

Fiche Contenu 8-1 : Vue d'ensemble du Contrôle Qualité pour les procédures qualitatives et semi quantitatives

Rôle dans le système de gestion de la qualité

Le Contrôle Qualité est une composante du contrôle des processus et est un élément majeur du système de gestion de la qualité. Il contrôle les processus liés à la phase analytique et permet de détecter les erreurs du système d'analyse. Ces erreurs peuvent être dues à un défaut du système d'analyse, à des conditions environnementales défavorables ou à l'exécution par l'opérateur. Le CQ permet au laboratoire d'être confiant dans l'exactitude et la fiabilité de ses résultats avant qu'ils ne soient rendus au patient.

Ce module explique comment les méthodes de CQ sont appliquées aux analyses qualitatives et semi quantitatives du laboratoire.

Analyses qualitatives et semi quantitatives

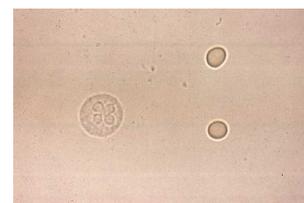
Les analyses qualitatives sont celles qui mesurent la présence ou l'absence d'une substance, ou évaluent des caractéristiques cellulaires telles que la morphologie. Les résultats ne sont pas exprimés sous forme numérique, mais avec des termes descriptifs ou qualitatifs tels que « positif », « négatif », « réactif », « non réactif », « normal », « anormal ». Exemples d'examens qualitatifs : les examens microscopiques de morphologie cellulaire ou de recherche d'organisme parasites, examens sérologiques pour la recherche de la présence ou non d'antigènes et d'anticorps, certains examens microbiologiques et certaines techniques moléculaires.



Les examens semi quantitatifs sont similaires aux examens qualitatifs ; l'analyse ne mesure pas une quantité précise d'une substance. La différence est que les résultats sont exprimés par une **estimation** de la quantité présente de la substance mesurée. Cette estimation peut être rendue sous forme de chiffre. Par conséquent les résultats des analyses semi quantitatives peuvent être exprimés par les termes suivants « traces », « quantité modérée », ou "1+, 2+, or 3+" ou positif à 1:160 (titre ou dilution). Exemples : bandelettes urinaires, tests rapides pour la recherche de corps cétoniques, et examens sérologiques par agglutination.



Certains examens microscopiques sont considérés comme semi quantitatifs car les résultats sont donnés comme une estimation du nombre de cellules observées à faible ou fort grossissement. Par exemple, un examen microscopique d'urine peut être rendu comme suit : « 0-5 cellules sanguines observées par champ à fort grossissement ».



Les concepts importants

Comme pour les procédures quantitatives, il est important de vérifier que les résultats des analyses qualitatives et semi quantitatives sont corrects avant que les résultats ne soient rendus au personnel soignant.

Pour beaucoup de ces analyses, la conduite du contrôle qualité ne s'accomplit pas

aussi facilement que pour les analyses quantitatives. Par conséquent, il est essentiel que d'autres processus au sein du système qualité soient soigneusement menés, en plus des méthodes traditionnelles de contrôle qualité. Voici quelques concepts très importants pour la qualité et qui s'appliquent aux tests qualitatifs et semi quantitatifs :

- La gestion de l'échantillon est importante pour toutes les analyses du laboratoire. Les examens qui dépendent d'un organisme vivant présent dans l'échantillon ont besoin d'être contrôlés d'encore plus près et en mettant en place une meilleure communication avec le personnel qui ne fait pas partie du laboratoire. (Voir gestion de l'échantillon Module 5).
- Un personnel dévoué et professionnel qui comprend les principes du CQ constitue un élément clé de la qualité.
- Les étuves, les réfrigérateurs, les microscopes, les autoclaves et tout autre équipement doivent être maintenus en bon état et contrôlés soigneusement (voir Gestion de l'équipement Module 3).
- Des contrôles positifs et négatifs doivent être utilisés pour contrôler l'efficacité des procédures d'analyse utilisant des colorants spécifiques, des réactifs, ou des tests en « point final » tels que les tests d'agglutination, le changement de couleur ou d'autres résultats non numériques.
- Les réactifs doivent être stockés selon les instructions du fabricant, avec leur date d'ouverture et d'utilisation notée, et doivent être mis de côté quand ils sont périmés (voir Achats et Inventaire Module 4).
- La conservation des enregistrements de tous les processus de contrôle de qualité et des mesures correctives est nécessaire pour améliorer continuellement le système qualité au laboratoire (voir Documents et Registres Module 16).
- Lorsque des problèmes surviennent, investigatez, corrigez et refaites l'analyse du patient (voir Gestion des problèmes Module 14).



Si les résultats du CQ ne sont pas ceux attendus, ne rendez pas les résultats du patient.

Fiche Contenu 8-2 : Matériels de Contrôle Qualité

Types de contrôle

Les analyses qualitatives et semi quantitatives comprennent des tests qui utilisent différents matériels de contrôle. Ces contrôles peuvent être des contrôles incorporés aux kits eux-mêmes, des contrôles traditionnels qui imitent les échantillons de patients, ou peuvent consister en des examens microbiologiques à pratiquer sur des cultures de collection.

Les contrôles incorporés aux kits

Les contrôles incorporés aux kits sont ceux qui sont intégrés directement dans le système d'analyse, comme l'un des dispositifs du kit d'analyse. En général le dispositif possède des surfaces sur lesquelles des lignes colorées, des barres, ou des points apparaissent pour indiquer le succès ou l'échec des contrôles positifs ou négatifs ; ces contrôles sont réalisés automatiquement avec chaque analyse. Les instructions du fabricant peuvent également se référer à ces contrôles comme étant des contrôles « méthodologiques », ou des contrôles « intégrés ».



La plupart des contrôles intégrés ne contrôlent qu'une partie de la phase analytique et ils varient d'une analyse à l'autre selon ce qui est contrôlé. Par exemple, les contrôles intégrés de certains kits peuvent indiquer que tous les réactifs imprégnés dans le dispositif sont actifs et fonctionnent correctement, tandis que d'autres, pour d'autres kits, peuvent simplement indiquer qu'un échantillon a été ajouté et que les solutions s'écoulent correctement à l'intérieur du dispositif. Il est important de lire attentivement les instructions fournies par le fabricant pour comprendre ce qui est contrôlé par le contrôle intégré et déterminer si d'autres contrôles sont nécessaires.

Exemples de kits avec contrôle intégré : les test rapides qui détectent la présence d'antigènes ou d'anticorps, tels que ceux utilisés pour des maladies infectieuses (VIH/SIDA, grippe, maladie de Lyme, les infections à streptocoque, mononucléose), abus de médicaments, grossesse ou encore la recherche de sang dans les selles.

Même si ces contrôles intégrés fournissent un certain degré de confiance, ils ne contrôlent pas tous les éléments qui pourraient affecter les résultats de l'analyse. Il est recommandé de tester de temps à autre un matériel imitant les échantillons de patients, afin d'augmenter la confiance que l'on peut apporter à la justesse et à fiabilité de ces résultats d'analyse.



Dans certains cas, ces contrôles intégrés sont considérés comme contrôles internes.

Contrôles traditionnels

Les matériels de contrôle traditionnels sont faits pour imiter les échantillons de patients et ils sont analysés en parallèle aux échantillons de patients pour évaluer la composante analytique. Les contrôles positifs ont une réactivité connue et les contrôles négatifs sont non réactifs à l'analyte testé. Les contrôles devraient avoir la même composition que les échantillons de patient, avec la même la viscosité, turbidité et couleur pour évaluer correctement la performance de l'analyse. Les matériels de contrôle sont souvent lyophilisés quand ils sont reçus et nécessitent d'être soigneusement reconstitués avant

d'être utilisés. Certains fabricants peuvent fournir ces contrôles avec leurs kits d'analyse, mais plus fréquemment ils doivent être achetés séparément.

Les contrôles traditionnels évaluent plus largement le processus d'analyse que les contrôles intégrés. Ils évaluent l'intégrité de tout le système d'analyse, l'adéquation de l'environnement d'analyse (température, humidité, espace de travail), et si la personne réalise l'analyse correctement.

Des contrôles positifs et négatifs sont recommandés pour beaucoup d'analyses qualitatives et semi quantitatives utilisant des colorants spécifiques, des réactifs spécifiques ainsi que les tests en « point final » (tests d'agglutination ou ceux utilisant un changement de couleur). Ces contrôles devraient normalement être utilisés à chaque analyse. L'utilisation de contrôles permettra aussi de valider un nouveau lot de kits d'analyse ou de réactifs, de vérifier la température des lieux de stockage et d'analyse et d'évaluer le processus lorsque de nouvelles personnes réalisent les analyses.

Lors de l'utilisation de contrôles pour des analyses qualitatives ou semi quantitatives, les points à garder à l'esprit sont :

- Matériels de contrôle de même composition que les échantillons des patients;
- Utiliser un contrôle positif et négatif, de préférence une fois par jour, ou au moins aussi souvent que le fabricant le préconise;
- Choisir des contrôles positifs qui sont proches de la valeur limite de l'analyse, pour être certain que les réactions faiblement positives seront détectées;
- Pour les procédures d'agglutination, inclure un contrôle faiblement positif ainsi qu'un contrôle négatif et un contrôle fortement positif;
- Pour les analyses comportant une phase d'extraction, comme les tests rapides de diagnostic des Streptocoques du groupe A, choisir des contrôles qui sont en mesure de détecter les erreurs dans le processus d'extraction.

Cultures de collection

Le contrôle qualité en microbiologie requiert l'utilisation d'organismes de contrôle vivants, comportant des réactions prévisibles pour vérifier que les couleurs, les réactifs et les milieux fonctionnent et réagissent correctement. Ces contrôles doivent être facilement disponibles et conservés correctement, à la fois sous la forme de souches congelées et de souches de travail. Pour chaque réaction, les différents organismes présentant soit des résultats positifs soit des résultats négatifs devraient être testés.

Les organisations suivantes offrent des souches de référence, qui sont disponibles chez des distributeurs locaux:

- ATCC — American Type Culture Collection (Etats-Unis d'Amérique)
- NTCC — National Type Culture Collection (Royaume Uni)
- CIP — Collection de l'Institut Pasteur (France).

Les souches de référence achetées sont en général lyophilisées et gardées au réfrigérateur. Une fois reconstituées,ensemencées et leur pureté vérifiée, elles peuvent être utilisées comme cultures pour le contrôle de qualité.

Certains laboratoires peuvent choisir d'utiliser des souches de leurs propres laboratoires pour le CQ. Dans ce cas, elles devraient être contrôlées attentivement pour vérifier que les réactions obtenues perdureront dans le temps.

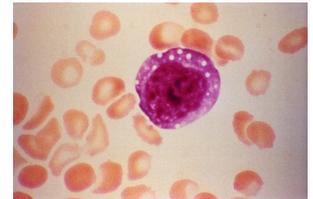
Fiche Contenu 8-3 : Contrôle Qualité des colorants

Procédures utilisant des colorants

Les colorants sont nécessaires dans de nombreuses procédures qualitatives ou semi quantitatives, pour évaluer au microscope la morphologie des cellules, des parasites, ou des microbes ou pour déterminer leur présence ou leur absence. Ils sont utilisés fréquemment en hématologie, pour les analyses d'urine, en cytologie, microbiologie, parasitologie mais aussi dans d'autres domaines.

En microbiologie, les colorants permanents tels que l'acridine orange, le trichrome ou le mélange fer/hématoxyline pour les parasites des selles ou le Giemsa pour le paludisme, sont fréquemment utilisés.

Les colorations de Gram sont utilisées pour identifier des bactéries et des levures provenant de colonies et d'échantillons. La coloration des bacilles acido alcool résistants est particulièrement importante pour le diagnostic préliminaire de la tuberculose, la croissance des mycobactéries se faisant sur plusieurs semaines. Dans de nombreux sites, les cultures de *Mycobacterium tuberculosis* ne sont pas disponibles et la coloration de Ziehl-Nielsen servira de diagnostic final pour le patient. Pour les montages humides entre lames et lamelles, des solutions iodées (lugol) sont utilisées pour détecter les kystes et les oeufs dans les échantillons de selles et des préparations à bas d'hydroxyde de potassium pour les éléments fongiques.



L'examen d'un frottis sanguin nécessite un colorant permettant une visualisation claire des globules rouges, des globules blancs, des plaquettes et des inclusions intracellulaires. La formule leucocytaire se fait en général avec le colorant de Wright ou avec la coloration de May-Grünwald-Giemsa dans les pays francophones. Certaines procédures utilisent des colorants spécifiques pour aider à différencier une infection d'une leucémie.

Les analyses cytologiques et histologiques requièrent une grande variété de colorants qui fournissent de précieuses informations pour le diagnostic. Beaucoup d'autres colorants sont à la disposition du personnel pour certaines analyses spécialisées.

Les éléments du CQ sont les mêmes : les colorants devraient être préparés et stockés de façon correcte afin d'être certain qu'ils réagissent comme ils le devraient. Rappelez-vous aussi que de nombreux examens critiques pour le diagnostic de nombreuses maladies sont basés sur une technique de coloration microscopique.

Gestion des colorants

Certains colorants peuvent être achetés dans le commerce, mais d'autres doivent être préparés au laboratoire, en suivant une procédure établie. Une fois les colorants préparés, les flacons doivent être étiquetés avec les informations suivantes :

- Nom du colorant ;
- La concentration ;

- La date de préparation ;
- La date de la première utilisation ;
- La date de péremption ;
- Les initiales du préparateur.

Il peut être utile de conserver un carnet pour enregistrer les informations concernant chaque colorant utilisé, en incluant le numéro de lot et la date de réception. La date de péremption doit être inscrite sur l'étiquette. Certains colorants se détériorent et perdent leurs qualités de coloration.

Les colorants devraient être conservés à la température préconisée et dans un flacon approprié. Certains colorants doivent être protégés de la lumière. Dans certains cas, les solutions de travail peuvent être préparées à partir de solutions mères concentrées. Dans ce cas, le stockage des solutions de travail doit être soigneusement contrôlé.

Contrôle qualité

A cause de leur importance, les colorants devraient être vérifiés quotidiennement, en utilisant des contrôles positifs et négatifs pour s'assurer que les colorants sont actifs et fournissent les résultats attendus. Dans la plupart des cas, les contrôles positifs et négatifs devraient être colorés en parallèle à chaque lot de lames de patients. Tous les résultats du contrôle de qualité doivent être enregistrés chaque fois qu'ils sont réalisés.

Les colorants devraient aussi être examinés pour rechercher une éventuelle précipitation ou la formation de cristaux et pour vérifier la présence ou non d'une contamination bactérienne. Une maintenance soignée et une grande attention apportée aux solutions mères et à celles de travail est essentiel afin d'assurer une bonne qualité des examens microscopiques.

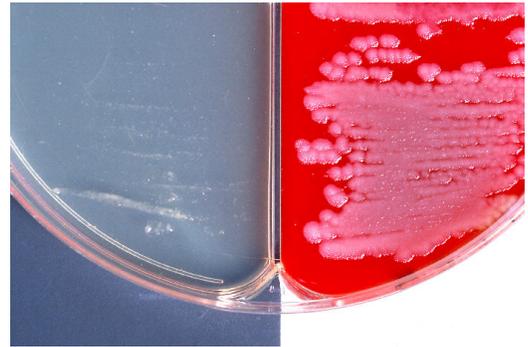


Gardez à l'esprit que de nombreux colorants sont toxiques, par conséquent prendre les mesures de précautions appropriées lors de leur utilisation.

Fiche Contenu 8-4 : CQ des milieux de culture

Le CQ est essentiel pour les milieux de culture

La qualité des milieux de culture utilisés en microbiologie au laboratoire est cruciale pour obtenir des résultats optimaux et fiables. Certains milieux de culture sont essentiels pour isoler certains microbes, il est donc impératif qu'ils fonctionnent comme prévu. Les procédures de contrôle de qualité permettent de s'assurer que les milieux n'ont pas été contaminés avant leur utilisation et qu'ils permettent la croissance de l'organisme avec lequel ils ont été ensemencés.



Vérifier les performances

Les performances de tous les milieux utilisés au laboratoire doivent être vérifiées par des méthodes de contrôle de qualité appropriées. Pour les milieux préparés sur place (au labo), cette évaluation doit être conduite pour chaque lot préparé ; pour ceux disponibles commercialement, la vérification des performances sera réalisée pour chaque nouveau numéro de lot.

Dans tous les cas, les points suivants des milieux préparés sur place ou achetés devraient être soigneusement vérifiés :

- La stérilité — incubation d'une journée avant utilisation ;
- L'apparence — vérifier la turbidité, la sécheresse, la régularité de la surface, une couleur anormale ;
- Le pH ;
- La fertilité — en utilisant des souches de collection ;
- La capacité à produire des résultats biochimiques appropriés — en utilisant des souches de collection.

Utilisation de souches de collection pour vérification

Le laboratoire doit maintenir un nombre souches suffisant permettant la vérification de tous les milieux de culture et des systèmes d'analyses. Voici quelques exemples de souches importantes et des milieux de culture qu'elles contrôlent :

- *Escherichia coli* (ATCC #25922): milieux MacConkey ou EMB (éosine-bleu de méthylène), utilisés aussi pour l'antibiogramme.
- *Staphylococcus aureus* (ATCC #25923): gélose au sang, milieux hypersalés (Chapman, mannitol-sel), utilisés aussi pour l'antibiogramme.
- *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC# 49226): gélose au sang cuit (« chocolat ») et Thayer-Martin agar.

Pour les milieux sélectifs — testez avec une souche de contrôle devant être inhibée et

une devant pousser normalement. Mettez de côté tout lot qui ne donne pas les résultats attendus.

Pour les milieux différentiels — ensemencez le milieu avec des souches de contrôle devant montrer les réactions attendues. Par exemple, ensemencez des souches qui fermentent le lactose et des souches qui ne fermentent pas le lactose sur un milieu EMB ou MacConkey pour vérifier que l'apparence visuelle des colonies est correcte.

Note: le sang de mouton ou de cheval est généralement utilisé lors de la préparation des milieux pour les analyses de routine. La gélose au sang humain ne devrait pas être utilisée car elle ne montrera pas les formes correctes d'hémolyse pour l'identification de certaines souches et peut aussi contenir des substances inhibitrices. De plus, le sang humain peut présenter des risques biologiques.

Registres des milieux préparés au labo

Il est important de conserver soigneusement des registres pour les milieux qui sont préparés au laboratoire. Un carnet devrait être disponible, contenant les informations suivantes :

- Date et nom du préparateur ;
- Nom du milieu, numéro de lot et fabricant ;
- Nombre de boîtes, tubes, flacons préparés ;
- Numéro de lot assigné ;
- Couleur, consistance et apparence ;
- Nombre de boîtes utilisées pour le CQ ;
- Résultats des tests de stérilité sur 24 et 48h ;
- Test(s) de fertilité ;
- pH.

Fiche Contenu 8-5 : Résumé

Analyses donnant des résultats non numériques

Les analyses qualitatives et semi quantitatives sont celles qui donnent des résultats non numériques. Les analyses qualitatives mesurent la présence ou l'absence d'une substance, ou évaluent des caractéristiques cellulaires telles que la morphologie. Les analyses semi quantitatives fournissent une estimation de la quantité présente de la substance mesurée.

Les analyses qualitatives et semi quantitatives doivent être contrôlées par des processus de contrôle qualité. Ces processus devraient utiliser des contrôles qui imitent les échantillons de patients autant que possible. Les contrôles qualité qui vérifient les kits, les réactifs, les colorants et les milieux de culture et qui assurent que ces derniers réagissent comme ils le devraient, doivent être utilisés chaque fois qu'ils sont disponibles.

Le laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité pour toutes ses analyses qualitatives et semi quantitatives. En établissant ce programme, mettez en œuvre des lignes de conduite, formez le personnel, assignez les responsabilités et assurez vous que toutes les ressources nécessaires sont disponibles. Assurez vous que toutes les données du contrôle qualité sont enregistrées et que ces informations sont revues par le responsable qualité et le directeur du laboratoire.

Messages clefs

- Les méthodes et procédures du contrôle qualité doivent être respectées par tout le personnel.
- Toujours enregistrer les résultats du contrôle qualité et les actions correctives entreprises.
- **Si les résultats du CQ ne sont pas acceptables, ne pas rendre les résultats.**