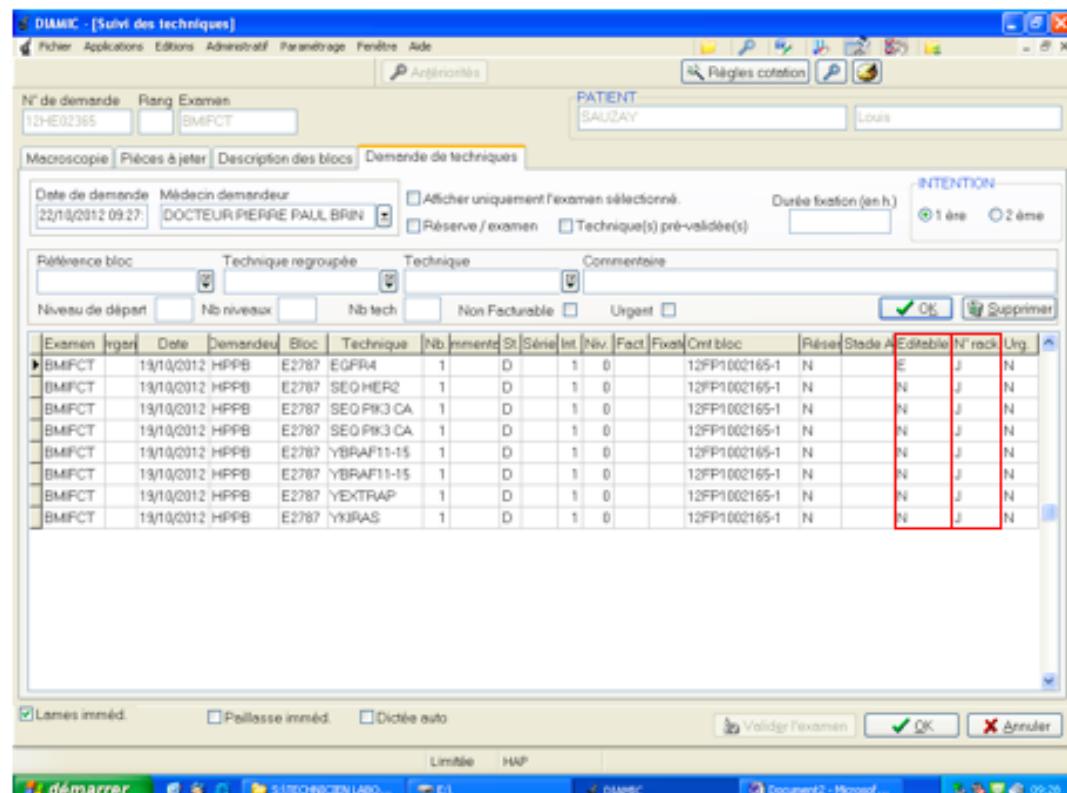
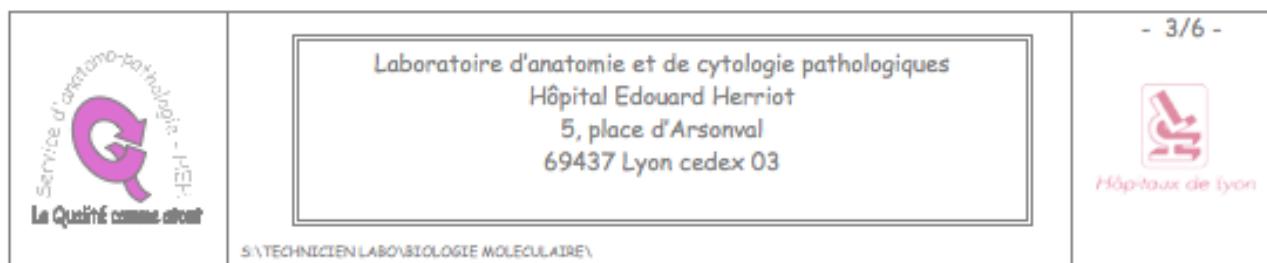
### 1. Comment réaliser la coupe ?

#### A. IMPRESSION DES LAMES

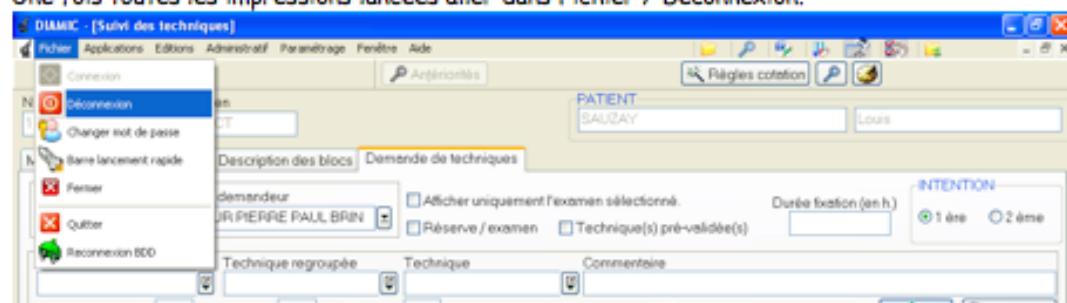
- Ouvrir le logiciel Diamic et rentrer son nom et son mot de passe.
- Aller dans Applications / Suivi des techniques / Macro et demande de techniques.



- Entrer le numéro de demande (exemple : 12HE02365) et appuyer sur la touche tabulation.
- Les renseignements enregistrés pendant l'étape de réception des blocs apparaissent dans un tableau :



- o Dans la colonne Editable, soit il est noté E cela signifie que la lame a déjà été éditée, soit la case est blanche et dans ce cas la lame sera imprimée, soit il est noté N et la lame ne sera pas imprimée.
  - o Dans la colonne N° rack, s'il est noté J ce sera une lame normale, s'il est noté 3 ce sera une lame d'immuno.
- Cocher la case « lames imméd. »
  - Cliquer sur OK.
  - Faire de même pour chaque patient.
  - Une fois toutes les impressions lancées aller dans Fichier / Déconnexion.



**Pour le mélanome et le poumon :**

- Préparer 2 lames de micro-dissection en notant à la main l'identification des patients.
- Etaler 1 lame HPS pré-imprimée de fin de ruban (pour être plus représentatif de ce qu'il reste sur le bloc et de ce que l'on a sur les lames).

**Pour les Ki-Ras, Thyroïde, GIST et glioblastomes :**

- Etaler une lame HPS pré-imprimée de fin de ruban.
- Etaler 4 lames normales pré-imprimées (que l'on grattera au scalpel pour l'étape de dissection).

**Pour les RER :**

- Etaler une lame HPS pré-imprimée de fin de ruban.
- Etaler 4 lames normales pré-imprimées (que l'on grattera au scalpel pour l'étape de dissection).

**B. PREPARATION DU MELANGE EAU/ALBUMINE (COLLE)**

- Dans un erlenmeyer mettre une pointe d'albumine et un peu d'eau.
- Porter à ébullition.
- Compléter avec environ 1 litre d'eau.
- Filtrer la colle à l'aide d'un entonnoir et d'un papier filtre.
- Recouvrir les lames avec la colle.
- Placer les blocs à couper sur la platine froide (car si le bloc est chaud on ne pourra pas couper) en attendant de les couper.

**C. UTILISATION DU MICROTOME**

- Allumer le microtome.
- Placer une lame coupante dans l'espace réservé avec précaution et la bloquer.
- Placer le bloc patient dans l'espace réservé.
- Sélectionner « Dégrossir 10 $\mu$  ».
- Régler la tête du microtome à l'aide de la manivelle et dégrossir le bloc.
- Sélectionner « Coupe 3 $\mu$  ».
- Découper un ruban de coupes à partir du bloc à l'aide de la manivelle.
- Poser le ruban de coupes à l'aide d'une pince sur une feuille de papier propre.
- Au scalpel, découper le ruban et déposer les coupes sur les lames imprimées.





5.1 TECHNICIEN LABO/BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

- Déposer les lames sur la plaque chauffante : une fois que la paraffine est détendue, qu'il n'y a pas de plis, enlever le surplus de colle et centrer la coupe sur la lame.



- Déposer les lames verticalement pour éliminer l'excès de colle.



- Enfin, déposer les lames sur un portoir et placer ce dernier à l'étuve à environ 50°C pendant la nuit (au minimum 2 heures) pour éviter que les coupes se décollent durant les étapes ultérieures.

#### D. CAHIER DE COUPE

Ecrire dans le cahier de coupe :

- La date.
- Le nom du technicien qui a réalisé la coupe.
- Les numéros des blocs.

#### E. NETTOYAGE DU MICROTOME

- Retirer la lame coupante avec précaution.
- Nettoyer le microtome avec un pinceau pour éliminer le maximum de copeaux puis avec un chiffon imbibé d'alcool à 100° pour éliminer la paraffine.

#### 2. Comment réaliser le déparaffinage ?

Il peut s'agir de lames ou de copeaux à déparaffiner.

#### A. DEPARAFFINAGE DE LAMES

Mettre les lames dans des bains successifs de :

1. Méthylcyclohexane 5 min.
2. Méthylcyclohexane 5 min.

 <p>Service d'anatomie-pathologique Le Qualité comme objectif</p>	<p>Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques Hôpital Edouard Herriot 5, place d'Arsonval 69437 Lyon cedex 03</p> <p>S'TECHNICIEN LABO/BIOLOGIE MOLECULAIRE</p>	<p>- 6/6 -</p>  <p>Hôpitaux de Lyon</p>
--	---	--

3. Méthylcyclohexane 5 min.
4. Ethanol absolu 5min.
5. Ethanol 70% 5min.
6. Ethanol 50% 5min.
7. Eau 15min minimum.

#### **B. DEPARAFFINAGE DE COPEAUX**

Dans le tube contenant les copeaux :

1. Ajouter 1ml de cyclohexane et incuber 10 min à température ambiante.
2. Centrifuger à grande vitesse 1 min.
3. Eliminer le surnageant.
4. Répéter les étapes 1-2-3.
5. Ajouter 1ml d'éthanol absolu et incuber 10 min à température ambiante.
6. Centrifuger à grande vitesse 1 min.
7. Eliminer le surnageant.
8. Répéter les étapes 5-6-7.
9. Laisser s'évaporer tout l'éthanol à température ambiante pendant au moins 30 min ou dans une étuve à 37°C ou 50°C pour une action plus rapide.
10. Poursuivre l'extraction d'ADN, avec la technique appropriée, par l'étape de digestion par la protéinase K.

#### **3. Comment réaliser la coloration pour micro-dissection ?**

Une fois le déparaffinage terminé :

- Réhydrater les lames en les passant sous l'eau 10 min.
- Préparer 2 récipients en verre et 1 portoir de lames (en verre pour 20 lames ou en métal pour 10 lames).
- Remplir le premier récipient avec l'hématoxyline et mettre les lames dans le bain d'hématoxyline pendant 1 min.
- Rincer à l'eau 5 min.
- Remplir le deuxième récipient avec la phloxine et mettre les lames dans le bain de phloxine pendant 15 secondes.
- Rincer dans des bains d'alcool de concentrations croissantes :
  - o 2 bains à 70% successifs : 10 passages dans chacun.
  - o 1 bain à 95% : 10 passages.
  - o 1 bain à 100% : 10 passages.
- Passer les lames à l'étuve à 37°C pendant 10 min.

#### Annexe 4 : Illustration de l'enregistrement d'une procédure Qualité dans le logiciel KALILAB

Kalilab [1] - Microsoft Internet Explorer fourni par les HCL

Mar 20 Nov 2012 - 14:10

ANTONY Charlotte (ANC2)  
Laboratoire d'Anatomie (HA)

Administration Tab. de bord Gestion Tâches

Visualisation des documents

Traces Accédez -> MT-HA14-001-01 [à diffuser] Afficher

Laboratoire d'Anatomie et cytologie pathologiques Hôpital Edouard Herriot Bat 10 5 Place d'Arsonval 69437 LYON cedex 03

**Procédure microdissection**

Référence : MT-HA14-001-01  
Version : 01

Date d'application 31-10-2011 Dernière revue - Prochaine revue -

Rédaction	Vérification	Approbation	Diffusion
Rocher Lauraine 07-12-2011	BALDASSINI Sylvie 07-12-2011	BRINGUIER Pierre-Paul 22-12-2011	Seul <b>FERRARO-PEYRET Carole</b> peut s'identifier

**Description du document**

Site(s) concerné(s)	Laboratoire d'Anatomie et cytologie pathologiques (HA)
Service concerné sur ce site	Service technique y ... (14)
Destinataires pour diffusion	<b>Personnel</b> BALDASSINI Sylvie, BRINGUIER Pierre-Paul, FERRARO-PEYRET Carole, GAUTHIER Aurélie, JOLY Marie-Odile, POULET Alexie <b>Fonctions</b> TEC HA Biologie Moléculaire
Dernière modification	Création
Classification Bio Qualité	H1 - Maîtriser le système documentaire qualité
Thème utilisé pour la référence	Maîtrise des documents
Mots clés	Microdissection
Localisations	Service technique y ...
Matériels	Microscope
Techniques manuelles	Microdissection
Fonctions	Gestion Documentaire
Fichier joint	<a href="#">annexe procédure microdissection pour extraction.doc [52.50Ko]</a>

 <b>Serveur Kalilab</b> Lecture seule	 <b>Serveur local</b> Document de travail
<b>Ouvrir le document (en lecture seule)</b>	<b>Ouvrir le document</b> (Fichier synchronisé)

Ajout de commentaires

## Annexe 5 : Illustration de l'enregistrement du matériel dans le logiciel KALILAB

Fournisseur	
Fournisseur	Choisissez un fournisseur
Numéro de téléphone SAV	
Interlocuteur SAV	
Numéro de téléphone hotline	
Numéro de téléphone du commercial	
Interlocuteur commercial	
Identification	
Responsable	<div style="border: 1px solid #ccc; padding: 5px; width: 200px;"> <a href="#">Choisir   Mes choix</a>            ANTONY Charlotte            BALDASSINI Sylvie            BRINGUIER Pierre-Paul            CAMPELLO Claudia            CASSOL Sophie         </div>
Données d'achat	
Prix (€ HT)	
Référence de la commande	
Numéro du contrat de maintenance	
Date de début de la garantie	
Date de fin de la garantie	
Caractéristiques techniques	
Environnement particulier	
<input style="margin-right: 10px;" type="button" value="Ajouter"/> <input type="button" value="Annuler"/>	
Ajout d'un matériel	
Selection du type	Thermocycleur (THCY)
Fiche signalétique	
Désignation	
Localisé dans	
Matériels concernés	<div style="border: 1px solid #ccc; padding: 5px; width: 200px;"> <a href="#">[Aucun]</a>            Agitateur            Autoclave            Automate  <a href="#">[HH19-AUT-0001] ROTORGENE</a>            Autre         </div>
Service(s) concerné(s)	<div style="border: 1px solid #ccc; padding: 5px; width: 200px;"> <a href="#">[HA0] Tous</a>  <a href="#">[HA1] Equipe Médicale</a>  <a href="#">[HA2] Qualité</a>  <a href="#">[HA3] Encadrement</a> </div>
Service affecté	Multi-services (0)
Référence	
Marque	
Numéro de série	
Date de réception	19-11-2012
Etat à la réception (neuf, occasion, prêt, ...)	
Date de mise en service	19-11-2012
Date de réforme	
Matériel critique	<input type="radio"/> Non <input type="radio"/> Oui

# BIBLIOGRAPHIE

1. BESCH O. L'ISO 13485, étude comparative avec l'ISO 9001. Quelle attitude adopter par rapport à la mise en place d'un système qualité pour une entreprise des dispositifs médicaux ? Thèse d'exercice : Pharmacie : Lyon 1 ; 2011
2. AFNOR. ISO 9000 Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire. Paris. AFNOR ; 1982
3. AFNOR. ISO 9000 Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire. Paris. AFNOR ; 2000
4. GENTINA A. Mise en place d'un système de formation du personnel : enjeux, atouts et mise en œuvre. Thèse d'exercice : Pharmacie : Lyon 1 ; 2006
5. AFNOR. NF EN ISO 9001 Systèmes de management de la qualité - Exigences. Paris : AFNOR ; 2008
6. Action de correction, action corrective ou action préventive ?  
<http://www.qualiblog.fr/principes-generaux-de-la-qualite/action-de-correction-action-corrective-ou-action-preventive/> (consulté le 15.03.2013)
7. La qualité, l'assurance de la qualité et la certification iso 9001.  
<http://www.codlor.com/img/fichiers/file/QUALITE/Definition.pdf> (consulté le 15.03.2013)
8. Histoire de la qualité - <http://srando.free.fr/dossiers/historique.doc> (consulté le 15.03.2013)
9. Wikipédia. Taylorisme. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Taylorisme> (consulté le 15.03.2013)
10. L'évolution de la qualité dans le temps.  
<http://www.performancezoom.com/qualite.php> (consulté le 15.03.2013)
11. AFNOR. Quelle est la différence entre assurance et management de la qualité ?  
<http://www.bivi.qualite.afnor.org/actualites/question-de-la-semaine/quelle-est-la-difference-entre-assurance-et-management-de-la-qualite> (consulté le 17.03.2013)

12. La qualité est-ce uniquement les normes ISO 9000 ? <http://nadine-emmanuel.clause.pagesperso-orange.fr/qualite/chap21.html> (consulté le 17.03.2013)
13. Wikipédia. Normes et standards techniques.  
[http://fr.wikipedia.org/wiki/Normes\\_et\\_standards\\_industriels](http://fr.wikipedia.org/wiki/Normes_et_standards_industriels) (consulté le 17.03.2013)
14. L'ISO, l'AFNOR, les normes...  
[http://www.utc.fr/~tthomass/Themes/Unites/unites/infos/normes/Les\\_normes.pdf](http://www.utc.fr/~tthomass/Themes/Unites/unites/infos/normes/Les_normes.pdf)  
(consulté le 17.03.2013)
15. ISO. À propos de l'ISO. <http://www.iso.org/iso/fr/about.htm> (consulté le 17.03.2013)
16. CEN. European Committee for Standardization. Who we are.  
<https://www.cen.eu/about/Pages/default.aspx> (consulté le 17.03.2013)
17. CENELEC. European Committee for Electrotechnical Standardization. Who we are.  
<http://www.cenelec.eu/aboutcenelec/whoweare/index.html> (consulté le 17.03.2013)
18. ETSI. European Telecommunications Standards Institute. About ETSI.  
<http://www.etsi.org/about> (consulté le 17.03.2013)
19. AFNOR. ISO/CEI 17 000 Évaluation de la conformité - Vocabulaire et principes généraux. Paris : AFNOR ; 2005
20. AFNOR. ISO/IEC Guide 2 Normalisation et activités connexes - Vocabulaire général. Paris : AFNOR ; 2004
21. Guzel O, Guner EI. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory I. Clinical Biochemistry. 2009; 42: 274-8
22. COFRAC. Définition, cadre légal et normatif. <http://www.cofrac.fr/fr/accreditation/>  
(consulté le 25.03.2013)
23. COFRAC. Distinction accréditation / certification.  
<http://www.cofrac.fr/fr/accreditation/distinction.php> (consulté le 25.03.2013)

24. CT2M. Quelles différences entre Accréditation et Certification ?  
<http://ct2m.fr/83/Ndeg24+-+Quelles+diffeacuterences+entre+Accreacuteditation+et+Certification.pdf> (consulté le 25.03.2013)
25. COFRAC. Présentation générale du Cofrac. <http://www.cofrac.fr/fr/cofrac/index.php> (consulté le 25.03.2013)
26. AFNOR. ISO/CEI 17011 Évaluation de la conformité - Exigences générales pour les organismes d'accréditation procédant à l'accréditation d'organismes d'évaluation de la conformité. Paris : AFNOR ; 2005
27. COFRAC. Reconnaissance internationale.  
<http://www.cofrac.fr/fr/cofrac/reconnaissance.php> (consulté le 30.03.2013)
28. EA. European co-operation for Accreditation Members. <http://www.european-accreditation.org/ea-members#1> (consulté le 20.01.2014)
29. ILAC. International Laboratory Accreditation Cooperation Members.  
<https://www.ilac.org/membersbycategory.html> (consulté le 20.01.2014)
30. ILAC. Signatories to the ILAC Mutual Recognition Arrangement.  
[https://www.ilac.org/documents/mra\\_signatories.pdf](https://www.ilac.org/documents/mra_signatories.pdf) (consulté le 20.01.2014)
31. Article L.6212-1 du code de la santé publique
32. article L.6211-1 du Code de la Santé Publique
33. article L.6211-2 du Code de la Santé Publique
34. Loi n°2009-879 du 21 juillet 2009 portant réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires ; J.O.R.F. Lois ; 22 juillet 2009 : 12184
35. Sante.gouv.fr. La loi HPST à l'hôpital Les clés pour comprendre.  
[http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/vademecum\\_loi\\_HPST.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/vademecum_loi_HPST.pdf) (consulté le 30.03.2013)

36. Revue-hospitaliere.fr. Accréditation des laboratoires de biologie médicale rôle du cofrac. <http://www.revue-hospitaliere.fr/Revues/Revue-Hospitaliere-de-France/Revues/531> (consulté le 25.07.2013)
37. Sante.gouv.fr. HPST Une ambition nécessaire pour préserver notre système de santé. [http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Plaquette\\_HPST\\_grand\\_public-2.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Plaquette_HPST_grand_public-2.pdf) (consulté le 30.03.2013)
38. Sante.gouv.fr. Rapport pour un projet de réforme de la biologie médicale. [http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport\\_pour\\_la\\_biolgie\\_medicale.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_pour_la_biolgie_medicale.pdf) (consulté le 30.03.2013)
39. Rapport au Président de la République relatif à l'ordonnance n° 2013-1184 du 19 décembre 2013 relative à l'amélioration des conditions d'accès aux documents d'urbanisme et aux servitudes d'utilité publique ; J.O.R.F. 20 décembre 2013 : 20779
40. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale ; J.O.R.F. Ordonnances ; 15 janvier 2010 : 819
41. Qu'est-ce qu'une ordonnance ? <http://www.vie-publique.fr/découverte-institutions/institutions/administration/action/voies-moyens-action/qu-est-ce-qu-ordonnance.html> (consulté le 25.01.2014)
42. Assemblée nationale. Projet de loi ratifiant l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. <http://www.assemblee-nationale.fr/13/projets/pl2440.asp> (consulté le 25.01.2014)
43. Arrêté du 5 août 2010 fixant les références des normes d'accréditation applicables aux laboratoires de biologie médicale ; J.O.R.F. Arrêtés ; 1 septembre 2010 : 15961
44. AFNOR. NF EN ISO 22870 Analyses de biologie délocalisées (ADBD) - Exigences concernant la qualité et la compétence. Paris : AFNOR ; 2006

45. Arrêté du 17 octobre 2012 définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation ; J.O.R.F. Arrêtés ; 20 octobre 2012 : 16365
46. ROGOWSKI C. Mise en place de la norme NF EN ISO 15189 en vue d'une démarche d'accréditation par le COFRAC : exemple du laboratoire de biologie médicale du centre hospitalier de Bayeux. Thèse d'exercice : Pharmacie : Caen ; 2012
47. FHF. Réforme de la biologie médicale : point sur le texte adopté par le Sénat. <http://www.fhf.fr/Actualites/Offre-de-soins-Qualite/Plateaux-medico-techniques/Reforme-de-la-biologie-medicale-point-sur-le-texte-adopte-par-le-Senat> (consulté le 05.01.2014)
48. Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale ; J.O.R.F. Lois et décrets ; 31 mai 2013 : 8954
49. Sante.gouv.fr. Biologie médicale. <http://www.sante.gouv.fr/biologie-medicale.html> (consulté le 07.01.2014)
50. Ordre national des pharmaciens. Réforme de la biologie médicale - Loi n°2013-442 du 30 mai 2013. <http://www.ordre.pharmacien.fr/Le-pharmacien/Secteurs-d-activite/Biologie/Reforme-de-la-biologie-medicale> (consulté le 07.01.2014)
51. Cofrac. SH INF 20 Modalités de candidature à l'accréditation par la section santé humaine du Cofrac. <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-INF-20> (consulté le 15.01.2013)
52. Cofrac. Santé humaine. <http://www.cofrac.fr/fr/activites/sante.php> (consulté le 15.01.2013)
53. Qualité. <http://www.sambourg.com/Qualite.htm> (consulté le 15.01.2013)
54. Cofrac. Accréditation et biologie médicale, enjeux et perspectives en 6 questions. [http://www.cofrac.fr/communication/brochures/cofrac\\_leaflet\\_sante.pdf](http://www.cofrac.fr/communication/brochures/cofrac_leaflet_sante.pdf) (consulté le 18.01.2013)

55. Cofrac. SH REF 05 Règlement d'accréditation. <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-REF-05> (consulté le 18.01.2013)
56. Cofrac. SH REF 08 Expression et évaluation des portées d'accréditation. <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-REF-08> (consulté le 18.01.2013)
57. Cofrac. SH INF 50 Portées-types d'accréditation. [http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation\[SH INF 50\]](http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation[SH INF 50]) (consulté le 18.01.2013)
58. Cofrac. SH FORM 05 Demande d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 questionnaire de renseignements. [http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation\[SH FORM 05\]](http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation[SH FORM 05]) (consulté le 18.01.2013)
59. Cofrac. SH FORM 03 Questionnaire d'auto-évaluation préparation de l'évaluation sur site selon la norme NF EN ISO 15189 : 2012. [http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation\[SH FORM 03\]](http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation[SH FORM 03]) (consulté le 18.01.2013)
60. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale ; J.O.R.F. Arrêtés ; 11 décembre 1999 : 18441
61. Rogowski J, Annaix V. Norme NF EN ISO 15189 : analyse comparative avec le GBEA et mise en place du nouveau référentiel. Annales de Biologie Clinique. 2010 ; 68 (3) : 367-77
62. AFNOR. NF EN ISO 15189 Laboratoires de biologie médicale - Exigences concernant la qualité et la compétence - Laboratoires d'analyses de biologie médicale. Paris : AFNOR ; 2012
63. AFNOR. NF EN ISO 17025 Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. Paris : AFNOR ; 2005
64. Norme ISO 15189. <http://www.axess-qualite.fr/norme-iso-15189.html> (consulté le 20.01.2013)

65. Article L.6221-9 du code de la santé publique
66. INCA. [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr) (consulté le 20.01.2013)
67. Article L.6211-2 du code de la santé publique
68. Chu-lyon.fr. Présentation des HCL. [http://www.chu-lyon.fr/web/Présentation%20des%20HCL\\_684.html](http://www.chu-lyon.fr/web/Présentation%20des%20HCL_684.html) (consulté le 25.02.2013)
69. Wikipédia. Hospices Civils de Lyon.  
[http://fr.wikipedia.org/wiki/Hospices\\_civils\\_de\\_Lyon](http://fr.wikipedia.org/wiki/Hospices_civils_de_Lyon) (consulté le 26.02.2014)
70. Article L.6222-4 du code de la santé publique
71. Article L.6212-1 du code de la santé publique
72. HCL. Manuel Qualité du Laboratoire de Biologie Médicale Multi Sites du CHU de Lyon (MU-POL-MQ-001-02). Mai 2013
73. HCL. Politique Qualité du Laboratoire de Biologie Médicale Multi Sites (LBMMS) du CHU de Lyon (13-053 PAM Biologie ACP). Avril 2013
74. ELSE CONSULTANTS. ELSE, en résumé. <http://www.elseconsultants.fr/web/nous-connaitre/6.html> (consulté le 25.02.2013)
75. CT2M. Accueil. <http://www.ct2m.fr> (consulté le 25.02.2013)
76. HCL. Revue de lancement de projet. Juillet 2011
77. Cofrac. SH FORM 06 Liste détaillée des examens/analyses demandés à l'accréditation. [http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation\[SH\\_FORM\\_06\]](http://www.cofrac.fr/fr/search/?find=documentation[SH_FORM_06]) (consulté le 20.07.2014)
78. Netika.net. Plaquette descriptive. <http://www.netika.net//dl/plaquette.pdf> (consulté le 10.01.2014)

79. Yumpu.com. Présentation des fonctionnalités du logiciel KALILAB-NETIKA. <https://www.yumpu.com/fr/document/view/16549663/presentation-des-fonctionnalites-du-logiciel-kalilabnetika> (consulté le 20.01.2013)
80. Netika.net. KaliLab. <http://www.netika.net//fr/kalilab> (consulté le 15.06.2014)
81. HCL. LBMMS KALILAB : Consignes pour le paramétrage (MU-INFO-IT-011-01). Septembre 2012
82. HCL. Paramétrage des plans de formations KALILAB (MU-RH-IT-011-01). Juillet 2013
83. HCL. Instruction pour l'affectation des fonctions et des accès aux sites et services dans KALILAB (MU-RH-IT-012-01). Juillet 2013
84. HCL. Procédure de gestion documentaire - LBMMS (MU-INFO-PG-001-02). Mai 2014
85. HCL. LBMMS - Planification des revues documentaires dans KALILAB (MU-INFO-IT-031-01). Juillet 2014
86. HCL. Plan pour la rédaction des procédures, modes opératoires et instructions (MU-INFO-DE-011-01). Juin 2012
87. HCL. Création d'un document dans KALILAB (MU-INFO-DE-004-02). Août 2013
88. Article L.6211-18 du code de la santé publique

*La 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*

**ANTONY Charlotte**

**La qualité dans l'UF biologie des tumeurs de l'Hôpital Edouard Herriot : état des lieux et perspectives, en vue de l'accréditation selon la norme ISO 15189 des examens de biologie médicale.**

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2014, 168 p.

## **RESUME**

En France, durant ces cinq dernières années, une réforme majeure de la Biologie Médicale a eu lieu, en application de l'article 69 de la loi « Hôpital, Patients, Santé et Territoires » du 21 juillet 2009, de l'ordonnance du 10 janvier 2010 ainsi que de la loi du 30 mai 2013. Cette dernière impose notamment que tous les laboratoires de Biologie Médicale, des secteurs public et privé, soient accrédités selon la norme *ISO 15 189*. Cette accréditation est délivrée par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) ; elle doit permettre de garantir une Qualité « tracée et prouvée » des examens de Biologie Médicale, afin d'instaurer une confiance dans toutes les prestations réalisées. Sans cette accréditation, les laboratoires ne pourront pas poursuivre leurs activités.

Si la démarche Qualité existe depuis de nombreuses années dans les laboratoires de Biologie Médicale, la norme *ISO 15 189* renforce les exigences et met en place de nouvelles notions concernant la gestion de la Qualité des laboratoires, telles que le management, la traçabilité ou l'habilitation du personnel.

Après avoir défini la notion de Qualité, puis les différentes exigences de la norme *ISO 15 189*, ce travail décrit comment les Hôpices Civils de Lyon, avec la création du Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites (LBMMS), ont organisé leur système Qualité afin de répondre aux exigences de la norme et de mettre en route un processus permettant d'obtenir l'accréditation. Ce processus s'applique aux 27 sites du LBMMS, dont l'unité fonctionnelle « Biologie des tumeurs » dans laquelle j'ai effectué mon stage de cinquième année hospitalo-universitaire. Au cours de ce stage j'ai effectué différentes missions, à savoir la revue et l'écriture de documents Qualité concernant les techniques, le personnel ou la validation biologique, mais aussi l'utilisation d'un logiciel de gestion de la Qualité, et enfin l'évaluation de la traçabilité des analyses réalisées. Ce travail m'a permis de mettre en perspective les exigences de la norme, leurs déclinaisons au sein du LBMMS et le début de leur mise en place sur un de ses sites.

## **MOTS CLES**

Accréditation  
Biologie médicale

COFRAC  
Norme *ISO 15 189*

## **JURY**

Mme FERRARO-PEYRET Carole, Docteur en Pharmacie, MCU - HDR  
Mme GADOUX Mylène, Ingénieur en Biologie-Responsable Qualité du LBMMS  
Mme FRETIGNY Mathilde, Docteur en Pharmacie - PH

## **DATE DE SOUTENANCE**

Jeudi 2 octobre 2014

## **ADRESSE DE L'AUTEUR**

153, Cours Albert Thomas – 69003 Lyon