

CAHIER DE

# Formation

Biologie médicale

N° 06

septembre 96

**GUIDE DE BONNE EXECUTION  
DES ANALYSES MEDICALES**

**- PROCEDURES -**



CAHIER DE

# Formation

## Biologie médicale



Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE MEDICALE en FRANCE.

]

TOUT LE CONTENU DE CE FICHER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.  
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

]

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schémas et photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront poursuivies devant les tribunaux compétents.

]

Seule une impression pour une copie personnelle ( étudiant, interne, biologiste de labm ) est permise.





Mon cher Confrère,

Les textes réglementaires du Guide de Bonne Exécution des Actes de Biologie ont été publiés au Journal Officiel du 4 décembre 1994.

Dès 1995 nous avons mis en place un programme de formation au GBEA.

Entièrement gratuites ces formations ont permis à plus de trois mille confrères de s'initier à cette nouvelle discipline qui est en même temps une ardente obligation pour satisfaire aux exigences de qualité de notre pratique.

En 1996 nous avons complété ces formations initiales par des actions de consolidations qui rencontrent également un grand succès.

Malheureusement tous n'ont pas pu suivre cette formation pourtant largement ouverte.

Pour aider l'ensemble de la profession, actuelle et à venir, nous avons décidé l'édition d'un cahier de formation "SPECIAL GBEA" qui reprend l'essentiel des dispositions à mettre en œuvre pour satisfaire au texte légal.

~~Des disquettes informatiques permettront une gestion aisée des procédures, évitant les EPUISEES gnantes, facilitant ainsi les additions et les mises à jour inévitables en fonction des changements de techniques, de réactifs, d'équipements, de procédures d'étalonnage et de contrôle, sur les plateaux techniques.~~

Vous disposerez ainsi d'un instrument de référence, d'un guide pratique, très utile pour vous assurer de la conformité de votre laboratoire aux obligations réglementaires.

Nous vous prions d'agréer, Cher Confrère, nos cordiales salutations.

Adrien BEDOSSA  
Président

# **GUIDE DE BONNE EXÉCUTION DES ANALYSES MÉDICALES**

## **-PROCÉDURES-**

Claude NAUDIN  
Biologiste hospitalier  
Hôpital de Bligny

Xavier PALETTE  
Assistant-Biologiste  
Service de Biochimie  
Hôpital de Versailles

Toute reproduction, même partielle, ne peut être faite  
qu'après autorisation des auteurs et de Bioforma.

## **P R O C É D U R E S D ' O R G A N I S A T I O N**

**P01 : Procédure opératoire générale d'organisation du laboratoire**

**P02 : Procédure opératoire générale d'organigramme du laboratoire**

**P03 : Procédure opératoire générale de gestion**

P03Q : Gestion des contrôles de qualité

P03C1 : Gestion des commandes (réactifs et consommables)

P03C2 : Consignes de stockage

P03F1 : Gestion des factures (réactifs et consommables)

P03F2 : Gestion des factures des sous-traitants

P031 : Gestion du système informatique

P03SA : Gestion des statistiques d'activité

**P04 : Procédure opératoire générale d'entretien des locaux**

**P05 : Procédure opératoire générale de sécurité et d'hygiène**

**P06 : Procédure opératoire générale d'élimination des déchets**

**P07 : Procédure opératoire générale d'archivage**

**P08 : Procédure opératoire générale de cryoconservation**

**P09 : Procédure opératoire générale d'établissement d'un contrat**

**P010 : Procédure opératoire générale de modification d'une procédure**

# **P R O C É D U R E S**

## **D E F O N C T I O N N E M E N T**

**PF 1 : Procédure opératoire générale de fonctionnement du laboratoire**

**PF2 : Procédure opératoire générale de prélèvements des spécimens**

**PF3 : Réception des spécimens et des demandes d'examens**

PF3AM : Analyses maintenues au laboratoire

PF3AT : Analyses transmises à l'extérieur

**PF4 : Procédure de fonctionnement et d'utilisation d'un appareillage**

PF4A1 : Exemple du Stratus

PF4A2 : Exemple de l'IL 1650

PF4PM1 : Exemple d'une centrifugeuse

PF4M2 : Exemple d'un autoclave vertical

**PF5A : Procédure opératoire générale de maintenance d'un appareillage**

**PF6 : Procédure opératoire générale de conduite d'une analyse**

PF6Aq1 : Cas d'une analyse quantitative

PF6Aq1.1 : Cas du Stratus

PF6Aq2 : Cas d'une analyse qualitative

PF6Aq2.1 : Recherche des anticorps VHC

Aq2.1.1. : IMx HCV

Aq2.1.2 : Monalisa

Aq2.1.3 : Innolia HCV Ab III

PF6Aq2.2 : Recherche du virus HCV par PCR

PF6Aq2.3. :Génotypage du virus HCV

PF6Aq2.4 : Analyse d'un liquide céphalo-rachidien

**PF7 : Procédure opératoire générale de validation biologique**

**PF8 : Comptes-rendus des analyses**

# INTRODUCTION

*Les procédures présentées dans ce répertoire sont classées en deux grands groupes :*

- celui des procédures générales, liées à l'organisation du laboratoire, dix procédures numérotées « PO » sont proposées.*
- celui des procédures liées au fonctionnement du laboratoire, huit sont individualisées, numérotées « PF ».*

*À titre d'exemple, plusieurs d'entre elles sont totalement rédigées ; de même, des modes opératoires normalisés (fiches annexes) sont également présentés.*

*Toutes ces procédures sont conçues de façon standardisées et présentées sous la forme de plans détaillés. Une fois adaptées au laboratoire et complètement rédigées, elles constituent la preuve de l'engagement de ce laboratoire dans une démarche d'assurance de la qualité.*

*Le principe de l'exploitation informatisée est fort simple.*

*Chaque plan de procédure sert de masque informatique, permettant ainsi après avoir rédigé le texte de la procédure, de le sauvegarder sous ses noms et numéros propres, tandis que le masque vierge peut servir à la rédaction d'une nouvelle procédure du même groupe, et ainsi de suite de façon itérative.*



# Procédure opératoire générale d'organigramme du laboratoire – P01

Objet : Procédures opératoires d'organisation du laboratoire

Rédigée le :                      Nom :                      Fonction :

Validée le :                      Nom :                      Fonction :

Procédure opératoire N° P01

## P02: Organigramme du laboratoire

- P02SP : Secteurs d'activité et personnels
- P02AA :
  - Liste des analyses exécutées (par secteur d'activité)
  - Liste des appareils en fonctionnement (date d'achat, contrat de maintenance)
  - Liste des autres matériels
- P02JO : Chronologie des publications officielles

## P03 : Procédures générales de gestion

- P03Q : Gestion des contrôles de qualité
  - P03QI : Contrôle de qualité interne
  - P03QE : Évaluation externe de la qualité
- P03C : Gestion des commandes de réactifs et consommables
  - P03C1 : Commandes et abonnements (liste des produits, bons de commande, bons de livraison, réception, date, contrôle)
  - P03C2 : Consignes de stockage
- P03F : Gestion des factures
  - P03F1 : Factures de réactifs et matériaux de contrôle (tenue d'un registre des factures, procédure informatisée, répartition par secteur d'activité)
  - P03F2 : Factures des laboratoires sous-traitants
- P03I : Gestion du système informatique
  - Informatique centrale : caractéristiques générales et architecture, schéma descriptif
  - Terminaux de validation. Procédure de dépannage
  - Chronologie des informations installées et des modifications
  - Dispositifs de sécurité
- P03SA : Gestion des statistiques d'activité - Comptabilité analytique

## P04 : Entretien général des locaux

## P05 : Procédure générale de sécurité et d'hygiène

- P05SH1 à P05SHn, selon le nombre des secteurs d'activité

P06 : Procédure générale d'élimination des déchets

P07 : Procédures d'archivage : recommandations de conservation : lieux adaptés, confidentialité

- P07A1 : Relevé chronologique en lettre-clé des analyses effectuées et transmises (10 ans, cf. P03I)
- P07A2 : Relevé chronologique des résultats nominatifs des analyses effectuées (10 ans, cf. P03I)
- P07A3 : Relevé chronologique des résultats de l'évaluation externe de la qualité (PO3QE) et des mesures correctives éventuelles apportées (5 ans)
- P07A4 : Relevé chronologique des résultats du contrôle de qualité interne (P03QI) ainsi que celui des mesures correctives éventuelles apportées (3 ans)
- P07A5 : Relevé chronologique des procédures opératoires (PO + PF, pendant 3 ans)
- P07A6 : Relevé chronologique des bordereaux et contrats concernant l'évacuation des déchets contaminés (3 ans)
- P07A7 : Relevé des documents relatifs à la maintenance des instruments et aux consommables pendant la durée d'utilisation du matériel (cf. PF4 et PF5)
- P07A8 : Tous documents et classeurs, livres de laboratoire (20 ans)

P08 : Procédures de cryoconservation des spécimens

- P08SG : Sérothèque générale du laboratoire
- P08ST : Sérothèque spécifique à la sécurité transfusionnelle et au suivi des patients

P09 : Procédure des contrats de collaboration

P010 : Procédure de modification d'une procédure

Modifications de procédures

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# **Procédure opératoire générale d'organigramme du laboratoire - PO2**

## **Secteurs d'activité et personnels - PO2SP**

### **I - LES SECTEURS D'ACTIVITÉ**

#### **I.1. SECTEURS GÉNÉRAUX, NOMBRE DE PERSONNES/SECTEUR**

#### **I.2 SECTEURS SPÉCIFIQUES, NOMBRE DE PERSONNES/SECTEUR**

### **II - LES PERSONNELS**

#### **II.1 PERSONNEL D'ENCADREMENT (LISTE ET FONCTION)**

#### **II.2 PERSONNEL TECHNIQUE (LISTE ET DIPLÔMES)**

#### **II.3 AUTRES PERSONNELS**

#### **II.4 PERSONNEL RESPONSABLE DU SYSTÈME AQ**

#### **II.5 GESTION DU PLANNING DES PRÉSENCES**

## **Analyses et appareils en fonctionnement - PO2AA**

### **I - LISTE DES ANALYSES PRISES EN CHARGE PAR LE LABORATOIRE**

### **II - LISTE DES MATÉRIELS FONCTIONNELS AU LABORATOIRE**

## **Liste chronologique des lois, décrets et arrêtés concernant la biologie - PO2JO**

# Procédure opératoire générale d'organigramme du laboratoire - PO2

Objet : Description de l'organigramme du laboratoire		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO2		

## Secteurs d'activité et personnels - PO2SP

### ■ I. LES SECTEURS D'ACTIVITÉ

---

#### I.1 - Secteurs généraux, nombre de personnes/secteur

- Secrétariat
- Salle de prélèvements
- Laverie
- Stockage des consommables non cryoconservés
- Site de cryoconservation
- Stockage du matériel d'entretien
- Vestiaires

#### I.2- Secteurs spécifiques, nombre de personnes/secteur

- Bactériologie et microbiologie
- Biochimie et Hormonologie
- Hématologie et Hémostase
- Immunologie et Sérologie

### ■ II. LES PERSONNELS

---

#### II.1- Personnel d'encadrement (liste et fonction)

#### II.2- Personnel technique (liste et diplômes)

#### II.3- Autres personnels :

- Secrétaires
- Personnel d'aide technique et personnel d'entretien

## II.4- Personnel responsable du système AQ

## II.5- Gestion du planning des présences

### Analyses et appareils en fonctionnement - PO2AA

#### ■ I. LISTE DES ANALYSES PRISES EN CHARGE PAR LE LABORATOIRE

---

#### ■ II. LISTE DES MATÉRIELS FONCTIONNELS AU LABORATOIRE

---

- Nom, affectation
- Date d'achat
- Existence d'un contrat de réactifs et consommables : oui non
- Existence d'un contrat de maintenance : oui non

### Liste chronologique des lois, décrets et arrêtés concernant la biologie - PO2JO

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :                            Fonction :

Approuvée le :        Nom :                            Fonction :

Communiquée le :    à :                                Par :



## Procédure opératoire générale de gestion - PO3

Objet : Procédures opératoires de gestion du laboratoire		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO3		

### PO3 : Procédures générales de gestion

#### - PO3Q : Gestion des contrôles de qualité

- PO3QI : Contrôle de qualité interne
- PO3QE : Évaluation externe de la qualité

#### - PO3C : Gestion des commandes de réactifs et consommables

- PO3C1 : Commandes et abonnements (liste des produits, bons de commande, bons de livraison, réception, date, contrôle)
- PO3C2 : Consignes de stockage

#### - PO3F : Gestion des factures

- PO3F1 : Factures de réactifs et matériaux de contrôle (tenue d'un registre des factures, procédure informatisée, répartition par secteur d'activité)
- PO3F2 : Factures des laboratoires sous-traitants

#### - PO3I : Gestion du système informatique

- Informatique centrale : caractéristiques générales et architecture, schéma descriptif
- Terminaux de validation. Procédure de dépannage
- Chronologie des informations installées et des modifications
- Dispositifs de sécurité

#### - PO3SA : Gestion des statistiques d'activité - Comptabilité analytique

#### Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire générale : gestion des contrôles de qualité - PO3Q

## **I -CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE : PO3QI**

A) Références des spécimens de contrôle

B) Mode d'emploi

C) Mode d'utilisation

D) Exploitation des résultats

*Exploitations graphiques*

*Mesures correctives en cas de dysfonctionnement*

E) Procédure alternative

## **II -ÉVALUATION EXTERNE DE LA QUALITÉ - PO3QE**

A) Contrôle de qualité externe volontaire

B) Évaluation externe obligatoire et nationale de la qualité

# Procédure opératoire générale : gestion des contrôles de qualité - PO3Q

Objet : Procédure opératoire de gestion des contrôles de qualité

Rédigée le :                      Nom :                      Fonction :

Validée le :                      Nom :                      Fonction :

Procédure opératoire N° PO3Q

## ■ I. CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE: PO3OI

---

### A) Références des spécimens de contrôle

*1 - Poste de travail concerné*

*2 - Nature du spécimen*

- Origine du produit, état (lyophilisé ou liquide)
- Conditionnement (flacon, ampoule)

*3 - Nom du spécimen et nombre de niveaux de contrôle (1, 2 ou 3)*

*4 - Nom et adresse du fournisseur*

*5 - Date de réception inscrite sur le bon de livraison et sur l'emballage*

*6 - Lieu de stockage et date de péremption*

### B) Mode d'emploi

*1 - Spécimens prêts à l'emploi ou prétraitement nécessaire*

*2 - Existence d'une fiche technique dans le coffret (oui - non)*

*3 - Sinon, décrire la technique de reconstitution et indiquer :*

- le délai d'attente avant utilisation
- les conditions de conservation après reconstitution
- la date de péremption

### C) Mode d'utilisation

Il doit être conforme aux protocoles spécifiques mis en place dans le laboratoire, et en relation avec la procédure opératoire de l'appareillage et/ou de l'analyse concernés.

Le mode d'utilisation doit donc notamment décrire :

1 - Le positionnement dans l'appareil selon qu'il s'agit d'un emplacement préétabli ou non

2 - La fréquence et les moments de passage au cours de la journée

3 - Le nombre et les niveaux de contrôle concernés

4 - La fréquence de renouvellement des spécimens de contrôle (risque de concentration par évaporation, risque de contamination inter-échantillon)

Le mode d'utilisation doit également faire figurer :

5 - La date de mise en oeuvre et le numéro du lot concerné

6 - Les valeurs cibles et les zones de tolérance

7 - Le support sur lequel sont transcrits les résultats (informatique ou papier, liste de résultats ou graphiques, etc.) et l'archivage selon la procédure P07A3

D) Exploitation des résultats

1) *Exploitations graphiques*

a) Compilation graphique chronologique par niveau :

Pour débiter ce type d'exploitation, chaque jour les valeurs observées sont portées sur un diagramme de Levey-Jenning, caractérisé par un trait horizontal définissant la valeur cible et une zone de tolérance définie par les intervalles  $\pm 2$  et  $\pm 3$  écart-type autour de cette valeur (cf. paragraphe C6).

Lorsque 30 données sont disponibles, les calculs de la moyenne et de la dispersion autour de cette moyenne (ou écart type) permettent au laboratoire le suivi de sa propre reproductibilité.

b) Compilation graphique simultanée (à deux niveaux)

La construction de deux diagrammes orthonormés définissant la moyenne  $\pm 2$  écart-type pour chaque niveau de contrôle permet d'établir un graphique de Youden dont chaque point est la résultante de deux coordonnées (niveau «bas» et niveau «élevé»)

2) *Mesures correctives en cas de dysfonctionnement*

Dès lors qu'une ou plusieurs valeurs sont écartées de la zone de fluctuation tolérée, une procédure doit indiquer clairement la succession des actions à entreprendre :

a) Vérification de la valeur observée par une nouvelle mesure du spécimen

b) Vérification de la procédure de préparation (volume de reconstitution, température, délai d'attente) et de la procédure de conservation

c) Invalidation de la série des mesures effectuées en aval et/ou en amont

d) Recherche des causes analytiques pouvant expliquer cette déviance en étudiant notamment :

- Les valeurs observées pour les autres niveaux du même contrôle
- La validité de la courbe de calibrage éventuelle
- La valeur de la moyenne obtenue avec les spécimens de patients (moyenne dite «des patients normaux»). Elle sera judicieusement comparée à celle observée dans la série immédiatement précédente ou dans une série choisie de façon aléatoire, les valeurs des niveaux de contrôle étant à ce moment satisfaisantes.
- La qualité du système analytique, en se reportant aux procédures spécifiques de bon fonctionnement, de bonne utilisation et de maintenance de l'appareillage et de l'analyse concernés.

E) Procédure alternative

Cette procédure définit l'attitude à suivre lorsque du fait des conclusions tirées de l'exploitation du contrôle de qualité interne, une technique d'analyse et/ou un appareillage sont écartés pour un temps du fonctionnement du laboratoire.

Cette procédure décrit notamment :

- Le devenir des spécimens biologiques en attente

- La mise en œuvre d'une autre technique - La transmission à un confrère
- Les conséquences

Il faut de plus :

- Établir la liste des personnes à prévenir
- Mettre en œuvre le traitement nécessaire des prélèvements
- Déclencher la mise en route d'un second appareillage
- Effectuer un appel au service après-vente pour l'analyseur concerné si nécessaire
- Consigner sur les documents correspondants :
  - La défaillance du contrôle de qualité
  - Les attitudes correctives décidées
  - L'incident ou la panne survenus sur l'appareil concerné et les gestes correctifs entrepris (maintenance immédiate, changement d'une pièce, intervention du SAV par téléphone ou sur place)
  - Remettre en état de fonctionnement l'appareil concerné conformément à sa procédure opératoire.

## ■ II. ÉVALUATION EXTERNE DE LA QUALITÉ - PO3QE

---

### A) Contrôle de qualité externe volontaire

Tout laboratoire peut s'inscrire à un programme régional, national ou international d'évaluation de la qualité. Ce programme est généralement mis en place par un organisme privé (Association Régionale, Fondation, etc.).

Les paragraphes IA, B et C peuvent s'appliquer à la présente procédure.

L'organisme se charge de l'exploitation de l'ensemble des données à partir des résultats trouvés et transmis par chaque laboratoire, qui reçoit en retour pour une période de temps déterminée l'ensemble des informations relatives aux analyses concernées par ce programme. Le laboratoire peut ainsi situer sa propre prestation et la comparer aux autres données disponibles.

Il appartient à chaque laboratoire de tirer les conclusions et conséquences éventuelles en mettant en œuvre tout ou partie des § D2 et E de la précédente procédure PO3QI.

### B) Évaluation externe obligatoire et nationale de la qualité

Pour chaque discipline ou ensemble de disciplines biologiques l'Agence du Médicament transmet, en général 4 fois dans une année civile, à chaque laboratoire régulièrement enregistré, un ou plusieurs spécimens qu'il convient d'analyser suivant les instructions données sur le document joint à l'envoi. Les éléments suivants peuvent entrer dans la procédure particulière choisie et mise en place par chaque laboratoire pour recevoir et traiter chacun de ces envois

- À la réception de l'envoi :
  - Noter la date d'envoi et la date de réception
  - Photocopier le document contenant l'ensemble des instructions à suivre
  - Photocopier le bordereau de résultats
- Transmission des spécimens aux postes de travail concernés accompagnés des documents associés (instructions et bordereau de résultats)
- Après analyse et validation des résultats selon les procédures opératoires concernées existantes dans le laboratoire :
  - Inscrire les résultats sur le bordereau
  - Veiller à supprimer tout risque d'erreur de recopiage ou de codage

- Photocopier le bordereau de résultats pour archivage selon la procédure PO7A4
  - Adresser l'original dans l'enveloppe jointe à cet effet en ayant apposé au préalable le code d'identification du laboratoire
- À la réception du compte-rendu, veiller à organiser :
- L'information du personnel concernant ces résultats
  - L'étude et l'analyse des résultats
  - La mise en place des mesures correctives
  - L'information concernant les décisions prises et les résultats obtenus après leur mise en oeuvre

Pour tout ou partie de cette organisation, il peut être utile de se reporter aux paragraphes IC, D ou E de la précédente procédure PO3QI

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# **Procédure opératoire générale de gestion des commandes de réactifs et consommables - PO3C1**

## **I - GESTION DES COMMANDES DE RÉACTIFS**

- A) Création d'un bon de commande
- B) Organisation d'un abonnement
- C) Mise en place d'un inventaire et suivi d'inventaire

## **II - COMMANDE DE CONSOMMABLES**

## **III - RÉCEPTION AU LABORATOIRE**

- A) Des produits commandés
- B) Des factures

# Procédure opératoire générale de gestion des commandes de réactifs et consommables - PO3C1

Objet : Commandes et abonnements

Rédigée le :

Nom :

Fonction :

Validée le :

Nom :

Fonction :

Procédure opératoire N° PO3C1

## ■ I. GESTION DES COMMANDES DE RÉACTIFS

---

### A) Création d'un bon de commande

- Nom du laboratoire – Directeur
- Date
- Adresse
- N° de téléphone et N° de fax - N° de compte client
- Nom et adresse du destinataire
- Liste des produits commandés :
  - Références catalogue
  - Quantité
- Conditions de facturation
- Délai de livraison: urgence éventuelle
- Signataire du bon de commande
- Commande établie et/ou confirmée :
  - Par courrier
  - Par téléphone
  - Par fax
- Double conservé au laboratoire (archivage dans le registre des commandes)

### B) Organisation d'un abonnement

- Entrevue avec responsable commercial
- Réajustage prévisionnel des quantités - Fréquence des livraisons
- Proposition écrite d'abonnement chiffrée donnant lieu à acceptation
- Archivage dans le registre des abonnements

### C) Mise en place d'un inventaire et suivi d'inventaire

Ils s'effectuent au niveau des différents secteurs d'activité afin d'éviter toute rupture de stock, en particulier dans la configuration hors abonnement.

## ■ II. COMMANDE DE CONSOMMABLES

---

Appel d'offre annuel :

- Entrevue avec responsable commercial
- Propositions de contrat
- Décision prise
- Archivage des contrats dans le registre correspondant

Se reporter aux § IA, B ou C de la présente procédure.

## ■ III. RÉCEPTION AU LABORATOIRE

---

A) Des produits commandés

- Vérification des bons de livraison : conformité avec le bon de commandé
- Vérification des produits livrés : conformité avec le bon de livraison
- Litiges
- Date sur les emballages
- Stockage : se reporter à la procédure opératoire PO3C2

B) Des factures

Se reporter à la procédure opératoire générale PO3F1.

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :                            Fonction :

Approuvée le :        Nom :                            Fonction :

Communiquée le :    à :                              Par :



**Procédure opératoire générale :**  
**consignes de stockage des réactifs de laboratoire,**  
**matières premières et consommables - PO3C2**

- I - CARACTÉRISTIQUES DES ZONES DE STOCKAGE**
- II - STOCKAGE DES RÉACTIFS DE LABORATOIRE**
- III - STOCKAGE DES CONSOMMABLES**
- IV - STOCKAGE DES MATIÈRES PREMIÈRES : ZONE PARTICULIÈRE OBLIGATOIRE**

# Procédure opératoire générale : consignes de stockage des réactifs de laboratoire, matières premières et consommables - PO3C2

Objet : Procédure opératoire générale des consignes de stockage		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO3C2		

## I. CARACTÉRISTIQUES DES ZONES DE STOCKAGE

---

Celles-ci sont différentes des zones affectées à la conservation des échantillons biologiques.

À chaque zone on peut attribuer une lettre alphabétique et/ou un numéro.

Prévoir obligatoirement :

- Une zone à part (enceinte ou compartiment distinct) pour les matières premières et les réactifs ou produits potentiellement dangereux
- Au moins deux zones de température différente :
  - Température ambiante
  - Zone réfrigérée : chambre froide, réfrigérateur(s) et congélateur(s). Indiquer les différentes températures.

Etablir une liste des produits disponibles par zone de stockage :

- L'afficher sur le lieu de stockage
- La conserver dans un registre général

Prévoir des mesures de prévention des risques :

- Mentionner sur l'emballage les éventuels caractères toxiques, corrosifs ou irritants : suivre les recommandations des fiches de données de sécurité théoriquement fournies par le fabricant.
- Afficher les précautions particulières à observer s'il y a lieu

Une PO précise les mesures à prendre en cas d'incident avec un produit dangereux (cf. procédure d'hygiène et de sécurité, PO5)

## II. STOCKAGE DES RÉACTIFS DE LABORATOIRE

---

Plusieurs listes alphabétiques peuvent être établies :

- Liste générale des réactifs disponibles
- Liste par zone de stockage (à température ambiante et réfrigérée)
- Liste par appareillage ou par secteur d'activité

Obligations concernant les réactifs :

- Ils répondent constamment à l'actualisation des connaissances scientifiques et des données techniques
- Ils font l'objet d'un enregistrement à l'Agence du Médicament. Le biologiste doit s'assurer :
  - de la présence du N° d'enregistrement sur l'emballage
  - de la notification de l'enregistrement sur la notice jointe au réactif

- Les conditions de conservation doivent être conformes à celles préconisées par le fabricant (température, péremption, etc.)
- La date de réception au laboratoire des réactifs d'origine industrielle doit être indiquée sur l'emballage. Ranger les réactifs de telle manière que les plus anciens soient les premiers utilisés.
- Pour les réactifs préparés au laboratoire, indiquer leurs noms et les dates de préparation et de péremption.
- Mention particulière sur l'emballage des produits dangereux :
  - corrosif - irritant - toxique

Prévoir un contrôle régulier permettant l'élimination des périmés, selon la procédure correspondante, PO6.

### ■ III. STOCKAGE DES CONSOMMABLES

---

Des listes sont établies sur le modèle de celles des réactifs (cf. § II)

- Liste générale
- Liste par zone de stockage
- Liste par secteur d'activité :
  - Appareillage : le petit matériel indispensable au fonctionnement des appareils doit obligatoirement être conforme aux normes spécifiées par les fournisseurs et utilisé selon l'usage et les modalités prévus.
  - Matériel pour prélèvement
  - Consommables à utilisation multiple + Tubes à hémolyse, godets, boîtes de Pétri, etc.

Un inventaire permanent permettra d'éviter toute rupture de stock et des livraisons ajustées des différents abonnements.

### ■ IV. STOCKAGE DES MATIÈRES PREMIÈRES: ZONE PARTICULIÈRE OBLIGATOIRE

---

Liste des produits disponibles au laboratoire :

- Liquides : acide, hydrocarbure aromatique, alcool, éther, cétone, solvant chloré, aldéhyde, phénol, etc...
- Solides : poudre, cristaux, pastilles
- Gazeux: obus

#### **Cas particulier des matières inflammables ou combustibles**

Se référer aux conditions réglementaires concernant leur :

- Installation, identification
- Détention (quantités limitées)
- Inspection régulière

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire de gestion des factures de réactifs et matériaux de contrôle - PO3F1

Objet : Gestion des factures de réactifs et matériaux de contrôle		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO3F1		

Personnels en charge de cette gestion au laboratoire :

## ■ I. TRAITEMENT DES FACTURES DE RÉACTIFS ET CONSOMMABLES

---

### A) Réception des factures

- Photocopier l'original
- Vérifier la concordance de la facture :
  - Avec le bon de livraison
  - Avec le bon de commande

Ces bons sont conservés dans le classeur « Bons de livraison et de commande ».

Vérifier que la facture est bien destinée au laboratoire. Cette vérification, aussi surprenante qu'elle puisse paraître, est inspirée par le bon sens et l'expérience.

- Si la facturation est correcte :
  - Agrafes les bons de commande et de livraison au dos de l'original de la facture
  - Donner l'ensemble à signer au Chef de Service
- En cas de facturation incorrecte (produits non livrés), rassembler la facture + bon de livraison + bon de commande et contacter le fournisseur
- Conserver le double de la facture au Secrétariat dans le classeur « Factures de l'année en cours ».

### B) Enregistrement des Factures

Répertorier :

- La date d'arrivée de la facture
- Le nom de l'émetteur de la facture
- Le numéro de la facture
- Le nom des articles facturés et leurs références
- L'abonnement le cas échéant
- La somme imputable aux différents secteurs d'activité

### C) Comptabilité

Gestion selon les règles d'organisation comptable propres à chaque laboratoire. Se reporter à la procédure PO3SA.

## ■ II. TRAITEMENT DES FACTURES DES MATÉRIAUX DE CONTRÔLE

---

### A) Réception des factures

- Photocopier l'original
- Vérifier la concordance de la facture :
  - Avec le bon de livraison
  - Avec le bon de commande

Ces bons sont conservés dans le classeur « Bons de livraison et commandes des matériaux de contrôle».

Vérifier que la facture est bien destinée au laboratoire.

- Si la facturation est correcte :
  - Agrafes les bons de commande et de livraison au dos de l'original de la facture
  - Donner l'ensemble à signer au Chef de Service
- En cas de facturation incorrecte (produits non livrés), rassembler la facture + bon de livraison + bon de commande et contacter le fournisseur
- Conserver le double des factures des matériaux de contrôle dans le classeur « Factures de l'année en cours »

### B) Comptabilité

Gestion selon les règles d'organisation comptable propres à chaque laboratoire, selon la procédure PO3SA.

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                      Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                      à :                                      Par :

## Procédure opératoire de gestion des factures des laboratoires sous-traitants - PO3F2

Objet : Gestion des factures des laboratoires sous-traitants		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO3F2		

Personnels en charge de cette gestion au laboratoire :

Traitement des factures des laboratoires sous-traitants

### A) Réception des factures

- Photocopier l'original
- Vérifier la concordance de la facture avec chaque bon de transmission
- Vérifier que l'analyse facturée est bien celle demandée

Ces bons sont conservés dans le classeur « Bons des analyses transmises »

Vérifier que la facture est bien destinée au laboratoire.

- Si la facturation est correcte :
  - Agraffer le bon de transmission à l'original de la facture
  - Donner l'ensemble à signer au Chef de Service
- En cas de facturation incorrecte, rassembler la facture et le bon de transmission et contacter le laboratoire concerné.

### B) Comptabilité

Gestion selon les règles d'organisation comptable propres à chaque laboratoire.

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire générale de gestion du système informatique PO31

## I - CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DU SYSTÈME

- A) Fournisseur(s)
- B) Architecture
  - 1) *Unité centrale*
  - 2) *Connexions*
  - 3) *Périphériques*
  - 4) *Progiciel*
- C) Maintenance

## II - UTILISATION DU SYSTÈME

- A) Utilisation quotidienne
  - 1) *Accueil*
  - 2) *Impression*
  - 3) *Traitement des résultats*
  - 4) *Impression des résultats*
  - 5) *Recherche de demande*
- B) Exploitation
  - 1) *Facturation (cf. procédure P03F)*
  - 2) *Statistiques d'activité*
  - 3) *Gestion des rendez-vous*
  - 4) *Impression*
- C) Dictionnaires

## III - CONDUITE À TENIR EN CAS DE DYSFONCTIONNEMENT

- A) Du système de protection électrique
- B) Du système informatique
  - 1) *Causes*
  - 2) *Procédure de dépannage*

## IV - SAUVEGARDE ET ARCHIVAGE

- 1) *Sauvegarde*
- 2) *Archivage*

# Procédure opératoire générale de gestion du système informatique PO3I

Objet : Description du système informatique du laboratoire (SIL)
Rédigée le :                      Nom :                      Fonction :
Validée le :                      Nom :                      Fonction :
Procédure opératoire N° PO3I

## I. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DU SYSTÈME

---

### A) Fournisseur(s)

- Nom :
- Adresse :
- Téléphone :
- Télécopie :
- Télémaintenance :

### B) Architecture

#### 1) *Unité centrale*

- PC :
- Serveur :
- Mini-ordinateur :
- Disque(s) dur(s)                      Nombre :                      Capacité :

#### 2) *Connexions*

- Internes au laboratoire :
  - Mono – bidirectionnelle :  
Indiquer les appareils concernés
  - Existence d'un réseau interne :  
+ Serveur: nombre de postes connectés :  
localisation des postes :
- Externes au laboratoire :
  - En milieu hospitalier :  
+ Connexion à l'administration : mode et fonctionnement + Connexions aux services cliniques  
+ Nature des informations échangées + Existence d'un réseau  
+ Serveur : nombre de postes connectés
  - En ville :  
+ Connexion avec les prescripteurs  
+ Connexion avec des cliniques  
+ Connexion avec d'autres laboratoires

### 3) Périphériques

- Indiquer systématiquement : nombre et situation
  - Consoles de saisie - Lecteurs de code à barres
  - Terminaux analytiques dédiés
  - Terminaux « intelligents » de validation
  - Imprimantes code à barres
  - Imprimantes des différents documents à éditer

### 4) Progiciel

- Environnement (DOS, WINDOWS, UNIX, etc.)
- Interface utilisateur (mode caractère, graphique, etc.)
- Paramétrage utilisateur (recensement des différents paramétrages, ordre éventuel de paramétrage et mise en oeuvre)
- Nombre et type de fichiers :
  - Structure et organisation
- Base de données :
  - Structure et organisation

### C) Maintenance

- Existence d'un contrat de maintenance
- Durée de validité
- Nature de la maintenance :
  - Téléphone, modem, etc.

## ■ II. UTILISATION DU SYSTÈME

---

### A) Utilisation quotidienne

#### 1) Accueil

##### a) Création d'un patient

##### b) Création du dossier d'un patient

- Identification du patient :
  - N° d'hospitalisation
  - Nom, prénom, date de naissance, sexe, nom de jeune fille, adresse...
- Saisie des demandes d'analyse :
  - Code, numéro, etc.
  - Analyse unique, ensemble d'analyses
  - Analyse dont le résultat sert à un calcul
- Saisie des renseignements complémentaires :
  - Par question - réponse
  - Par analyse à résultat immédiat
  - Par code-texte
- Identification du dossier :
  - Numéro séquentiel - date, jour, mois, année
  - Par jour, par an, etc.

### c) Modification d'un dossier

- Texte - Ajout - Suppression - Analyse gratuite - Mode d'accès (code réservé ou non)

#### 2) *Impression*

- Des envois extérieurs
- Des listes de travail
- Des analyses en retard

#### 3) *Traitement des résultats*

- Mode de saisie :
  - Manuelle, double saisie
  - Automatique
- Validation analytique :
  - Existence d'alarmes visuelles ou sonores
  - Exploitation de l'antériorité (« delta-check »)
- Validation biologique :
  - Analyse de cohérence par appel à la demande d'autres résultats
  - Existence d'un système-expert

#### 4) *Impression des résultats*

- Se référer à la procédure PF8
- Dossiers partiels, complets, duplicata, dossiers cumulatifs (jusqu'à n antériorités)
- Par famille ou classe d'analyses
- Automatique ou à la demande

#### 5) *Recherche de demande*

- Visualisation d'un dossier (ou plusieurs dossiers)
- Visualisation d'une ou plusieurs analyses dans un ensemble de dossiers

### B) Exploitation

#### 1) *Facturation (cf. procédure PO3F)*

- Impression des relevés, feuilles de maladie, rappel de paiement, journal des factures, des impayés, des paiements
- Annulation d'un document (feuille de maladie, etc.)
- Paiement des factures

#### 2) *Statistiques d'activité*

- Conformément à la procédure PO3SA

#### 3) *Gestion des rendez-vous*

#### 4) *Impression*

- Du journal légal quotidien
- Du journal de caisse
- Des rapports récapitulatifs
- Des différents dictionnaires

### C) Dictionnaires

- Des titres et sous-titres (présentation du compte-rendu)
- Des analyses
- Des valeurs de référence et des codes textes
- Des tubes de prélèvement (cf. procédure PF2)
- Des familles, classes et groupes d'analyses
- Des codes postaux et des correspondants divers (prescripteurs, préleveurs, caisses primaires d'assurance maladie, mutuelles et autres correspondants)
- etc.

## ■ III. CONDUITE À TENIR EN CAS DE DYSFONCTIONNEMENT

---

### A) Du système de protection électrique

Le secteur informatique doit être protégé des coupures électriques intempestives, par un onduleur.

Celui-ci doit bénéficier d'une maintenance.

Pour mémoire, l'unité centrale doit être préservée de toute variation thermique et hygrométrique. Elle doit se situer dans une salle éloignée des zones de poussière et des charges électrostatiques.

### B) Du système informatique

#### 1) Causes

- Localisation et identification de la panne (connexions, consolés, imprimantes, unité centrale ou concentrateur) - Erreur de l'opérateur dans une commande d'ordre
- Autres causes (orage, etc.)

#### 2) Procédure de dépannage

- Par l'utilisateur (procédure interne) :
  - Un répertoire des pannes et actions à entreprendre est placé à proximité de l'unité centrale. Ce répertoire collige les différentes actions à conduire
  - Il est tenu à jour en mentionnant la date et l'heure de l'intervention, le motif de l'intervention et le résultat.
- Par le service informatique (télémaintenance) :
  - Celui-ci doit indiquer par fax l'action entreprise. Si elle donne lieu à une procédure exécutable par l'utilisateur, elle sera alors consignée dans le répertoire des pannes.

## ■ IV. SAUVEGARDE ET ARCHIVAGE

---

### 1) Sauvegarde

a) Le disque dur supportant l'ensemble des fichiers et le progiciel est en général en doublon (disques « miroirs »)

Il est d'autre part défini par sa taille (capacité mémoire) judicieusement choisie en fonction de l'activité du laboratoire.

b) Quotidiennement, une copie du fichier est effectuée sur un support magnétique. Un support est réservé à chaque jour de la semaine, le dimanche assurant la sauvegarde hebdomadaire.

Mensuellement, cette opération est également effectuée.

## 2) *Archivage*

- Plusieurs dispositifs peuvent être utilisés :

- Archivage papier
- Archivage magnétique ou optique
- Autres dispositifs

Il est effectué conformément aux procédures PO7A1 et A2 notamment.

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :

# **Procédure opératoire générale de gestion des statistiques d'activité - PO3SA**

- I -GESTION DES FACTURES DE RÉACTIFS, DE CONSOMMABLES ET MATÉRIAUX DE CONTRÔLE**
- II - GESTION DE L'ACTIVITÉ DU LABORATOIRE**
  - A) Cas d'un laboratoire privé
  - B) Cas d'un laboratoire hospitalier
- III - COMPTABILITÉ ANALYTIQUE**

# Procédure opératoire générale de gestion des statistiques d'activité - PO3SA

Objet : Statistiques d'activité et comptabilité analytique		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO3SA		

## ■ I. GESTION DES FACTURES DE RÉACTIFS, DE CONSOMMABLES ET MATÉRIAUX DE CONTRÔLE

---

Il s'agit d'un simple rappel des procédures PO3F1 et PO3F2.

Le but est d'attribuer une facture validée à tout ou partie d'un secteur d'activité du laboratoire.

Une exploitation informatique est conseillée pour mettre en place la comptabilité analytique.

## ■ II. GESTION DE L'ACTIVITÉ DU LABORATOIRE

---

A) Cas d'un laboratoire privé

- Statistiques d'activité par prescripteur/actes/B - Statistiques d'activité par préleveur/actes/B
- Statistiques par secteur d'activité du laboratoire - Statistiques globales d'activité/actes/B
- Autres statistiques financières

B) Cas d'un laboratoire hospitalier

- Statistiques d'activité par service demandeur actes/B, ou par unité de soins, ou par prescripteur
- Statistiques d'activité des consultations externes. Se reporter au § IIA de la présente procédure
- Statistiques d'activité par discipline biologique et par analyse à l'intérieur de chaque discipline ou secteur de la discipline /actes/B.
- Statistique globale d'activité distinguant notamment :
  - Les analyses issues des patients hospitalisés
  - Les analyses adressées à l'extérieur, voir PO9
  - Les analyses acceptées en sous-traitance, voir PO9

## ■ III. COMPTABILITÉ ANALYTIQUE

---

La mise en relation des fichiers de facture et des fichiers d'activité permet d'apprécier dans le cadre de chacune des statistiques d'activité étudiées, le prix de revient de chaque analyse ou groupe d'analyse.

La prise en compte :

- des contrats de maintenance,
- de l'amortissement des investissements,
- des charges fixes,

permet une analyse fine des coûts de fonctionnement.

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :



# Procédure opératoire générale d'entretien des locaux - PO4

## I - ENTRETIEN DES STRUCTURES

A) Composition du chariot de ménage type

B) Protocole opératoire

1) *Nettoyage des bureaux*

2) *Nettoyage des sols*

3) *Nettoyage des sanitaires*

4) *Portes vitrées*

5) *Évacuation des déchets*

C) Maintenance

1) *Quotidienne*

2) *Hebdomadaire*

## II - ENTRETIEN DU MOBILIER DE LABORATOIRE ET DU PETIT MATÉRIEL DE VERRERIE

A) Nettoyage du mobilier de laboratoire

B) Nettoyage de la verrerie du laboratoire

# Procédure opératoire générale d'entretien des locaux - PO4

Objet : Entretien général des locaux du laboratoire

Rédigée le :

Nom :

Fonction :

Validée le :

Nom :

Fonction :

Procédure opératoire N° PO4

## I. ENTRETIEN DES STRUCTURES

---

Rangement du matériel d'entretien :

Nom de la personne chargée de l'entretien :

Une personne désignée assure l'entretien des bureaux, des sols et des sanitaires et dispose pour cela d'un chariot de ménage complet.

En cas d'absence, une procédure de remplacement est à prévoir (se reporter à la procédure PO2SP).

A) Composition du chariot type

- Produit lavabo
- Détartrant WC
- Eau de javel
- Produit à vitres
- Désinfectant ou nettoyant
- Gaze pour balai trapèze
- Bombe désodorisante
- Sacs poubelle : 20L, 30L, 100L
- 1 rouleau de papier essuie-tout
- Gants à usage unique
- Lavette rouge pour WC
- Lavette bleue pour sanitaires (baignoire, lavabo, douche)
- Balayette
- Pelle
- Balai de trapèze
- Balai de lavage
- Seau bleu à remplir d'eau claire
- Seau rouge pour le recueil des eaux usagées.

### Recommandations :

- Ne pas mélanger les produits
- Ne pas utiliser d'alcool
- La presse doit être posée sur le seau rouge

## B) Protocole opératoire

### 1) *Nettoyage des bureaux*

- Essuyer la poussière sur le mobilier à l'aide d'un papier essuie-tout ou d'un chiffon humide
- Vider les poubelles dans les sacs pour ordures ménagères
- Passer l'aspirateur sur les moquettes
- Aérer

### 2) *Nettoyage des sols*

- Prendre le chariot de ménage
- Faire un balayage humide en utilisant le trapèze muni d'une gaze jetable
- Laver ensuite à l'aide du balai Faubert en utilisant alternativement l'un des deux produits d'entretien :
  - Nettoyant Ultra 2000 (rose) les lundi, mercredi et vendredi
  - Désinfectant Arocidine (blanc) les mardi et jeudi
- Utiliser une dose de produit pour 1 seau plein
- Essorer le balai en le pressant dans le seau rouge (eau usée)
- Renouveler régulièrement l'eau dans les seaux :
  - Jeter les eaux usées (rouge) dans le vidoir de la laverie ou à défaut dans les toilettes
  - Remplir le seau bleu avec de l'eau claire

### 3) *Nettoyage des sanitaires*

- Mettre des gants à usage unique
- Nettoyer à l'aide des lavettes rouge (wc) ou bleue (sanitaires) et de la balayette
- Imprégner les lavettes et la balayette de détartrant WC ou d'eau de Javel récemment préparée à raison d'une pastille à dissoudre par litre d'eau

### 4) *Portes vitrées*

- Seules les portes vitrées sont régulièrement nettoyées par la personne chargée de l'entretien des structures
- L'entretien des fenêtres est assuré par l'équipe centrale de nettoyage de l'Hôpital

### 5) *Évacuation des déchets*

#### a) Déchets non contaminés

- Assimilables aux ordures ménagères
- Mettre les déchets dans les sacs « poubelle » et les fermer
- Porter ceux-ci dans le local prévu pour les ordures ménagères derrière le laboratoire (niveau bas)

#### b) Déchets contaminés

- Collecter les boîtes Sharpsafe ramassées aux différentes paillasses dans les cartons munis de sacs étanches et prévus à cet effet (CONTAINOR - Déchets d'activités de soins à risques)
- Fermer soigneusement les cartons avec du scotch pour emballage
- S'il existe un risque de fuite, collecter les déchets dans les conteneurs étanches en plastique jaune
- Le ramassage des déchets contaminés a lieu 3 fois par semaine, les lundi, mercredi et vendredi par l'équipe centrale de nettoyage de l'Hôpital

## C) Maintenance

### 1) Quotidienne

- Mettre à tremper le balai Faubert dans l'eau de Javel tous les soirs
- Laisser tremper toute la nuit

### 2) Hebdomadaire : le vendredi

#### a) Entretien du chariot de ménage

L'entretien du chariot est fait tous les vendredi après l'entretien habituel des locaux :

- Démontage complet
- Nettoyage des seaux, balais (manche, plateau)
- Nettoyage des lavettes bleue et rose par trempage dans l'eau de Javel pendant au moins une nuit
- Nettoyage de la frange, par trempage dans l'eau de Javel : laisser dans le vidoir
- Préparer le chariot à l'emploi

#### b) Commandes pour le lundi :

- Bon de commande pré-imprimé
- Cocher les produits et le nombre désirés
- Commander systématiquement un balai Faubert propre par chariot de ménage
- Commander ce qui est nécessaire par ailleurs à la composition du chariot

## ■ II. ENTRETIEN DU MOBILIER DE LABORATOIRE ET DU PETIT MATÉRIEL DE VERRERIE

---

Nom de la personne chargée de cet entretien :

### A) Nettoyage du mobilier de laboratoire

- Une fois par mois, nettoyer l'ensemble du mobilier de laboratoire à l'exception des paillasse entretenues quotidiennement par les techniciens
- Vaporiser avec de l'Incidine
- Laisser agir 3 min
- Essuyer à l'aide d'un chiffon sec

### B) Nettoyage de la verrerie du laboratoire

Sont concernés les béchers, tubes, éprouvettes... :

- Autoclaver l'ensemble du petit matériel à nettoyer : se reporter au protocole opératoire de fonctionnement et d'utilisation de l'autoclave, PF4PM
- Nettoyer à l'eau courante
- Laisser tremper une nuit dans une solution sulfochromique préparée comme suit dans un récipient approprié
  - Peser 100 g de Bichromate de Potassium
  - Verser dans 1 000 ml d'eau distillée

- Placer le récipient dans l'évier et le maintenir dans l'eau froide
- Ajouter doucement avec précaution 500 ml d'acide sulfurique à 95 %

**Attention, ce liquide est particulièrement dangereux**

**Interdiction formelle de verser l'eau dans l'acide**

- Rincer à l'eau courante
- Terminer par un rinçage à l'eau distillée pour éliminer les traces de minéraux

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :



# **Procédure opératoire générale de sécurité et hygiène au laboratoire - PO5**

## **I - MESURES D'ORDRE GÉNÉRAL**

A) Interdictions formelles

B) Opérateur

C) Nettoyage des paillasses

## **II - MESURES LIÉES À LA MANIPULATION DES SPÉCIMENS BIOLOGIQUES (SANG, URINES, LIQUIDES DE PONCTION, FÉCÈS)**

## **III - CONDUITES À TENIR EN CAS D'ACCIDENT POTENTIELLEMENT CONTAMINANT OU TOXIQUE**

# Procédure opératoire générale de sécurité et hygiène au laboratoire - PO5

Objet : Procédure opératoire générale de sécurité et hygiène au laboratoire		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO5		

## ■ I. MESURES D'ORDRE GÉNÉRAL

---

### A) Interdictions formelles

- De fumer, de boire ou de manger dans l'ensemble des locaux techniques
- De stocker de la nourriture en dehors du local de détente du personnel
- De pipeter des échantillons biologiques ou des solvants à la bouche : Utiliser une pro-pipette et une pipette jetable ou une pipette à embouts à usage unique.

### B) Opérateur

- Port de la blouse obligatoire
- Le change doit être régulier et immédiat en cas de souillure biologique
- Position stable, assise ou verticale, adaptée à l'environnement immédiat

### C) Nettoyage des paillasse

- Les plans de travail sont nettoyés tous les jours en fin de journée par les techniciens.

### **Protocole :**

- Vaporiser de l'incidine sur la paillasse
- Laissez agir 5 minutes
- Essuyer avec un papier absorbant en portant des gants
- Jeter l'ensemble dans un conteneur SHARPSAFE jaune prévu pour l'élimination des déchets contaminés.
- En cas de souillure, la désinfection de la paillasse à l'eau de javel à 1° Chlorométrique doit être immédiate : laisser agir 5 minutes puis nettoyer à l'incidine comme indiqué ci-dessus.

## ■ II. MESURES LIÉES À LA MANIPULATION DES SPÉCIMENS BIOLOGIQUES (SANG, URINES, LIQUIDES DE PONCTION, FÉCÈS)

---

- En principe, les tubes bouchés ne sont pas souillés extérieurement. En cas de souillure, porter des gants jetables pour la manipulation et nettoyer le tube avec un papier absorbant imprégné d'eau de javel diluée.
- Porter systématiquement des gants jetables pour déboucher ou reboucher un tube.
- En cas de bris de tube :
  - Mettre des gants

- Si possible transférer le liquide biologique dans un autre récipient approprié en respectant les règles assurant une identification rigoureuse de l'échantillon secondaire.
  - Nettoyer immédiatement l'ensemble du matériel souillé : paillasse, pipette, portoirs, centrifugeuse etc. en utilisant de l'eau de javel à 1° chlorométrique puis éventuellement de l'incidine.
- Prendre toutes les précautions nécessaires limitant les risques de souillure au cours de la conservation post-analytique des échantillons biologiques.
- Procéder à l'élimination des déchets contaminés conformément à la procédure opératoire prévue (conteneur SHARPSAFE jaune) à la paillasse en suivant la filière d'élimination des déchets à risque du groupe A. (cf. procédure opératoire élimination des déchets, n° PO6)

### ■ III. CONDUITES À TENIR EN CAS D'ACCIDENT POTENTIELLEMENT CONTAMINANT OU TOXIQUE.

---

La gestion de l'accident inopiné doit être rigoureuse. Se reporter aux différentes procédures affichées dans le laboratoire, décrivant les réactions correctes immédiates en cas de :

- Coupures, piqûres
- Brûlures
- Projections cutané-muqueuses
- Projections sur les muqueuses oculaires
- Bris de tube culture de mycobactéries (se reporter à la procédure correspondante)

Faire une déclaration médicale et administrative.

D'une manière générale, l'opérateur doit veiller à ne jamais mettre sa propre personne ou son environnement en situation de risque non contrôlé.

Chaque fois qu'une manipulation ou un geste dangereux est mis en oeuvre, il ne peut l'être qu'après avoir vérifié que les dispositifs de sécurité sont en place.

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire générale d'élimination des déchets - PO6

Objet : Procédure opératoire générale d'élimination des déchets		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO6		

## I. DÉCHETS À RISQUE

---

- A      \*Infectieux  
         \* Anatomiques      → Liste à constituer par chaque laboratoire  
         \* Piquants  
         \* Coupants
- B      \* Toxiques  
         \* Chimiques      → Liste à constituer par chaque laboratoire

## II. FILIÈRES D'ÉLIMINATION

---

- \* Groupe A :
- Conditionnement
  - Stockage
  - Transport
  - Traitement spécifique
  - Contrat avec société prestataire de service : (CIRIF recommandé par la DDASS)
    - Établi le
    - Conservé: fichier
  - Bordereau de suivi :
    - Quantité de déchets éliminés
    - Modalités d'élimination
    - Archivage des bordereaux conformément à la procédure PO7A6
- \* Groupe B (idem Groupe A)

## III. ORDURES MÉNAGÈRES

---

- \* Déchets assimilables à des ordures ménagères : liste
- \* Accord de la collectivité locale obtenue le :

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



## Procédure opératoire générale d'archivage - PO7

Objet : Définition des différentes archives

Rédigée le :                      Nom :                                      Fonction :

Validée le :                      Nom :                                      Fonction :

Procédure opératoire N° PO7

- PO7A1 : Relevé chronologique en lettre-clé des analyses effectuées et transmises (10 ans, cf. PO3I)
- PO7A2 : Relevé chronologique des résultats nominatifs des analyses effectuées (10 ans, cf. PO3I)
- PO7A3 : Relevé chronologique des résultats du contrôle de qualité externe (PO3QE) et des mesures correctives éventuelles apportées (5 ans)
- PO7A4 : Relevé chronologique des résultats du contrôle de qualité interne (PO3QI) et des mesures correctives éventuelles apportées (3ans)
- PO7A5 : Relevé chronologique des procédures opératoires (PO + PF, pendant 3 ans)
- PO7A6 : Relevé chronologique des bordereaux et contrats concernant l'évacuation des déchets contaminés (3 ans)
- PO7A7 : Relevé des documents relatifs à la maintenance des instruments et aux consommables pendant la durée d'utilisation du matériel (cf. PF4 et PF5)
- PO7A8 : Tous documents et classeurs, livres de laboratoire (20 ans)

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                      Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                      à :                                      Par :



# **Procédure opératoire générale de cryoconservation des spécimens biologiques - PO8**

## **I - CRYOCONSERVATION DES SPÉCIMENS BIOLOGIQUES DANS LE CADRE DE LA SÉROTHÈQUE GÉNÉRALE DU LABORATOIRE - PO8SG**

A) Principe

B) Sélection des spécimens

C) Matériels

*1) Congélateurs*

*2) Boîtes de rangement et tubes*

*3) Fichier des spécimens cryoconservés*

## **II - CRYOCONSERVATION DES SPÉCIMENS BIOLOGIQUES, DANS LE CADRE DE LA SÉCURITÉ TRANSFUSIONNELLE ET DU SUIVI DES PATIENTS - PO8ST**

# Procédure opératoire générale de cryoconservation des spécimens biologiques - PO8

Objet : Gestion informatisée des sérothèques		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO8		

## ■ I. CRYOCONSERVATION DES SPÉCIMENS BIOLOGIQUES DANS LE CADRE DE LA SÉROTHÈQUE GÉNÉRALE DU LABORATOIRE - P08SG

### A) Principe

Congélation des spécimens biologiques (aliquotés conformément à la procédure PF3AM2) à une température nominale de l'ordre de - 20°C minimum, et assurant la stabilité et l'intégrité de l'analyte ainsi conservé.

### B) Sélection des spécimens

La cryoconservation relève soit :

- D'une obligation légale, pour un analyte donné, conformément aux indications de la nomenclature des actes de biologie médicale
- D'une décision interne, propre au laboratoire. Dans ce cas les analyses relevant de cette décision sont répertoriées par secteur d'activité

### C) Matériels

#### 1) Congélateurs

Conformément à la loi, le laboratoire possède au moins un congélateur permettant d'obtenir une température égale ou inférieure à - 18°C.

#### 2) Boîtes de rangement et tubes

Il convient de choisir un ensemble de dispositifs permettant le rangement simple, efficace sous faible volume des sérums cryoconservés.

- Exemple: - tube à vis, 2 ml, polypropylène  
- boîtes compartimentées (lignes, colonnes)

Le repérage d'un tube est ainsi défini par la lettre (colonne) et le chiffre (ligne) correspondant à son compartiment.

#### 3) Fichier des spécimens cryoconservés

Un fichier est mis en place permettant la gestion de la sérothèque par différents critères de tri, notamment le nom du patient.

Pour éviter toute erreur, l'identification du spécimen doit être maintenue sans défaillance de la création du tube secondaire jusqu'à son éventuelle réutilisation.

Le répertoire nominal ainsi constitué mentionne :

- Nom - Prénom - Date de naissance
- Date de cryoconservation
- N° de dossier concerné et l'adresse du spécimen dans la sérothèque
- D'autres éléments peuvent être ajoutés, à la convenance de chaque laboratoire

L'accès à ces fichiers doit être impérativement restreint (codes) conformément aux recommandations de la CNIL.

## ■ II. CRYOCONSERVATION DES SPÉCIMENS BIOLOGIQUES, DANS LE CADRE DE LA SÉCURITÉ TRANSFUSIONNELLE ET DU SUIVI DES PATIENTS - P08ST

---

Tout ou partie de la procédure P08SG peut être appliquée à la présente procédure.

Il est cependant conseillé de choisir un matériel de cryoconservation permettant d'atteindre une température nominale de - 80°C.

Chaque laboratoire concerné par l'hémovigilance et la sécurité transfusionnelle doit se mettre en conformité avec les directives énoncées par l'Agence Française du Sang.

Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



## **Procédure opératoire générale pour l'établissement d'un contrat de collaboration - PO9**

- I - DESIGNATION DES CONTRACTANTS**
- II - CONCLUSION DU CONTRAT**
- III - ARTICLES DU CONTRAT**
- IV - DATE DU CONTRAT**
- V - ANNEXES AU CONTRAT**
- VI - DESCRIPTION DU SYSTÈME D'ASSURANCE-QUALITÉ DANS CHAQUE  
LABORATOIRE CONTRACTANT**

# Procédure opératoire générale pour d'un contrat de collaboration - PO9

Objet : Etablissement d'un contrat de collaboration entre deux laboratoires		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO9		

## ■ I. DÉSIGNATION DES CONTRACTANTS

---

Identité des laboratoires :

- Laboratoire d'analyses de biologie médicale A, représenté par son Directeur X d'une part,
- Laboratoire d'analyses de biologie médicale B, représenté par son Directeur Y, d'autre part.

## ■ II. CONCLUSION DU CONTRAT

---

Il est conclu un contrat de collaboration pour l'exécution des analyses de biologie médicale, conformément aux dispositions de l'article L. 760 modifié de la loi du 11 Juillet 1975, du décret du 4 Novembre 1976 modifié et de l'arrêté du 28 Juillet 1992 portant approbation de la convention nationale des directeurs de laboratoires privés d'analyses médicales.

## ■ III. ARTICLES DU CONTRAT

---

### **Article 1 : Durée**

Le présent contrat est conclu pour une durée de un an, renouvelable par tacite reconduction.

### **Article 2 : Dénonciation**

Il pourra être mis fin au présent contrat à tout moment sous réserve d'un préavis de un mois à la demande de l'une ou l'autre des parties.

La demande de résiliation devra être formulée par lettre recommandée avec accusé de réception.

### **Article 3 : Nature des analyses transmises**

Le présent contrat concernera les analyses qui sont mentionnées en annexe 1.

### **Article 4 : Exclusivité**

Le présent contrat n'emporte pas exclusivité et les laboratoires concernés pourront recevoir ou transmettre des analyses de même nature.

### **Article 5 : Responsabilité**

Le transmetteur reconnaît s'être rendu sur place et avoir vérifié que le laboratoire exécutant est en mesure d'effectuer les analyses transmises dans des conditions de qualité, de sécurité et de rapidité requises.



Dans le cas d'une SCM, ce sont les conditions économiques retenues pour le fonctionnement de la société qui doivent être reproduites.

■ **VI. DESCRIPTION DU SYSTÈME D'ASSURANCE-QUALITÉ DANS CHAQUE LABORATOIRE CONTRACTANT**

---

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :                            Fonction :

Approuvée le :        Nom :                            Fonction :

Communiquée le :    à :                                Par :

Source Conseil de l'Ordre des Pharmaciens  
Section G

# Procédure opératoire générale de modification d'une procédure opératoire - PO10

Objet : Modification d'une procédure opératoire		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PO10		

## I. IDENTIFICATION DE LA PROCÉDURE À MODIFIER

---

- Procédure d'organisation
- Procédure de fonctionnement
- Intitulé de la procédure
- Environnement de la procédure (autres procédures concernées)

## II. MOTIF DE LA MODIFICATION

---

Inscrire ce motif dans l'encadré inférieur de la procédure à modifier.

- Exemple :
- Modification du protocole opératoire d'une technique d'analyse
  - Création d'une technique d'analyse
  - Modification du contrat d'abonnement
  - Changement de contrôle de qualité interne (nouveau fournisseur)
  - Mise en place d'un nouvel automate, etc...

## III. POINT D'IMPACT DE LA MODIFICATION

---

- Actualisation de la procédure modifiée (encadré supérieur prévu à cet effet) dans le manuel des procédures
- Actualisation des procédures afférentes ou efférentes en précisant la nature de la modification
- Information des personnels concernés, et mise en place de la nouvelle procédure au secteur intéressé
- Archivage de l'ancienne procédure selon PO7A5

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



## Procédure opératoire générale de fonctionnement du laboratoire - PF1

Objet : Procédures opératoires de fonctionnement du laboratoire		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF1		

PF2 : Procédure générale de prélèvement des spécimens biologiques

PF3 : Procédure générale de réception des spécimens et des demandes d'analyse

- PF3AM : Analyse maintenue au laboratoire
  - \* PF3AM1 : Envoi direct sur le secteur d'activité concerné
  - \* PF3AM2 : Traitement préalable (aliquotage, tube secondaire et identification, conservation éventuelle)
- PF3AT : Analyse transmise à l'extérieur selon les procédures du laboratoire sous-traitant

PF4 : Procédure générale de fonctionnement et d'utilisation d'un appareillage

- PF4A1 à PF4An, pour les différents appareillages
- PF4PM1 à PF4PMn, pour les petits matériels (pipettes, incubateurs, agitateurs, centrifugeuses, hottes, autoclave, eau permutée, congélateurs, réfrigérateurs).

PF5 : Procédure générale de maintenance d'un appareillage

- PF5A1 à PF5An, pour les différents appareillages
- PF5PM1 à PF5PMn, pour les petits matériels (comme ci-dessus)

PF6 : Procédure générale de conduite d'une analyse

- PF6AQ : Analyse quantitative
  - \* PF6AQ1 : Analyse automatisée
  - \* PF6AQ2 : Analyse manuelle
- PF6Aq : Analyse qualitative
  - \* PF6Aq1 : Analyse automatisée
  - \* PF6Aq2 : Analyse manuelle

PF7 : Procédure opératoire générale de validation biologique

PF8 : Comptes-rendus d'analyse

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire générale de prélèvement des spécimens biologiques - PF2

## **I - LOCAL DE PRÉLÈVEMENT**

## **II - RÉALISATION D'UN PRÉLÈVEMENT BIOLOGIQUE**

A) Disposition d'ordre général

*1) Mesures d'hygiène et de sécurité concernant le personnel*

*2) Personne habilitée à effectuer les prélèvements*

*3) Matériel approprié*

B) Dispositions particulières aux différents prélèvements

*1) Prélèvements sanguins*

*2) Prélèvements urinaires*

*3) Prélèvements cutanéomuqueux*

## **III - IDENTIFICATION DES PRÉLÈVEMENTS**

## **IV - ACHEMINEMENT DES PRÉLÈVEMENTS POUR ANALYSE**

# Procédure opératoire générale de prélèvement des spécimens biologiques - PF2

Objet : Procédures opératoires de prélèvement des spécimens biologiques		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF2		

## ■ I. LOCAL DE PRÉLÈVEMENT

---

Tout prélèvement biologique doit être effectué individuellement dans un lieu de nature à préserver la confidentialité :

- Salle de prélèvement ou lit du malade dans le service d'hospitalisation
- Aménagement approprié assurant le confort du patient
- Disposant d'un point d'eau
- De propreté irréprochable

## ■ II. RÉALISATION D'UN PRÉLÈVEMENT BIOLOGIQUE

---

A) Disposition d'ordre général

1) *Mesures d'hygiène et de sécurité concernant le personnel*

Respecter les procédures opératoires d'hygiène et de sécurité applicables au laboratoire (PO5), notamment :

- Lavage des mains avant et après chaque prélèvement
- Port de la blouse obligatoire
- Port de gants jetables s'il existe un risque de souillure
- Recapuchonnage des aiguilles interdit : le laboratoire doit disposer d'un dispositif assurant la récupération des aiguilles usagées (récipient fermé ne présentant aucun risque de manipulation jusqu'à son élimination suivant le circuit des déchets contaminés du groupe A, P06).
- Évacuation de l'ensemble des déchets dans les strictes conditions prévues par la législation et par les procédures opératoires conformément à la même procédure P06.

2) *Personne habilitée à effectuer les prélèvements*

- Biologiste
- Infirmière
- Personnels de laboratoire autorisés par la DDASS : délivrance d'un certificat de capacité.

3) *Matériel approprié*

La liste du matériel nécessaire, disponible dans chaque salle de prélèvement, indique pour chaque type de prélèvement le récipient approprié. Le matériel comporte notamment :

- Garrot, antiseptiques, siège, table gynécologique, lampe de Wood, etc.
- Nécessaire à prélèvement : aiguilles, écouvillons, coton, pansements, tubes, etc.
- Le matériel stérile : aiguilles, écouvillons, pinces, curettes, tubes, etc.

L'inventaire doit être vérifié périodiquement par la personne en charge de cette mission.

## B) Dispositions particulières aux différents prélèvements

### 1) *Prélèvements sanguins*

- Veineux, capillaires (ou artériels)
- Antiseptie de la peau à l'aide d'un coton imprégné de solution antiseptique :
  - Betadine
  - Hexomedine
  - Mercryl
  - Dakin
  - Merseptyl
  - L'usage de l'alcool modifié est interdit
- Pose d'un garrot
- Veiller à la position stable du patient et du prélever
- Utilisation d'aiguille stérile à usage unique obligatoire
- Utiliser les tubes à prélèvement admis pour les échantillons biologiques et dont la liste en fonction des analyses prescrites est disponible en salle de prélèvement.

### 2) *Prélèvements urinaires*

- ECBU : recueillir les urines émises au milieu du jet après désinfection locale soignée avec une solution antiseptique
- Analyses biochimiques : se reporter aux procédures relatives à la conduite d'une analyse PF6.

### 3) *Prélèvements cutanéomuqueux*

- ORL, peau et phanères :
  - Matériel stérile (écouvillon, pince, curette, etc.) permettant de prélever par apposition ou par grattage
- Prélèvements génitaux :
  - Préleveur habilité (Biologiste), Matériel stérile (gants, écouvillons, spéculum), Table gynécologique avec papier protecteur à usage unique, dispositif d'éclairage fixe ou portable.
- Prélèvements particuliers pour la recherche de chlamydiae, mycoplasme et herpès :
  - Prévoir sur place les milieux de transport et/ou de culture appropriés
  - Matériel stérile (écouvillon, pince, curette, etc.), gants à usage unique

## ■ III. IDENTIFICATION DES PRÉLÈVEMENTS

---

L'identification des prélèvements doit être rigoureuse et respecte l'apposition sur les différents récipients des mentions obligatoires assurant l'identification du patient.

Cette identification doit notamment être réalisée :

- Par la personne effectuant le prélèvement
- Immédiatement et sur tous les récipients

- En respectant la même identité que celle sur l'ordonnance
- En vérifiant cette identité auprès de la personne prélevée
- En indiquant la nature des analyses à effectuer.

#### ■ IV. ACHEMINEMENT DES PRÉLÈVEMENTS POUR ANALYSE

---

L'acheminement des prélèvements doit se faire dans les délais compatibles avec la bonne exécution des analyses en tenant compte éventuellement du caractère urgent, ou des conditions particulières de transport (congelé, dans la glace, à 37°C, etc.). Se reporter aux procédures opératoires des analyses correspondantes.

**Modifications de procédure**

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

**Procédure opératoire générale :  
réception des spécimens  
et des demandes d'examens – PF3**

- I - MODALITÉS DE RÉCEPTION DES DEMANDES D'EXAMENS**
- II - SAISIE ET IDENTIFICATION DES PATIENTS**
- III -SAISIE ET IDENTIFICATION DES PRÉLÈVEMENTS**
  - A) Tubes primaires (ou récipients primaires)
  - B) Tubes ou récipients secondaires
- IV - TRANSMISSION DES PRÉLÈVEMENTS AUX PAILLASSES**

# Procédure opératoire générale : réception des spécimens et des demandes d'examens – PF3

Objet : Procédures opératoires de réception des spécimens et des demandes d'examens		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF3		

## I. MODALITES DE RECEPTION DES DEMANDES D'EXAMENS

---

Lieu de réception

Personnes réceptionnant les demandes et les ordonnances : secrétaires et techniciens.

Forme sous laquelle parviennent les échantillons biologiques, à titre d'exemple :

- Sac plastique clos, double poche contenant : la feuille de demande d'examens informatisée complétée par les services
- Tubes ou récipients non souillés extérieurement
- Absence de matériel tranchant, coupant, piquant
- Nature des récipients admis : liste disponible dans la mallette de chaque préleveur, dans chaque local à prélèvement, dans chaque unité de soins.

Elle peut être consultable à l'écran dans le cadre d'une structure informatisée.

## II. SAISIE ET IDENTIFICATION DES PATIENTS

---

- Mentions obligatoires assurant une bonne identification :
  - Nom patronymique
  - Prénom
  - (nom marital)
  - Sexe
  - Date de naissance
  - Adresse personnelle ou service d'hospitalisation
- Autres mentions :
  - N° d'hospitalisation (ou autre numéro)
  - Eventuellement taille et poids (surface corporelle), renseignements cliniques et thérapeutiques (nom du médicament et dose)
  - Caractère urgent éventuel

## III. SAISIE ET IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS

---

A) Tubes primaires (ou récipients primaires) :

- La conformité d'identité entre les feuilles de demande et les échantillons reçus est à vérifier impérativement
  - Lectures des codes barres :
    - CB feuille + CB échantillon

- Lecture visuelle si code-barre non préexistant :
    - Dans ce cas, taper le N° d'hospitalisation (ou autre numéro),
    - ou à défaut, les nom - prénom - date de naissance
  - Doivent être visibles sur le tube :
    - Nom - Prénom - Date - Service
  - Saisir les codes des analyses prescrites :
    - Un numéro de code différent existe pour chaque examen biologique
    - Le fait de saisir le numéro de code indique
      - Le nom de l'analyse
      - La nature de l'échantillon : urine, plasma, liquide de ponction
      - Le cas échéant le nom du laboratoire prestataire pour les examens transmis à l'extérieur
  - Saisir les renseignements médicaux s'il y a lieu
  - Refus éventuel des échantillons: Conditions de prélèvement incorrectes, mauvaise identification, etc. Prévoir dans ce cas l'obtention d'un nouveau prélèvement.
- B) Tubes ou récipients secondaires :
- Reproduction rigoureuse de l'identification suivant la PO d'étiquetage PF3AM2 des récipients secondaires

#### ■ IV. TRANSMISSION DES PRÉLÈVEMENTS AUX PAILLASSES

---

En milieu hospitalier, les feuilles de demande peuvent être conservées plusieurs semaines si nécessaire.

Suivant le dispositif d'organisation, les portoirs de prélèvements sont acheminés aux différents postes de travail accompagnés ou non des listes de travail (feuilles de paillasse) correspondantes.

Veiller à éviter toute attente inutile (gazométrie, lactate, pyruvate, ECBU, etc.) pour cette transmission.

Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire de réception des analyses maintenues au laboratoire - PF3AM

Objet : Analyse maintenue au laboratoire

Rédigée le :

Nom :

Fonction :

Validée le :

Nom :

Fonction :

Procédure opératoire N° PF3AM

## ■ I. ENVOI DIRECT SUR LE SECTEUR D'ACTIVITÉ - PF3AM1

---

### A) Secteurs impliqués

La majorité des analyses effectuées au laboratoire ne nécessite pas de traitement préalable du spécimen et le tube primaire parvient tel quel sur le secteur d'activité.

### B) Traitement des ordonnances ou des demandes d'examen

Les ordonnances ou les feuilles de demande d'examen servent pour la saisie et pour l'identification des patients et des prélèvements.

Se reporter à la procédure PF3 :

- Vérification de l'identité du patient
- Édition des étiquettes d'identification (code à barres ou non)
- Apposition des étiquettes d'identification sur l'ordonnance et sur l'ensemble des récipients au moment du prélèvement.
- Tri et rangement des ordonnances

### C) Transmission des prélèvements aux paillasses

Les prélèvements sont en règle générale directement acheminés aux différentes paillasses dès la fin de leur enregistrement.

- Édition des feuilles de travail
- Transmission éventuelle en urgence

## ■ II. TRAITEMENT PRÉALABLE - PF3AM2

---

### A) Secteurs impliqués

Notamment Sérothèque, et autres secteurs (Immunoanalyse, etc.)

### B) Traitement des ordonnances et des demandes d'examen

Se reporter au chapitre I-B de la présente procédure.

### C) Création de tubes secondaires

#### 1) Centrifugation

- Centrifuger les tubes primaires pendant 15 mn à 4000 trs/mn.

#### 2) Préparation des aliquotes

- Prendre des tubes à hémolyse de 5 ml en polypropylène,
- Coller sur les tubes les étiquettes d'identification des patients précédemment éditées,
- Transférer le sérum du tube primaire dans le tube en polypropylène lui correspondant,
- Boucher l'aliquote : effectuer cette opération patient après patient pour éviter tout risque d'erreur d'identification,
- Jeter les tubes primaires dans le conteneur pour déchets contaminés du secteur,
- Stocker les aliquotes jusqu'à réalisation des analyses.

### D) Transmission des prélèvements aux paillasses

Se reporter au paragraphe I - C de la présente procédure.

#### Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire de transmission des analyses à l'extérieur - PF3AT

Objet : Procédure opératoire de transmission des analyses à l'extérieur		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF3AT		

## ■ I. CONDITIONS DE TRANSMISSION DES ANALYSES BIOLOGIQUES À UN AUTRE LABORATOIRE

---

La liste des examens transmis est annexée à la présente procédure, dans le cadre de l'organisation propre à chaque laboratoire. Pour chaque analyse, établir une fiche signalétique comportant :

- \* Le nom et la nature de l'analyse
- \* Les conditions de recueil du prélèvement
- \* Le prétraitement de l'échantillon s'il y a lieu
- \* Les conditions de stockage et de transport prévues :
  - Contenants pour envoi à l'extérieur :
    - Nature des récipients
    - Respect des conditions générales d'hygiène et de sécurité
    - Identification rigoureuse
- \* Le nom et l'adresse du laboratoire destinataire, le cas échéant, le nom du biologiste
- \* L'existence d'un accord ou d'un contrat de collaboration entre le laboratoire transmetteur et le laboratoire exécutant (se référer à PO9)
- \* Le système d'assurance-qualité du laboratoire exécutant (se référer à PO9)
- \* Le délai prévu pour l'obtention des résultats

## ■ II. FICHE DE SUIVI (DEMANDE D'ANALYSE EN SOUS-TRAITANCE)

---

- \* Identification des patients :
  - Nom, prénom, date de naissance, sexe
- \* L'analyse à effectuer
- \* Concernant le spécimen biologique :
  - Date et heure du prélèvement
  - Heure de réception au laboratoire
  - Prétraitements subis : (fonction des recommandations du laboratoire sous-traitant)
    - Centrifugation - décantation – congélation

- Conditions de stockage et de transport
- Le nombre d'échantillons transmis
- Incidents éventuels survenus
- \* Fiche de renseignement médical jointe ou non (à joindre si elle existe)
- \* Les noms des laboratoires expéditeur et destinataire (adresse obligatoire de l'expéditeur)
- \* Nom du biologiste du laboratoire expéditeur
- \* Date et heure d'envoi

### ■ III. RÉCEPTION DES RÉSULTATS

---

- Vérification de la conformité du résultat avec :
  - Les antécédents éventuels
  - L'ensemble du dossier biologique
- Transmission au patient et au médecin prescripteur :
  - Signature du biologiste ayant pratiqué l'analyse sur papier à entête du laboratoire exécutant
  - Conformément à la procédure PF8 relative aux comptes-rendus d'analyse (délai, confidentialité, etc.)
- Vérification de la facture à sa réception (se reporter à la procédure opératoire PO3F2)

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                      Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                      à :                                      Par :

Information (éventuelle) du prescripteur :

# Procédure opératoire générale de fonctionnement et d'utilisation d'un appareillage - PF4

## **I - MISE EN ROUTE DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS CONSTITUANT L'APPAREILLAGE**

- A) Principe général de fonctionnement
- B) Appareillage

## **II - OPÉRATIONS PRÉLIMINAIRES**

- A) Vérifications systématiques
- B) Nettoyage
  - 1) *Matériel nécessaire : alcool, Javel, HCl, mandrin, coton, etc.*
  - 2) *Rinçages s'il y a lieu*
- C) Gestes journaliers systématiques

## **III - PRÉPARATION À L'UTILISATION DE L'APPAREILLAGE**

- A) Liste des tests disponibles et codes correspondants éventuels
- B) Réactifs utilisés
- C) Technique de reconstitution
- D) Consommables
- E) Positionnement des réactifs et consommables sur l'appareillage

## **IV - EXÉCUTION DES ANALYSES**

- A) Sélection de l'analyse
- B) Calibrage
  - 1) *Fréquence*
  - 2) *Échantillons de calibrage*
  - 3) *Protocole*
- C) Contrôle de qualité interne (CQI)
  - 1) *Nature des échantillons de CQI, noms, nombre*
  - 2) *Lieux de stockage*
  - 3) *Reconstitution, péremption indiquée sur le flacon*
  - 4) *Utilisation des contrôles*
  - 5) *Résultats*

D) Analyses des spécimens

*1) Nature des échantillons (plasma, sérum, urine, etc.) et identification*

*2) Préparation du plateau, réceptacle, rack, carrousel*

*3) Programmation des analyses*

*4) Résultats - Validations*

**V - FIN DE TRAVAIL - PROCÉDURE DE MISE A L'ARRÊT**

**VI - PRÉPARATION DE L'ANALYSEUR POUR LA GARDE**

# Procédure opératoire générale de fonctionnement et d'utilisation d'un appareillage - PF4

Objet : Utilisation de l'appareillage X

Rédigée le :

Nom :

Fonction :

Validée le :

Nom :

Fonction :

Procédure opératoire N° PF4

## I. MISE EN ROUTE DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS CONSTITUANT L'APPAREILLAGE

A) Principe général de fonctionnement

B) Appareillage

- Automate principal :

\* Nom

\* Type d'appareil (système mono ou multiparamétrique)

- PC: nom

- Imprimantes, diluteurs, modules, bouteilles de gaz, etc.

- Place des différents éléments par rapport à l'automate

- Mise sous tension

\* Place des boutons ON/OFF

\* Ordre de mise en route

Documentation technique disponible à la paillasse, lieu de rangement.

## II. OPÉRATIONS PRÉLIMINAIRES

A) Vérifications systématiques

- Liste des éléments à vérifier

- Mise sous tension correcte

- Niveaux réactifs, tampons, gaz, etc.

\* Préciser la quantité minimale nécessaire (si absence ou insuffisance ?)

- Présence de papier: automate, imprimante (si absence ou insuffisance ?)

- Vidange des poubelles

\* Élimination des déchets suivant la PO prévue (PO6)

B) Nettoyage

1) Matériel nécessaire : alcool, Javel, HCl, mandrin, coton, etc.

- Liste des éléments à nettoyer

\* Seringues

\* Cuves

\* Systèmes optiques, etc...

- *Mode opératoire*
- \* *Expliquer comment faire*
- \* *Éventuellement selon indication du manuel constructeur, mentionner les fiches correspondantes*

## 2) Rinçages s'il y a lieu :

- Que rincer ?
- Description du mode opératoire

## C) Gestes journaliers systématiques

- Entrée de la date
- Réactifs à jeter... selon PO d'élimination prévue (PO6)

### ■ III. PRÉPARATION À L'UTILISATION DE L'APPAREILLAGE

---

#### A) Liste des tests disponibles et codes correspondants éventuels

#### B) Réactifs utilisés

- Numéro d'enregistrement à l'agence du médicament
- Lieu de stockage

#### C) Technique de reconstitution

- Protocole
- Fréquence de renouvellement

#### D) Consommables

#### E) Positionnement des réactifs et consommables sur l'appareillage

- Positionnement, ergots de repère, plateau de réactifs
- Amorçage : procédure s'il y a lieu

### ■ IV. EXÉCUTION DES ANALYSES

---

#### A) Sélection de l'analyse

- Choix des options, des menus, des tests
- Séries de tests sélectionnés
- Utilisation multiparamétrique
- Chargement de module s'il y a lieu : K7, carrousel, etc.

#### B) Calibrage

##### 1) *Fréquence*

- Fonction ou non des paramètres
- Choix des paramètres à étalonner

## 2) *Échantillons de calibrage - Nature, nombre, noms*

- Lieux de stockage
- Reconstitution, péremption
- Positionnement dans l'appareil

## 3) *Protocole :*

- Courbe de calibrage : conservation, impression
- Vérification du calibrage
- Mesures à prendre en cas d'échec du calibrage : vérifications, recalibrage, etc.

## C) Contrôle de qualité interne (CQI)

### 1) *Nature des échantillons de CQI, noms, nombre*

### 2) *Lieux de stockage*

### 3) *Reconstitution, péremption indiquée sur le flacon*

### 4) *Utilisation des contrôles*

- Positionnement dans l'appareil
- Valeur cible, écart admissible
- Fréquence et moments de passage dans la journée

### 5) *Résultats*

- Règle de validation analytique : critères d'acceptabilité
- Mesures correctives en cas de dysfonctionnement
- Procédures de remplacement

## D) Analyses des spécimens

### 1) *Nature des échantillons (plasma, sérum, urine, etc.) et identification*

- Tube primaire
- Aliquote : distribution, volume mort, etc.
- Saisie sur clavier
- Création d'étiquettes code à barres
  - \* si nécessaire selon PO prévue
  - \* identification, positionnement de l'étiquette
- Doivent rester visibles ou être reproduits :  
Nom - Prénom - Date - et éventuellement l'heure

### 2) *Préparation du plateau, réceptacle, rack, carousel*

- Chargement aléatoire ou ordonné
- Place de l'étiquette code-barre pour lecture
- Numérotage échantillons, plateaux, racks, etc.
- Édition d'une liste de travail

### 3) *Programmation des analyses*

- Choix des menus
- Procédure de prédilution s'il y a lieu

- Lancement d'une série
- Passage d'une urgence

#### 4) Résultats - Validations

- Validation analytique suivant la PO relative à l'analyse ou au groupe d'analyses
- Conservation du résultat - Archivage

### ■ V. FIN DE TRAVAIL - PROCÉDURE DE MISE À L'ARRÊT

---

- Avertisseur de fin d'analyse : sonnerie, sortie résultat...
- Conservation des échantillons selon PO correspondante (obligation éventuelle)
- Rangement des réactifs, carrousel, etc...
- Rinçage, nettoyage selon la procédure prévue (PF5)
- Élimination des déchets suivant P06
- Arrêt automate principal et annexes
  - \* Ordre
  - \* Mise en attente

### ■ VI. PRÉPARATION DE L'ANALYSEUR POUR LA GARDE

---

PRÉCISER LES AFFICHAGES ÉCRAN AU COURS DE L'ENSEMBLE DES MANIPULATIONS CHAQUE FOIS QUE CELA EST UTILE.

Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire de fonctionnement et d'utilisation du STRATUS - PF4A1

Objet : Procédure opératoire de fonctionnement et d'utilisation du STRATUS		
Paramètres biologiques concernés: DIGOXINE, FERRITINE, CKMB, TSH us, T4 libre		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF4A1		

## I. MISE EN ROUTE DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS CONSTITUANT L'APPAREILLAGE

### A - Principe général de fonctionnement

Avec l'analyseur STRATUS, on peut déterminer la quantité d'antigènes particuliers chez un patient, par la compétition d'antigènes marqués à une enzyme (conjugué) vis à vis d'anticorps immobilisés dans une immunomatrice (fibres de verre revêtues incorporées dans une tablette spécifique) servant de support à la réaction et à la lecture. Après avoir terminé la réaction de fixation, on ajoute à la matrice une solution de lavage qui contient le substrat de l'enzyme pour évaluer l'excès de conjugué et pour produire une réaction fluorescente dont l'intensité est proportionnelle à la concentration fixée de l'antigène marqué. La longueur d'onde d'excitation de la réaction produite est à 360 nm et la longueur d'onde d'émission à 450 nm. Les résultats sont calculés d'après des mesures en cinétique d'estimation de production de la lumière fluorescente à une longueur d'onde de 450 nm.

### B - Appareillage

\*Automate :STRATUS :système multiparamétrique d'immunoanalyse (dosage par immunofluorescence)

\* Diluteur STRATUS : à proximité de l'automate.

L'automate est sous tension en permanence (bouton on/off derrière la porte avant gauche).

La documentation technique relative à l'appareillage est disponible dans l'armoire métallique située dans la même pièce.

## II. OPÉRATIONS PRÉLIMINAIRES

### A - Vérifications systématiques

\* Toutes les semaines imprimer les valeurs des paramètres :

- Sur le clavier, taper (CLR) (1) (6) (5) (ENT).

- Comparer les valeurs obtenues avec les valeurs de référence et leurs écarts autorisés inscrits à l'intérieur de la porte avant gauche.

\* Contrôler le niveau d'eau distillée dans les réservoirs au-dessus de la paillasse.

\* Remplacer si besoin le rouleau de papier (réserve dans le placard sous l'automate)

### B- Nettoyage

\* Utiliser de l'eau distillée ou de l'eau de Javel à 5 %.

\* Éléments à nettoyer : les 3 sondes (prélèvement - distributeur du conjugué - distributeur du substrat).

\* Mode opératoire :

Remplir les flacons étiquetés « eau distillée » et les placer dans les logements prévus normalement pour les flacons de substrat et de conjugué (voir schéma du constructeur)

- Sur le clavier, taper : (CLR) (1) (6) (3)

- L'écran affiche: RINSE PUMPS TIPS ?

- Sur le clavier, taper : (YES)

Ce nettoyage des sondes à l'eau distillée est obligatoire avant et après chaque dosage ou série de dosages.

\* Cas particuliers : fin de journée ou calibrage :

Effectuer un rinçage à l'eau distillée comme précédemment décrit, puis un rinçage avec de l'eau de Javel à 5% :

- Prendre les flacons étiquetés « eau de Javel », les remplir de Javel récemment préparée et les placer dans les logements normalement prévus pour les flacons de substrat et de conjugué (voir schéma du constructeur) ; placer une cupule également remplie de Javel en position 30 du carrousel.

- Sur le clavier, taper : (CLR) (1) (6) (1)

- L'écran affiche : WASH TIPS ?

- Sur le clavier, taper : (YES)

- Terminer obligatoirement par un deuxième rinçage à l'eau distillée.

### ■ III. PRÉPARATION À L'UTILISATION DE L'APPAREILLAGE

---

A - Liste des tests disponibles et numéros de code correspondants

\*TSH us : test n° 20

\* T4L : test n° 22

\* DIGOXINE : test n° 1

\*FERRITINE : test n° 18

\* CKMB : test n° 24

B - Réactifs utilisés

Dans chaque coffret de réactif on trouve :

\* une gamme de calibrage prête à l'emploi, sauf pour les CKMB,

\* 4 boîtes de 30 tablettes spécifiques de l'analyse,

\* 2 flacons de substrat prêt à l'emploi,

\* 1 flacon de conjugué prêt à l'emploi,

\* + 1 diluent tampon dans les coffrets de T4L et CKMB.

Les coffrets de réactifs sont stockés dans le réfrigérateur à la paille.

C - Technique de reconstitution.

La gamme de calibrage n'est à reconstituer que pour les CKMB avec le tampon du coffret. Utiliser une pipette jaugée en verre et reconstituer les 6 flacons de calibrage avec 2ml de tampon. La stabilité après reconstitution est de 60 jours à +4°C/+8°C.

D - Consommables

\* Cupules échantillon en plastique de 500 µl,

\* Rouleau de papier imprimante.

## E - Positionnement des réactifs

\* Les flacons de conjugué et de substrat spécifiques du paramètre à doser sont à placer dans leurs logements respectifs comme indiqué sur le schéma du constructeur

\* Tablettes spécifiques du paramètre à doser :

- ouvrir la porte avant droite,
- vider la poubelle contenant les tablettes usagées conformément à la procédure P06 relative à l'élimination des déchets contaminés,
- abaisser le ressort du chargeur,
- insérer le nombre de tablettes spécifiques correspondant au nombre de dosages à effectuer.

## ■ IV. EXÉCUTION DES ANALYSES

---

### A - Sélection de l'analyse

Choisir le numéro du test désiré (se reporter au chapitre IV-D : analyse des spécimens).

### B - Calibrage

#### 1) Fréquence

Le calibrage est obligatoire :

- à chaque changement de lot de réactif,
- après chaque maintenance,
- en cas de dérive avérée des contrôles de qualité interne.

#### 2) Echantillons de calibrage

- 6 points de gamme prêts à l'emploi pour DIGOXINE, TSH us, FERRITINE et T4L,
- 6 points de gamme à reconstituer pour les CKMB (voir ch.III-B et C)
- Péréemption indiquée par le fabricant sur le coffret

#### 3) Mode opératoire

a) DIGOXINE, TSH us et FERRITINE :

- Pipeter 200 µl de chaque point de gamme dans 2 cupules échantillons,
- Placer ainsi chaque point de calibrage en double sur le carrousel (positions 1 à 12),
- Placer à la suite les 2 (DIGOXINE) ou 3 (autres paramètres) échantillons de Contrôle,
- Sur le clavier, taper : (CLR) (1) (4) (0) (n° du test) (ENT). Les n° de code des tests disponibles sur le STRATUS sont indiqués au chapitre III-A,

b) T4L :

Les échantillons de Calibrage, de Contrôle et les dosages nécessitent une prédilution au 1/21 effectuée sur le Diluteur STRATUS :

- Allumer le Diluteur en pressant le bouton POWER,
- Attendre l'affichage : STRATUS,

- Sur le clavier du Diluteur, taper : (PRIME DILUTOR),
- Attendre l'affichage : STRATUS,
- Mettre en place le flacon de DILUENT, les 6 flacons de Calibrage, les 3 points de Contrôle de Qualité Interne et le carrousel Stratus avec le nombre de cupules adéquat
- Sur le clavier du Diluteur, taper : (2) (2) (CAL.),
- Attendre l'affichage : FREE T4 22.,
- Sur le clavier du Diluteur, taper : (START/CONTINUE),
- Quand les dilutions sont terminées, transférer le carrousel sur l'automate STRATUS.

#### c) CKMB

Avant le calibrage, vérifier le paramétrage :

- Sur le clavier du STRATUS, taper: (CLR) (2) (0) (0) (ENT)
- Les valeurs du paramétrage s'impriment : vérifier qu'elles sont identiques à celles de la notice à l'intérieur du coffret (22 codes à vérifier)
- En cas de discordance, utiliser le clavier numérique pour modifier les valeurs du paramétrage conformément à la notice : taper (la bonne valeur) puis, (ENT) pour passer aux valeurs suivantes
- Puis, procéder pour le calibrage comme indiqué au paragraphe a) (DIGOXINE, TSH us et FERRITINE).

#### 4) Résultats

L'analyseur accepte ou non le calibrage. En cas de rejet, recommencer en ayant vérifié l'absence d'interversion notamment, ou toute autre erreur de manipulation.

Les bandes de résultats sont conservées dans le classeur des calibrages, rangé dans l'armoire métallique.

#### C - Contrôles de qualité interne

##### 1) Nature

Produits lyophilisés préparés à partir de sang humain :

- \* Immunocontrôles Dade (levels) : 3 niveaux de concentration pour TSH us, T4L et FERRITINE,
- \* Immunocontrôles CKMB : 3 niveaux de concentration,
- \* Asqualab pour DIGOXINE : 2 niveaux de concentration.

##### 2) Lieu de stockage

Tous les contrôles sont stockés dans le réfrigérateur de la paillasse, les dates de péremption étant indiquées sur les boîtes.

Après reconstitution et répartition en aliquotes de 200 µl, les conserver dans le congélateur de la pièce « sida » au maximum pendant 30 jours.

##### 3) Reconstitution

a) Immunocontrôles Dade (levels) et Asqualab :

- Taper doucement sur le flacon pour libérer le lyophilisat,
- Ouvrir doucement le bouchon de caoutchouc,
- Utiliser une pipette à 2 traits pour ajouter 5 ml d'eau distillée,
- Reboucher le flacon avec le bouchon de caoutchouc,
- Laisser reposer 10 mn à température ambiante puis agiter doucement pour mélanger par retournements de façon intermittente jusqu'à dissolution complète,
- Bien agiter, mais doucement, juste avant utilisation.

#### b) Immunocontrôles CKMB :

- Sortir du réfrigérateur et laisser revenir à la température ambiante pendant 10 mn,
- Ouvrir doucement le bouchon de caoutchouc,
- Utiliser une pipette à 2 traits pour ajouter 3 ml d'eau distillée,
- Reboucher le flacon avec le bouchon de caoutchouc,
- Laisser reposer 15 mn à température ambiante puis agiter doucement pour mélanger par retournements jusqu'à dissolution complète.

#### 4) Utilisation des contrôles

- Systématiquement à la suite des échantillons de calibrage (positions 13-14 ou 13-14-15 du carrousel),
- Avant chaque série de dosage (positions 1-2 ou 1-2-3 du carrousel).

#### 5) Résultats

Les valeurs cibles des différents contrôles de qualité interne et leurs écarts tolérés sont mentionnés au début des classeurs des différents paramètres.

En cas de valeurs erronées :

- Recalibrer le paramètre en cause,
- Si l'erreur de mesure persiste, en rechercher la cause et mettre en place la mesure corrective.

#### D - Analyse des spécimens

##### 1) Nature et identification :

- Travailler de préférence sur sérum, à défaut sur plasma hépariné,
- Identifier les aliquotes des sérums à partir des tubes primaires (voir la procédure de conduite des analyses PF6, Prélèvements I - C).

##### 2) Préparation du carrousel :

- Penser à positionner les contrôles de qualité interne,
- Numéroter à la suite et à partir des feuilles de paillasse les sérums des patients,
- Distribuer 200 µl de sérum dans les cupules correspondantes sur le carrousel (numéros 1 à 30),
- Placer le carrousel sur l'appareil en veillant à mettre la cupule n°1 en regard de la flèche de repérage.

##### 3) Programmation des analyses

- Sur le clavier du STRATUS, taper : (CLR) (N° du test) (ENT),
- L'écran affiche : STORE CTRL ?
- Sur le clavier du STRATUS, taper : (NO)
- L'écran affiche : READY TO START ?
- Sur le clavier du STRATUS, taper : (YES)
- La série d'analyses démarre.

##### 4) Résultats

Les résultats s'impriment sur papier au fur et à mesure par numéro de cupule :

- Reporter sur la bande le numéro du dossier de chaque patient en face du numéro de la cupule correspondante,
- Après validation analytique (voir PF6, IV - B), saisir les résultats numériques sur l'informatique Gespower,
- Conserver les bandes dans deux types de cahier :
  - un pour les bilans thyroïdiens,
  - un pour les autres paramètres.
- Ranger les cahiers dans l'armoire métallique.

## ■ V. FIN DE TRAVAIL

---

A la fin des séries de dosage, l'écran affiche : STRATUS :

- Reboucher soigneusement les réactifs et les ranger dans le réfrigérateur,
- Jeter les cupules dans les conteneurs SHARPSAFE jaunes pour élimination des produits contaminés selon la procédure PO6,
- Rincer l'appareil à l'eau distillée (voir Opérations préliminaires II - B),
- Conserver les sérums des patients dans le réfrigérateur de la paillasse pendant 4 jours, puis les jeter dans les conteneurs SHARPSAFE jaunes.

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire générale de fonctionnement et d'utilisation d'un appareillage de gaz du sang - PF4A2

Objet : Description du fonctionnement et de l'utilisation de l'IL 1650  
Paramètres biologiques concernés :  $pO_2$  -  $pCO_2$  - pH (IL 1306 - 1650)  
 $CO_3H^-$  -  $SaO_2$   
Hte -  $Na^+$  -  $K^+$  -  $Cl^-$  (IL 1650)

Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :

Procédure opératoire N° PF4A2

## I. MISE EN ROUTE DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS CONSTITUANT L'APPAREILLAGE

A - Principe général de fonctionnement

B - Appareillage

Automate principal :

- Nom: IL 1650
- Appareil multiparamétrique
- Bouteilles de gaz (calibrateurs) : Société Labgaz, 32 av de St Mandé, Paris
- 2 mélanges gazeux .Low :  $pCO_2$  environ 5 %  
 $pO_2 = 20\%$   
.High :  $pCO_2 = 10\%$
- Agitateur de gazomètre circulaire

Mise sous tension :

Le bouton ON/OFF est situé derrière l'appareil, angle droit bas. Ce bouton n'est pas à actionner en pratique quotidienne, l'appareil étant en permanence sous tension.

La documentation technique est disponible dans le placard du meuble de rangement situé sur la paillasse.

## II. OPÉRATIONS PRÉLIMINAIRES

A - Vérifications systématiques

**Réactifs :**

S'assurer visuellement d'un niveau correct des différents réactifs BGE flash, cal 1 et cal 2 positionnés en front de l'appareil.

En cas d'insuffisance de réactifs, prendre le flacon neuf correspondant.

Pour BGE flash, il convient de reconstituer le réactif selon le protocole inscrit sur l'emballage.

Toutefois, les techniciennes veillent à ce qu'un flacon immédiatement prêt à l'emploi soit disponible (réfrigérateur situé à droite près de la porte d'entrée de l'unité de Biochimie).

### **Imprimante :**

Une bande rouge apparaît à l'impression en fin de rouleau. Le stock de rouleaux neufs se situe dans le placard sous l'appareil.

En cas de changement, soulever le couvercle blanc situé derrière la fente de sortie papier, insérer un nouveau rouleau et avancer le papier dans la fente à l'aide du bouton poussoir vert.

### **Poubelle :**

Vérifier le niveau des effluents.

Au maximum autorisé, mettre l'appareil en « stand by » en appuyant sur la touche « attente » et « confirmer » (clavier des touches fonctions situé à la base de l'écran de visualisation). Soulever la tirette verte dégageant l'aiguille de prélèvement, renouveler l'embout « wipe kit » de l'aiguille, sortir la poubelle usagée et la remplacer par une neuve. La poubelle usagée est rebouchée et suit la procédure « hygiène et sécurité ». Rabaisser la tirette verte et presser « cal 2pts » puis « confirmer ».

Observer l'écran pour s'assurer que l'appareil ne réclame pas d'opération particulière ou de maintenance.

Se reporter éventuellement à la fiche opératoire de maintenance.

### **Bouteilles de gaz :**

Vérifier les pressions manométriques des bouteilles de gaz comprimé. Les manomètres de sortie doivent être réglés sur 110 bars.

Paramètres modifiables par l'utilisateur

- Pression barométrique : Vérifier la cohérence entre la valeur affichée par l'appareil et celle lue au baromètre de Forter (baromètre à mercure fixé sur le mur gauche à l'entrée de l'unité de Biochimie).
- HB : Vérifier la valeur affichée par l'appareil.
- Température : Vérifier la valeur affichée par l'appareil.
- Séquence de recalibrage : Vérifier l'intervalle défini entre deux calibrations 2 pts.
- Vérifier la date et l'heure.

### **B - Nettoyage**

Chaque matin, avant de commencer la série de mesures (contrôles de qualité et spécimens de patients) il convient d'aspirer successivement deux échantillons de sang total qui vont servir de « liquide de rinçage et de mise en équilibre du système ».

Il n'y a pas de procédure préliminaire de nettoyage.

Il convient cependant de vérifier la propreté du système, (aiguille de prélèvement notamment) avant le début d'utilisation. En cas de besoin se reporter au § « Nettoyage en fin de journée » de la présente procédure et à celle de la maintenance.

## **■ III. PRÉPARATION À L'UTILISATION DE L'APPAREILLAGE**

---

### **A - Liste et choix des tests**

L'opérateur peut choisir un ensemble de tests selon trois possibilités

- Mode gaz du sang seul
- Mode spécimens incluant gaz du sang + électrolytes
- Mode électrolytes seuls

## B - Réactifs utilisés

L'appareil est alimenté en permanence par trois réactifs : cal 1 et cal 2 sont les réactifs servant au calibrage et Flash, permettant le rinçage de l'appareil.

Pour BGE flash, il convient de reconstituer le réactif selon le protocole inscrit sur l'emballage.

Toutefois, les techniciennes veillent à ce qu'un flacon immédiatement prêt à l'emploi soit disponible (réfrigérateur situé à droite près de la porte d'entrée de l'unité de Biochimie).

Les réactifs stockés à température ambiante sont situés dans le placard de rangement situé sous l'appareil.

Un jeu de bouteilles de gaz comprimé est disponible, fixé contre le mur près de la paille électrophorèse.

## C - Technique de reconstitution

Les réactifs cal 1 et cal 2 sont prêts à l'emploi et stables jusqu'à la date de péremption indiquée.

Le réactif Flash est à préparer selon les recommandations indiquées dans le manuel utilisateur.

Libérer l'enzyme dans le flacon d'émulsion en le décapsulant et en pressant le bouton rouge ; agiter doucement par retournement, puis verser le contenu dans le grand flacon de rinçage. Agiter avec précaution. Le réactif est stable 3 semaines après reconstitution.

## D - Consommables

- Papier d'impression (voir protocole de changement § II A)

- Niveau de la poubelle (voir protocole § II A)

- Gaz (voir protocole § II A)

# ■ IV. EXÉCUTION DES ANALYSES

---

## A - Sélection de l'analyse

Soulever la tirette de l'embout de prélèvement avant toute programmation.

Choisir le mode d'analyse correspondant à la demande correspondante (gaz du sang et/ou ionogramme).

## B - Calibrage

### 1) Fréquence

Les pressions partielles ( $pO^2$  et  $pCO^2$ ), le pH et les électrolytes sont calibrés en permanence via les bouteilles de gaz qui alimentent l'appareil et les flacons cal 1 et cal 2. Le calibrage de l'hématocrite possède deux programmes spécifiques :

- la fréquence de calibrage (mode) 3 - 1

Ce programme définit la fréquence d'utilisation du second point de calibrage de l'hématocrite.

- le programme de calibrage (mode) 3 - 2

## 2) *Échantillons de calibrage*

Cal 1 et cal 2 sont des solutions aqueuses tamponnées permettant le calibrage du pH et des 3 électrolytes (Na, K, Cl).

Cal 1 est également le premier des deux points nécessaires au calibrage de l'hématocrite. Le second point est

obtenu par la mesure du liquide contenu dans l'ampoule HCT cal.

La réserve d'ampoules est rangée dans le tiroir du meuble sous l'appareil.

Les bouteilles de gaz servant au calibrage des pressions partielles sont fournies par la société Labgaz.

## 3) *Protocole de calibrage*

### 3.1 - Calibrage des gaz

Il est nécessaire de mesurer la pression barométrique à l'aide du baromètre à mercure et de vérifier que la valeur affichée sur l'écran est identique. Dans le cas contraire, se reporter à la page 2.11 du manuel opérateur pour entrer la valeur correcte de la pression barométrique et celles des mélanges gazeux exprimées en pourcentage.

### 3.2 - Hématocrite

Procéder au calibrage de ce paramètre selon le protocole décrit aux pages 4.28 et suivantes du manuel opérateur.

### 3.3 - pH et électrolytes (Na, K, Cl)

Les solutions contenues dans les réactifs cal 1 et cal 2 permettent de calibrer ces quatre paramètres.

Le calibrage de l'appareil est automatique et continu.

L'analyseur est rincé et calibré en 1 point (1 PT cal cycle) après chaque mesure de spécimen biologique et chaque 30 minutes si aucune analyse n'est effectuée entre temps. Le cycle 1 PT cal peut être interrompu jusqu'à 5 fois consécutives. Un cycle de calibrage 2 points (2 PT cal cycle) est effectué à intervalles réguliers (1 à 8 h) définis par l'opérateur.

Le protocole de calibrage figure dans le manuel opérateur aux pages 3.32 et suivantes.

## C - Contrôle de qualité interne

### 1) *Nature des échantillons de contrôle*

Il est recommandé de n'utiliser que les matériaux de contrôle approuvés par IL. Les ampoules « contrIL plus » Acidosis, Normal et Alkalosis permettent de vérifier la précision et l'exactitude des différents canaux de mesure pH, gaz du sang et électrolytes.

Le canal Hte est contrôlé au moyen d'une ampoule « IL HCT check ».

Les caractéristiques de ces différents matériaux de contrôle sont décrites page 6.2 du manuel opérateur.

### 2) *Lieux de stockage*

Les ampoules contrIL plus et HCT check sont conservées dans le tiroir de rangement sous l'appareil.

### 3) *Reconstitution*

Les ampoules sont toutes prêtes à l'emploi. Il convient cependant de les manipuler avec précaution comme indiqué ci-dessous.

### 4) *Utilisation des contrôles*

Les ampoules « contrIL plus » sont des solutions aqueuses tonométrées avec un mélange gazeux O<sub>2</sub>/COI en quantité déterminée et de concentrations connues en électrolytes.

L'ampoule « HCT check » est une solution tamponnée avec une concentration spécifique en électrolyte donnant lieu à un signal de conductivité qui est converti en unités d'hématocrites par l'appareil.

Ces deux types de solutions doivent être manipulés selon la procédure décrite page 6.2 du manuel opérateur.

Une fois ouverte, l'ampoule est présentée à l'aspiration comme s'il s'agissait d'un spécimen biologique.

L'opérateur a accès au programme de contrôle de qualité installé sur l'analyseur en appuyant sur la touche MODE puis 7 sur le clavier.

Le stockage des données est inactivé quand 6 mesures répétées d'un même niveau sont effectuées le même jour.

L'intervalle de référence pour chaque niveau est entré dans le programme selon la procédure MODE 7.2 indiquée page 7.5.

Attention : à chaque changement de lot, les résultats du contrôle de qualité archivés sont annulés. Pour conserver ces données il faut les archiver en effectuant une copie de la disquette.

### 5) Résultats

Chaque niveau de contrôle est défini par un intervalle de confiance autour de la valeur cible correspondant au paramètre étudié. Si la valeur mesurée est en dehors de ces limites de confiance, il convient

- de vérifier cette valeur immédiatement sur l'autre analyseur,
- de mesurer les autres niveaux de contrôle afin de vérifier si le fonctionnement observé est confirmé.

Mesures correctives : se reporter au chapitre maintenance du paramètre défectueux et si nécessaire contacter le SAV.

Procédure de remplacement : utiliser l'autre appareil de gaz du sang.

## D - Analyse des spécimens

### 1) Nature des spécimens

#### a) Gazométrie

Après enregistrement de la demande sur le système informatique, le prélèvement de gazométrie est directement porté à la paillasse correspondante.

Dans la mesure du possible, l'analyse doit être exécutée sans attendre. Lorsque plusieurs gazométries sont en attente, il est recommandé de les placer sur le dispositif d'homogénéisation situé à côté de l'appareil.

Les seringues de gazométrie doivent être passées sur les deux analyseurs systématiquement en garde, et chaque fois qu'une demande arrive isolément. Dans les autres cas, il est recommandé de passer dans la série, quelques seringues sur les deux appareils.

#### b) Cas des électrolytes

En cas de défaillance de l'analyseur de Biochimie, les plasmas centrifugés peuvent être passés sur l'IL 1650 pour la mesure des électrolytes.

Avant centrifugation du tube ionogramme, un spécimen de sang total peut être aspiré pour mesurer les électrolytes.

Les seringues pour gazométrie ne conviennent pas pour la mesure des électrolytes. Seules, les seringues Corning gazométrie + électrolytes à 7 UI d'héparinate de Li peuvent être utilisées.

### 2) Programmation des analyses

L'opérateur peut choisir entre trois possibilités (cf. § II A)

#### 3) Validation des résultats

La validation technique des résultats est assurée par le programme de contrôle de qualité quotidien d'une part, par la comparaison aux résultats obtenus avec l'autre analyseur de gaz du sang d'autre part.

La validation biologique prend en compte les renseignements fournis sur la feuille de demande (ventilation spontanée ou assistée, oxygénothérapie, etc.).

Les résultats sont imprimés à la fin de chaque analyse. L'opérateur découpe cette bandelette et la colle sur le cahier prévu à cet effet, situé près de l'appareil en précisant le nom du malade, le service, les conditions de ventilation.

Les résultats sont d'autre part saisis au clavier pour entrée dans l'informatique centrale.

## ■ V. FIN DE TRAVAIL

---

Chaque soir, faire un cycle de nettoyage à l'aide du liquide spécialement prévu à cet effet (Cleaning agent P/N 98327-00) selon la procédure indiquée page 7.5 du manuel opérateur.

L'analyseur est ainsi prêt pour l'utilisation en garde.

## ■ VI. MAINTENANCE DU SYSTÈME

---

Plusieurs procédures de maintenance sont à effectuer régulièrement, selon les directives du calendrier de maintenance :

- maintenance quotidienne (entretien, rinçage)
- maintenance hebdomadaire
- maintenance mensuelle
- maintenance bimestrielle
- maintenance à la demande

L'ensemble des ces procédures est défini dans les pages 7.1 et suivantes du manuel opérateur.

Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire de fonctionnement et d'utilisation d'une centrifugeuse - PF4PM 1

Objet : Fonctionnement et utilisation d'une centrifugeuse

Rédigée le :                      Nom :                      Fonction :

Validée le :                      Nom :                      Fonction :

Procédure opératoire N° PF4PM1

## ■ I. APPAREILLAGE

---

Dénomination:                      Type :                      N° de série :

Objet : centrifugation de spécimens biologiques

Type de rotor :

Existence de nacelles spéciales (microplaques, etc.) :

Secteur(s) d'activité concerné(s) :

Situation dans le laboratoire :

## ■ II. MISE EN PLACE

---

Elle se fait généralement en présence d'un technicien de la société :

- L'emplacement doit être stable, capable de supporter les vibrations
- L'environnement ne doit être ni poussiéreux, ni corrosif
- L'alimentation électrique doit être compatible avec les caractéristiques techniques du matériel

Une attention particulière doit être portée à l'équilibrage :

- L'équilibrage statique consiste à équilibrer 2 à 2 des portoirs diamétralement opposés, de telle sorte que la différence de poids soit minimale
- L'équilibrage dynamique consiste à déposer la charge des portoirs diamétralement opposés de façon symétrique par rapport à l'axe d'entraînement et l'axe de pivotement des nacelles

## ■ III. MODE DE FONCTIONNEMENT ET UTILISATION

---

A) Principe de fonctionnement

Se reporter au manuel fourni par le fabricant

## B) Instructions d'utilisation

### 1) Mode opératoire

- Soulever le capot de la centrifugeuse
- Veiller à l'équilibrage statique et dynamique
- Abaisser et verrouiller le couvercle : un dispositif de sécurité empêche le démarrage si le verrouillage est incorrect
- Choisir la durée de centrifugation, en règle générale, 10 mn
- Sélectionner la vitesse de centrifugation en tr/mn, en principe 5 à 10 000tr/mn
- Presser le bouton de commande de démarrage
- L'arrêt est automatique quand le temps de centrifugation est écoulé
- Placer le sélecteur de freinage en position HIGH
- Déverrouiller après arrêt complet : un dispositif de sécurité empêche l'ouverture du couvercle en cours de centrifugation
- Soulever le capot, sortir les plots contenant les tubes

### 2) Précautions d'usage

- Ne jamais oublier de vérifier le chargement et le bon positionnement des plots pour assurer l'équilibrage ; en cas de vibrations ou de bruit anormal, stopper d'urgence en ramenant le sélecteur de vitesse à zéro. Attendre l'arrêt complet pour soulever le capot
- N'utiliser que des plots fournis par le fabricant et adaptés aux tubes à centrifuger
- Ne jamais tenter de faire démarrer la centrifugeuse avec la main
- Ne jamais tenter d'ouvrir le couvercle en cours de centrifugation
- Ne jamais tenter de ralentir la centrifugeuse autrement qu'en utilisant le système de freinage prévu
- En cas de bris de tube, prendre toute précaution utile et prévue par la PO d'Hygiène et de Sécurité relative au secteur d'activité (PO5SH)

### 3) Défaillance de l'appareillage

- Changement des charnières du capot
- Remplacement des charbons
- Remplacement des fusibles
- Autre intervention : contacter le SAV

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :                            Fonction :

Approuvée le :        Nom :                            Fonction :

Communiquée le :    à :                                Par :

# Procédure opératoire de fonctionnement et d'utilisation d'un autoclave vertical - PF4PM2

Objet : Fonctionnement et utilisation d'un autoclave		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF4PM2		

## I. APPAREILLAGE

---

Autoclave vertical X :

Dénomination:                      Type :                      N° de série :

Objet : Stérilisation du petit matériel et des déchets contaminés Situation dans le laboratoire

## II. MODE DE FONCTIONNEMENT ET UTILISATION

---

### A) Principe de fonctionnement

La stérilisation est une opération dont le but est d'éliminer d'un objet ou d'un produit les micro-organismes qui le souillent.

Au laboratoire, la stérilisation concerne le petit matériel de verrerie, et les déchets contaminés produits par les différents secteurs d'activité, notamment par le secteur de Bactériologie.

Pour tout renseignement complémentaire, se reporter au manuel fourni par le fabricant.

### B) Instructions d'utilisation

#### 1) Mode opératoire

a) S'assurer que tous les fluides nécessaires à un cycle sont disponibles :

- Eau adoucie
- Électricité

b) Charger les paniers pleins des objets et des produits à stériliser dans l'autoclave

c) Mettre l'interrupteur « Marche-Arrêt » sur « Marche »

Éventuellement, changer le réglage de la température sur le régulateur de température situé en façade (si l'appareil est équipé d'un régulateur) ou modifier la pression sur le pressostat réglable se trouvant dans le tableau électrique (si l'appareil est équipé d'un pressostat).

Éventuellement modifier la durée de stérilisation sur la minuterie digitale à l'aide des index permettant de régler la gamme des temps (H, M, S, 0, 1 h, 0.1 m, 0.1 s).

d) Fermer la porte en la rabattant sur la collerette puis tourner le volant dans le sens horaire.

Lorsque le voyant « Porte fermée » s'allume, arrêter de serrer le volant. (Le moteur verrouille l'axe de serrage de la porte en l'empêchant de revenir en arrière. Durée du verrouillage, environ 25 secondes)

e) Lorsque la porte est verrouillée, le voyant « Porte verrouillée » s'allume.

Ouvrir la vanne « Eau chaudière » jusqu'à ce que le voyant « Chauffage » s'allume.

Fermer la vanne « Mise à l'air »

Ouvrir la vanne « Anti-buées sur vidange »

Fermer la vanne « Eau chaudière »

La vaporisation de l'eau fait monter la pression et la purge d'air continue fonctionne.

Lorsque la Pression/Température réelle atteint la Pression/Température de consigne, le chauffage est coupé (voyant « Chauffage » éteint) et la phase « Plateau » s'active (voyant « Plateau » allumé).

La minuterie digitale commence à afficher le temps de consigne puis décompte le temps passé.

Lorsque la Pression/Température descend en dessous du seuil de régulation, le chauffage se réenclenche (voyant « Chauffage » allumé). Il s'interrompt de nouveau si nécessaire (et ainsi de suite pendant tout le temps de la stérilisation).

Lorsque le temps de stérilisation du plateau est accompli, l'automatisme coupe le chauffage.

À partir de cet instant, le voyant « Chauffage » s'éteint définitivement jusqu'à la fin du cycle et le voyant « Plateau Terminé » s'allume.

f) Deux cas peuvent se présenter

- Stérilisation de liquides, de semi-liquides, ou de solides sans séchage

Refroidissement lent. Le chauffage étant coupé automatiquement, on laisse le plateau redescendre en pression et en température naturellement.

Lorsque la pression est voisine de la pression atmosphérique, la température est proche de 100°C. On peut utiliser l'eau du condenseur pour refroidir plus rapidement la température à 90°C.

- Stérilisation de solides avec séchage léger par condensation

Ouvrir la vanne « Vidange » (ce qui a pour effet de vider l'eau résiduelle du bas de l'autoclave, d'évacuer la vapeur, et de faire tomber la pression). Refermer la vanne « Vidange » lorsque la pression est légèrement supérieure à la pression atmosphérique et ouvrir la vanne « Eau Condenseur ». La pression chute rapidement à des pressions négatives et la température se stabilise autour de 80°C.

Laisser sous vide 10 minutes ou plus pour obtenir le séchage.

À ce moment, le déverrouillage de l'axe de serrage de la porte s'opère automatiquement lorsque l'on met l'interrupteur « Marche/Arrêt » sur « Arrêt ».

g) Ouvrir la vanne manuelle de « Mise à l'Air ».

S'assurer que la vapeur ne s'échappe pas par l'orifice situé en bas à droite de l'appareil vers le sol.

S'assurer également que l'aiguille du manomètre se trouve sur la pression atmosphérique avant de toucher au volant de desserrage de la porte.

À ce moment seulement il est possible de desserrer (sens anti-horaire) le volant de serrage/desserrage de la porte et de récupérer le contenu de l'autoclave.

## 2) Précautions d'usage

- La purge d'air continue (paragraphe e) est importante car l'air est un mauvais conducteur de la chaleur. Sa présence retarde l'homogénéisation des températures. La purge élimine les poches d'air nuisibles à la stérilisation en milieu humide.

- Veiller à ne jamais ouvrir le robinet d'échappement avant le retour du manomètre à la pression atmosphérique (environ 100°C), sinon la dépression brutale risque de provoquer l'ébullition des liquides et l'éclatement de la verrerie. En revanche, si on attend trop longtemps, il se produit un phénomène de condensation sur les objets stérilisés.

### 3) Contrôle d'efficacité

Il s'agit de contrôler que :

- La température nominale est atteinte
- La durée de stérilisation est correcte à l'aide de :
  - Tubes témoins
  - Rubans adhésifs
  - Sondes à thermorésistances ou couples thermoélectrique

#### C) Interventions sur l'appareillage

Toute intervention pour dysfonctionnement doit être effectuée par le SAV du fournisseur.

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



# Procédure opératoire générale de maintenance d'un appareillage – PF5A

## **I - CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'APPAREILLAGE**

## **II - VÉRIFICATIONS ET ENTRETIEN**

A) Entretien quotidien

B) Entretien hebdomadaire

C) Entretien mensuel

D) Journal de bord

## **III - MAINTENANCE PROGRAMMÉE**

# Procédure opératoire générale de maintenance d'un appareillage – PF5A

Objet : Procédure opératoire générale de maintenance d'un appareillage		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF5A		*1 registre à la paillasse

## I. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'APPAREILLAGE

---

Appareil X :

- Nom, date d'achat
- Type, n° de série
- Fabricant : nom, adresse, n° tél (et fax) du SAV
- Documentation technique disponible
- Existence d'un contrat de maintenance, date de validité, lieu de conservation

## II. VÉRIFICATIONS ET ENTRETIEN

---

- Matériel nécessaire à la vérification usuelle de l'appareillage
- Nettoyage
- Protocole

A) Entretien quotidien

B) Entretien hebdomadaire

C) Entretien mensuel

D) Journal de bord

- Registre chronologie des pannes et incidents : date, durée, origine de l'incident.
- Décisions prises et résultats obtenus.

## III. MAINTENANCE PROGRAMMÉE

---

- Fréquence de cette maintenance (mensuelle, trimestrielle, etc.)
- Procédures d'entretien périodique à effectuer conformément au manuel du constructeur
- Visites de maintenance
- Consigner par écrit les différentes interventions sur un journal de bord spécifique à chaque appareil

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire de maintenance du STRATUS - PF5A.1

Objet : Procédure opératoire générale de maintenance du STRATUS		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF5A.1		

## I. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'APPAREILLAGE

---

Analyseur multiparamétrique STRATUS - Date d'achat

- N° de série - Type
- Fabricant • Nom
- Adresse
- SAV : N° de Tel et Fax

### **Documentation technique disponible :**

Un classeur Stratus se trouve dans l'armoire métallique située dans la même pièce que l'automate.

Contrat de maintenance existant. Validité 1 an reconductible.

## II. VERIFICATIONS ET ENTRETIEN

---

L'ensemble du matériel nécessaire est rangé dans une boîte dans le placard situé sous le Stratus.

A) Entretien quotidien :

- Laver les embouts des trois pompes à l'aide d'eau distillée et d'eau de javel à 5 % en suivant le mode opératoire décrit dans la procédure PF4A1 de fonctionnement et d'utilisation du Stratus (chapitre II B).
- Rincer et remplir les réservoirs vides, situés sur l'étagère, d'eau distillée.

B) Entretien hebdomadaire : En règle générale le lundi.

- Procéder à la vérification du paramétrage en effectuant le test 165. Voir la procédure PF4A1 de fonctionnement et d'utilisation du Stratus chapitre II A.
- Nettoyer le circuit d'entraînement des tablettes : Voir le manuel d'utilisation Stratus page 6.6.
- Nettoyer les dispositifs de réglage internes (miroirs) : Voir le manuel d'utilisation Stratus page 9. Enlever le couvercle supérieur de l'appareil et ôter les traces de doigts ou de poussière avec un chiffon imbibé d'alcool.
- Nettoyer le poste de lavage de l'embout échantillon: Voir le manuel d'utilisation Stratus page 6.9. Utiliser de l'eau de javel à 5 % et de l'eau distillée.

- Vérifier le centrage des embouts de pompes : Voir le manuel d'utilisation Stratus page 6.8. Utiliser pour cela les deux tablettes de centrage.

- Vérifier la hauteur des embouts de pompes : Voir le manuel d'utilisation Stratus page 6.9. Utiliser l'indicateur de niveau.

C) Entretien mensuel :

Changer le filtre du ventilateur : Voir le manuel d'utilisation Stratus page 6.12.

D) Journal de bord

- Registre chronologique des pannes et incidents

- Décisions prises

### ■ III. MAINTENANCE SEMESTRIELLE

---

Il s'agit d'une visite d'entretien effectuée par la Société DADE en juin et décembre.

Tous les rapports d'intervention ou certificats de maintenance sont conservés à la paillasse, dans un classeur prévu à cet effet.

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :

Fonction :

Approuvée le :        Nom :

Fonction :

Communiquée le :    à :

Par :





# Procédure opératoire générale de conduite d'une analyse - PF6

## I - PRELEVEMENT

- A) Nature et identification
- B) Recueil
- C) Etapes préanalytiques
  - 1) *Centrifugation :*
  - 2) *Préparation des aliquotes*
  - 3) *Édition des feuilles de paillasse*
- D) Étapes analytiques
- E) Etapes postanalytiques

## II - CALIBRAGE

- A) Nature
- B) Reconstitution et stabilité
- C) Utilisation

## III - CONTRÔLES DE QUALITÉ INTERNE

- A) Nature
  - B) Reconstitution
  - C) Valeurs acceptables
  - D) Fréquence de passage
  - E) Résultats
- Mesures correctives en cas de dysfonctionnement

## IV - PROTOCOLE OPÉRATOIRE

- A) Méthode d'analyse Qualification
  - 1) *Description et principe*
  - 2) *Obligations techniques*
  - 3) *Méthode de référence*
  - 4) *Documentation relative à l'analyse*

B) Réactifs utilisés

C) Consommables

D) Résultats

*1) Valeurs de référence*

*2) Validation analytique*

*3) Expression des résultats*

*4) Saisie des résultats*

*5) Archivage*

# Procédure opératoire générale de conduite d'une analyse - PF6

Objet : Détermination X sang – Urine – Autres liquides biologiques
Rédigée le :                      Nom :                      Fonction :
Validée le :                      Nom :                      Fonction :
Procédure opératoire N° PF6

Nomenclature :

Chapitre N° :

Analyse N° :

Coefficient :

## ■ I. PRÉLÈVEMENT

---

### A) Nature et identification

- Identification du patient et du prélèvement :
  - Au moment du prélèvement : se référer à PF2
  - Vérification à l'enregistrement au laboratoire : se référer à PF3

### B) Recueil

- Conditions particulières de recueil ou d'acheminement :
  - Heure de prélèvement
  - Jeûne
  - Transport

### C) Étapes préanalytiques

- Préciser les conditions de conservation préanalytique (réfrigérateur, congélateur)

#### 1) *Centrifugation* :

- Durée
- Vitesse
- Réfrigération ou non

#### 2) *Préparation des aliquotes* :

- Reproduction rigoureuse de l'identité sur les tubes secondaires éventuellement créés

#### 3) *Édition des feuilles de paillasse*

### D) Etapes analytiques

Se reporter au paragraphe IV –Protocole opératoire de la présente procédure

#### D) Étapes postanalytiques

- Conditions de conservation postanalytique
- Réglementaire ou fixée par le biologiste
- Élimination des échantillons : se référer à la procédure générale d'élimination des déchets, PO6.

## ■ II. CALIBRAGE

---

#### A) Nature

- Origine humaine ou animale
- Lyophilisé ou prêt à l'emploi
- Nombre de points de gamme

#### B) Reconstitution et stabilité

- Mode opératoire
- Date de péremption
- Stabilité, stockage après reconstitution

#### C) Utilisation

- Mode opératoire
- Fréquence
- Validation du calibrage
- Conservation à la paillasse des courbes de calibrage obtenues

## ■ III. CONTRÔLES DE QUALITÉ INTERNE

---

#### A) Nature

#### B) Reconstitution

#### C) Valeurs acceptables

#### D) Fréquence de passage

#### E) Résultats

- Se reporter à la procédure générale PO3QI
- Conservation à la paillasse des résultats obtenus

#### Mesures correctives en cas de dysfonctionnement :

- Repasser les contrôles
- Procédure de remplacement :
  - Autre technique disponible
  - Transmission de l'analyse : accord préalable
- Consigner par écrit les décisions mises en œuvre

## ■ IV. PROTOCOLE OPÉRATOIRE

---

### A) Méthode d'analyse

#### Qualification :

- Performance de l'appareillage pour l'analyse donnée
- Répertoire des expertises indépendantes
- et/ou évaluation effectuée par le biologiste

#### 1) Description et principe

#### 2) Obligations techniques

- Notamment prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de biologie médicale :
  - Dosage en double (marqueurs tumoraux)
  - Conservation en sérothèque (sérologie virale)

#### 3) Méthode de référence

- Matériau de référence et adresse où l'obtenir quand il existe

#### 4) Documentation relative à l'analyse

- Documentation technique disponible à la paillasse

### B) Réactifs utilisés

- Nature
- Noms
- N° d'enregistrement auprès de l'Agence du Médicament
- Stockage
- Préparation éventuelle
- Conservation et péremption

### C) Consommables

- Petit matériel indispensable au fonctionnement
- Conforme aux normes spécifiées par les constructeurs des appareillages
- Utilisation selon l'usage et les modalités prévues

### D) Résultats

#### 1) Valeurs de référence

#### 2) Validation analytique

##### a) Conditions opératoires prévues :

- Analyses exécutées dans les conditions prévues (méthode, respect des procédures opératoires)

##### b) Valeurs acceptables des contrôles de qualité interne

##### c) Caractéristiques de la technique :

- Linéarité de la technique (limite de détection, domaine de mesurage)
- Protocole de dilution éventuel
- Interférences connues : analytiques, alimentaires, xénobiotiques



# Procédure opératoire générale de conduite d'une analyse quantitative automatisée - PF6AQ1

Objet : Conduite d'une analyse quantitative automatisée

Rédigée le :                      Nom :                                      Fonction :

Validée le :                      Nom :                                      Fonction :

Procédure opératoire N° PF6AQ1

## **I - PRELEVEMENT**

- A) nature et identification
- B) Recueil
- C) Etapes préanalytiques
  - 1) *Centrifugation*
  - 2) *Préparation des aliquotes*
  - 3) *Edition des feuilles de paillasse*
- D) Etapes analytiques
- E) Etapes postanalytiques

## **II - CALIBRAGE**

- A) Nature
- B) Reconstitution et stabilité
- C) Utilisation

## **III - CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE**

- A) Nature
  - B) Reconstitution
  - C) Valeurs acceptables
  - D) Fréquence de passage :
  - E) Résultats
- Mesures correctives en cas de dysfonctionnement

## **IV - PROTOCOLE OPÉRATOIRE**

- A) Méthode d'analyse
- Qualification
  - 1) *Description et principe*

2) *Obligations techniques*

3) *Méthode de référence*

4) *Documentation relative à l'analyse*

A) Réactifs utilisés

B) Consommables

C) Résultats

1) *Valeurs de référence*

2) *Validation analytique*

a) Conditions opératoires prévues

b) Exactitude des contrôles de qualité interne

c) Limites de la technique

d) Conduite à tenir devant des résultats anormaux

3) *Expression des résultats*

4) *Saisie des résultats*

5) *Archivage*

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :

Fonction :

Approuvée le :        Nom :

Fonction :

Communiquée le :    à :

Par :

# Procédure opératoire générale de conduite des dosages effectués sur le STRATUS - PF6AQ1.1

Objet : Conduite des dosages sur le STRATUS		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6AQ1.1		

## ■ I. PRÉLÈVEMENT

---

### A) Nature et identification

Prélever sur tube sec (sérum) ou à défaut sur héparinate de lithium.

Rejeter les prélèvements fortement hémolysés.

L'identification des tubes primaires est effectuée dans les services au moment du prélèvement par le personnel infirmier. Des étiquettes sont éditées au laboratoire à l'enregistrement des demandes d'examen pour permettre de reproduire l'identité des patients sur les aliquotes (tubes secondaires).

### B) Recueil

De préférence, prélever le patient à jeun.

Pour la DIGOXINE, le prélèvement doit être réalisé entre la 8<sup>ème</sup> et la 24<sup>ème</sup> heure après la prise de médicament (généralement juste avant une nouvelle prise), 6 à 8 jours après le début du traitement (atteinte de l'état d'équilibre).

### C) Étapes préanalytiques

#### 1) Centrifugation :

- Centrifuger les tubes primaires sur la centrifugeuse de la pièce de réception pendant 15 mn à 4000 trs/mn.

#### 2) Préparation des aliquotes :

Aliquoter systématiquement les tubes primaires

- Prendre des tubes à hémolyse de 5 ml en polypropylène,

- Coller sur les tubes les étiquettes d'identification des patients précédemment éditées,

- Transférer le sérum du tube primaire dans le tube en polypropylène lui correspondant,

- Boucher l'aliquote,

- Jeter les tubes primaires dans le conteneur SHARPSAFE jaune pour déchets contaminés de la pièce de réception,

- Stocker les aliquotes jusqu'à réalisation des analyses :

- Dans le congélateur de la pièce « sida » pour les bilans thyroïdiens et les CKMB,
- Dans le réfrigérateur de la paillasse pour les DIGOXINE et FERRITINE.

#### 3) Édition de feuilles de paillasse

### D) Étapes analytiques

Se reporter à la procédure opératoire de fonctionnement et d'utilisation du STRATUS : PF4A1

## E) Etapes postanalytiques

Conserver les sérums après analyse dans le réfrigérateur de la paillasse pendant 4 jours puis, les jeter dans le conteneur SHARPSAFE jaune de la paillasse.

## ■ II. CALIBRAGE

---

### A) Nature :

- Solutions de TSH ou de T4L titrées en milieu protéique d'origine bovine,
- Solutions de DIGOXINE titrées en plasma humain,
- Solutions de FERRITINE titrées en plasma humain,
- Lyophilisats de CKMB titrés en sérum humain.

### B) Reconstitution et stabilité :

Les solutions de calibrage sont prêtes à l'emploi (sauf pour les CKMB). Les dates de péremption sont indiquées sur les coffrets de réactifs. Après ouverture, elles se conservent au réfrigérateur à 2°C/8°C pendant

- 90 jours pour la TSH us,
- 60 jours pour la T4L et la FERRITINE,
- 120 jours pour la DIGOXINE.

Les lyophilisats titrés en CKMB sont à reconstituer. Se reporter à la procédure PF4A1, IV, B de fonctionnement et utilisation du STRATUS. La stabilité après reconstitution est de 60 jours à +2°C/8°C.

### C) Utilisation :

Se reporter à la procédure PF4A1, IV, B, de fonctionnement et utilisation du STRATUS. Le calibrage est obligatoire

- À chaque changement de lot de réactif,
- Après une maintenance,
- En cas de dérive des contrôles de qualité interne.

Ne pas oublier les contrôles de qualité interne lors de chaque calibrage, à positionner sur le carrousel échantillon.

## ■ III. CONTRÔLES DE QUALITÉ INTERNE

---

### A) Nature :

Produits lyophilisés préparés à partir de sang humain :

- Immunocontrôles multiparamétriques Dade référence B5700-5 : 3 titres de concentration pour les TSH us, T4L et FERRITINE.
- Contrôles pour immunodosages CKMB Myoglobine Dade référence B5200 : 3 titres de concentration de CKMB.
- Contrôles de qualité des dosages de médicaments, Programme ASQUALAB : 2 titres de concentration pour la DIGOXINE.

### B) Reconstitution :

Pour reconstituer les contrôles de qualité, se reporter à la procédure PF4A1 - Chapitre IV - C - 3.

### C) Valeurs acceptables

Les valeurs cibles et les écarts admissibles se trouvent au début des classeurs correspondants aux paramètres biologiques concernés sous pochette plastique.

### D) Fréquence de passage :

Passer systématiquement les différents niveaux de concentration de contrôle de qualité interne après un calibrage.

Au moins un niveau de concentration doit être inséré dans chaque série de dosage en veillant à ce que les deux ou trois niveaux de concentration soient testés au moins une fois par semaine pour chaque paramètre.

### E) Résultats :

- Recopier les valeurs obtenues sur les feuilles prévues à cet effet, rangées dans les classeurs correspondants aux paramètres biologiques concernés.
- Conserver les bandes de résultats dans le cahier des bilans thyroïdiens ou dans le cahier réservé à DIGOXINE, FERRITINE, CK-MB.

Mesures correctives en cas de dysfonctionnement :

#### 1) Rejet complet de la calibration par le STRATUS « Invalid Cal »

- Vérifier la présence d'eau distillée dans les réceptacles
- Vérifier le bon positionnement des réactifs conjugués et substrat
- Relancer le calibrage

#### 2) Résultats hors fourchette

- Vérifier les valeurs des millivolts obtenues pour le calibrage et les comparer à celles d'un calibrage précédent.
- Si nécessaire, contacter le SAV au 34.61.52.00 ou transmettre les tubes au Laboratoire sous contrat de collaboration, conformément à la procédure P09.

## ■ IV. PROTOCOLE OPÉRATOIRE

---

Se reporter aux fiches annexes N°1 à 5 de la présente Procédure (PF6AQ1.1.1 à PF6AQ1.1.5)

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :



# Procédure opératoire de la TSH us sur STRATUS - PF6AQ1.1.1

Objet : Dosage de la TSH us sur le STRATUS		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6AQ1.1.1		

Fiche opératoire annexe n°1 :

Nomenclature :

Chapitre N° :

Analyse N° :

Coefficient: B70 (B130 si TSH + T4 L), cf. règles de nomenclature.

## A) Méthode d'analyse

### 1) Description et principe

Méthode de dosage automatisée par immuno-enzymofluorescence sur automate Stratus.

Le dosage de la TSH us est basé sur une méthode sandwich à trois sites. L'échantillon clinique à doser est déposé au centre d'un carré de papier en fibres de verre où il réagit avec un anticorps monoclonal anti-TSH immobilisé dirigé contre un site antigénique original de la molécule entière de TSH. Après une courte incubation, on ajoute un conjugué formé d'un mélange de deux anticorps monoclonaux anti-TSH couplés à une enzyme, dirigés contre des sites antigéniques distincts de la molécule entière de TSH. Pendant la seconde période d'incubation, le conjugué réagit avec le complexe anticorps-TSH, pour former un sandwich anticorps - antigène - anticorps marqué. Une solution de lavage contenant le substrat est ajoutée ce qui a pour double effet d'initialiser la réaction enzymatique et d'éluer le conjugué non lié en excès de la zone de lecture. La vitesse de la réaction enzymatique du conjugué fixé mesurée par fluorimétrie frontale de surface est directement proportionnelle à la concentration de TSH présente dans l'échantillon. L'analyseur renferme un microprocesseur qui effectue le calcul de l'activité de la TSH exprimée en UI/L.

### 2) Obligations techniques prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de Biologie Médicale.

Il n'y a aucune obligation concernant le dosage de la TSH.

### 3) Méthode de référence

Il existe un matériau de référence : seconde préparation internationale de l'OMS référence IRP 80/558.

### 4) Documentation relative à l'analyse

Une notice est disponible dans chaque coffret de réactifs.

## B) Réactifs utilisés

\* Trousse UTSH DADE de 120 tests unitaires

\* N° d'enregistrement à l'Agence du Médicament

\* Les réactifs sont stockés dans le réfrigérateur de la paillasse. La péremption est indiquée par le fabricant.

\* Noter la date d'ouverture au marqueur sur le coffret. Pour la durée de conservation après ouverture, lire la notice insérée dans le coffret pages 8 et 9.

C) Consommables :

Utilisation de cupules de 500 µl pour le carrousel porte-échantillons.

D) Résultats :

1) Valeurs de référence : 0, 2 à 4,5 m UI/L.

2) Validation analytique :

a) L'exécution de l'analyse doit s'effectuer dans les conditions opératoires prévues conformément à la procédure opératoire relative à l'utilisation du Stratus, PF6AQ1.1.

b) Vérifier l'exactitude des valeurs obtenues pour les contrôles de qualité interne.

c) La limite de détection est de 0,05 mUI/L. Au-delà de 50 mUI/L, diluer les sérums au 1/2 dans l'échantillon de calibrage A (point zéro).

d) Conduite à tenir devant des résultats anormaux :

\* Comparer avec les antériorités éventuelles

\* En l'absence d'antériorité, vérifier le résultat sur l'OPUS BEHRING et effectuer un nouveau dosage sur le Stratus en cas de discordance.

\* Observer le résultat de la T4 L et sa cohérence avec celui de la TSH

Lors de pathologies thyroïdiennes, on observe en général :

- ↘ TSH associée à ↗ T4 L dans l'hyperthyroïdie

- ↗ TSH associée à ↘ T4 L dans l'hypothyroïdie

- En sachant qu'une TSH normale signifie à 99 % une fonction thyroïdienne normale en l'absence de traitement.

- ↘ TSH associée à ↘ T4 L est très rarement retrouvée, évoque une insuffisance thyroïdienne d'origine centrale.

Malheureusement, les discordances entre la TSH et les hormones thyroïdiennes périphériques T4 L et T3 L sont fréquentes et rendent l'interprétation délicate donc :

\* Obtenir des renseignements cliniques et rechercher :

- Les pathologies diminuant la TSH (T4 L normale) :

Altération de l'état général

Dépression majeure

Réanimation

Maladies graves non thyroïdiennes (cancer)

Stress - grossesse

Hyperthyroïdie infra-clinique ou adénome toxique

- Un traitement médicamenteux diminuant la sécrétion de TSH :

Amiodarone

Glucocorticoïdes

Dopaminergiques

Antagonistes de la Sérotonine

Opiacées

Somatostatine et Somatotropine

T4 L en traitement freinateur des cancers thyroïdiens

- Un traitement médicamenteux augmentant la sécrétion de TSH :

Amiodarone

Métoclopramide (Pimpéran)

Sulpiride

Noradrénaline

3) *Expression des résultats* : en mUI/L

Pour les TSH effondrées, rendre < 0,05 mUI/L

Diluer systématiquement au 1/2 les TSH > 50 mUI/L

4) *Saisie des résultats numériques sur l'informatique GESPOWER*

5) *Archivage*

Les résultats sont conservés sur les listes de travail rangées dans le classeur des bilans thyroïdiens pendant 1 an puis ultérieurement dans les boîtes d'archivage situées dans l'armoire métallique.

Modifications de procédure

Modifiée le :            Nom :

Fonction :

Approuvée le :        Nom :

Fonction :

Communiquée le :    à :

Par :



# Procédure opératoire de recherche des anticorps du virus de l'hépatite C - PF6Aq2.1

Objet : Technique de recherche des anticorps anti VHC		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6Aq2.1		

## ■ I. PRÉLÈVEMENT

---

### A) Nature et identification

- Prélever sur tube sec (sérum)

- L'identification des tubes primaires est effectuée dans les services au moment du prélèvement par le personnel infirmier. Des étiquettes sont éditées au laboratoire à l'enregistrement des demandes d'examen pour permettre de reproduire l'identité des patients sur les aliquotes (tubes secondaires).

B) Recueil : De préférence, prélever le patient à jeun.

### C) Étapes préanalytiques

1) *Centrifugation* : Centrifuger les tubes primaires dans la centrifugeuse de la pièce de réception pendant 15 minutes à 4 000 trs/minute.

#### 2) *Préparation des aliquotes*

Aliquoter systématiquement les tubes primaires :

- Prendre des tubes à hémolyse de 5 ml en polypropylène
- Coller sur les tubes les étiquettes d'identification du patient précédemment éditées.
- Transférer le sérum du tube primaire dans le tube en polypropylène lui correspondant.
- Boucher l'aliquote
- Effectuer cette opération patient après patient pour éviter tout risque d'erreur d'identification
- Jeter les tubes primaires dans le conteneur SHARPSAFE jaune pour déchets contaminés de la pièce de réception.
- Stocker les aliquotes jusqu'à réalisation des analyses dans le congélateur de la pièce SIDA.

### D) Étapes analytiques

Se reporter au chapitre IV Protocole opératoire de la présente procédure

### E) Étapes postanalytiques

Conserver les sérums après analyse dans le réfrigérateur à la paillasse pendant une semaine puis les jeter dans le conteneur SHARPSAFE jaune de la paillasse.

Conserver un aliquote sérique en sérothèque à - 42°C pendant 1 an au minimum (obligation légale).

## ■ II. CALIBRAGE

---

### A) Nature

- 1 flacon de contrôle positif : sérum ou plasma d'origine humaine inactivé contenant des anticorps anti-HCV
- 1 flacon de contrôle négatif : sérum ou plasma d'origine humaine inactivé et dépourvu d'anticorps anti-HCV

### B) Reconstitution et stabilité

Les solutions de contrôle positif et négatif sont prêtes à l'emploi. Les dates de péremption sont indiquées sur les flacons respectifs par le fabricant. Après ouverture, elles se conservent au réfrigérateur à 2/8°C jusqu'à la date de péremption indiquée également par le fabricant.

### C) Utilisation

Le calibrage est obligatoire pour chaque série d'analyse, donc pour chaque microplaque.

On détermine une valeur seuil à l'issue d'un calcul mathématique imposé par le fabricant du coffret réactif. La valeur moyenne des DO des contrôles négatifs et positifs est utilisée dans ce calcul.

## ■ III. CONTRÔLES DE QUALITÉ INTERNE

---

La plaque est validée en fonction de la valeur seuil calculée et en fonction des valeurs d'absorbance des contrôles positifs et négatifs. Ces valeurs observées doivent être comprises dans les zones de fluctuation indiquées par le fabricant.

Il convient de s'assurer des écarts admissibles des DO des contrôles négatifs et positifs puis calculer la valeur seuil.

## ■ IV. PROTOCOLE OPÉRATOIRE

---

Se reporter aux 3 fiches annexées à cette procédure :

- IMx HCV : test sérologique de dépistage des anticorps HCV
- MONOLISA® anti-HCV : test sérologique de dépistage des anticorps HCV
- INO-LIA HCV AbIII : test sérologique de validation

Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

## Procédure opératoire IMx HCV - PF6Aq2.1.1

Objet : Sérologie de dépistage par la technique Imx des anticorps anti-HCV		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6Aq2.1.1		

Fiche annexe N° : 1

Nomenclature :

Chapitre N° :

Analyse N° :

Coefficient : B70 (pour 2 techniques de dépistage)

A) Méthode d'analyse

Qualification

L'Agence du Médicament, fournit la liste des tests sérologiques de dépistage des anticorps anti-HCV dûment autorisés. Il est impératif de se conformer aux instructions officielles, notamment en cas de rappel d'une trousse de réactifs et de bien différencier les réactifs dits de dépistage de ceux relevant de la différenciation.

*1) Description et principe*

Méthode immunoenzymatique qualitative utilisant des microparticules revêtues d'antigènes recombinants spécifiques du virus de l'Hépatite C destinée à détecter les anticorps anti-HCV présents dans le sérum.

Le principe de dosage immunoenzymologique microparticulaire MEIA est un principe commun à toutes les techniques microparticulaires utilisées avec l'automate IMx.

Suivre le protocole opératoire décrit sur la notice jointe au coffret de réactif.

*2) Obligations techniques prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de Biologie médicale*

Obligation pour tout sérum de pratiquer une deuxième technique de dépistage et de vérifier la positivité d'un sérum trouvé positif dans l'une ou l'autre technique par un test de validation.

*3) Méthode de référence*

Aucune

*4) Documentation relative à l'analyse*

Une notice est disponible dans chaque coffret de réactif et contient le protocole opératoire propre à la technique.

B) Réactifs utilisés

- Coffret réactif IMx HCV 100 tests (réf. 3A99-20)
- Calibrateur Mode 1 IMX HCV
- Contrôles IMx HCV
- Solution de lavage IMx conservée entre 15°C et 30°C.

- N° d'enregistrement à l'agence du médicament
- Les réactifs sont stockés dans le réfrigérateur de la paillasse. La péremption est indiquée sur chaque flacon et sur le coffret.
- Noter la date d'ouverture au marqueur sur le coffret.

#### C) Consommables

- Embouts de pipettes
- Gants jetables
- Accuvettes

#### D) Résultats

##### 1) Validation de la série :

##### 1.1. Validation du calibrateur Mode 1 :

- Valeur minimale acceptable : 5.0
- Valeur maximale acceptable : 35.0
- CV % maximal acceptable: 15.0
- Déviation maximale acceptable : 0.5

##### 1.2. Validation des contrôles (S/N) :

- Le contrôle négatif doit être entre 0.5 et 1.5
- Le contrôle positif doit être entre 15.0 et 75.0

##### 1.3. Calcul

Le dosage IMx HCV calcule le rapport de la valeur de l'échantillon à celle du calibrateur mode 1, tel que :

$$S/N = \frac{\text{Valeur de l'échantillon}}{\text{Valeur du calibrateur mode 1}}$$

Les échantillons sont considérés comme positifs si la valeur de S/N est  $\geq 2.0$

Ceux dont l'absorbante est inférieure à 2.0 sont considérés comme étant négatifs (absence d'anticorps anti-HCV). Il convient cependant de se méfier des échantillons négatifs dont l'absorbante est proche de cette limite.

##### 2) Expression des résultats

La méthode étant qualitative, on considère le sérum comme POSITIF ou NEGATIF en Anticorps anti-HCV.

En cas de sérologie de dépistage positive, le compte-rendu d'analyse précise l'obligation d'attendre la confirmation du résultat par un test de validation **obligatoirement effectué sur un autre prélèvement.**

##### 3) Saisie des résultats sur l'informatique GESPOWER

Dans la rubrique « Recherche des anticorps anti-HCV », saisir en toutes lettres :

Négative ou Positive

##### 4) Archivage

Les résultats sont conservés à la paillasse dans le cahier HEPATITE C situé dans la petite armoire métallique de la sérologie. Ils sont également archivés « on-line » et sauvegardés.

Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire MONOLISA® anti-HCV

## SANOFI PASTEUR - F6Aq2.1.2

Objet : Sérologie de dépistage des anticorps anti-HCV MONOLISA® anti-HCV PASTEUR		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6Aq2.1.2		

Fiche annexe N° : 2

Nomenclature :

Chapitre N° :

Analyse N° :

Coefficient : B70 (pour 2 techniques de dépistage)

Nomenclature Chapitre N° Analyse N° Coefficient : B70 (pour 2 techniques de dépistage)

### A) Méthode d'analyse

#### Qualification

L'Agence du Médicament, fournit la liste des tests sérologiques de dépistage des anticorps anti-HCV dûment autorisés. Il est impératif de se conformer aux instructions officielles, notamment en cas de rappel d'une trousse de réactifs et de bien différencier les réactifs dits de dépistage de ceux relevant de la différenciation.

#### 1) Description et principe

Méthode immunoenzymatique qualitative utilisant des micropuits revêtus de protéines recombinantes et de peptides spécifiques du virus de l'Hépatite C destinée à détecter les anticorps anti-HCV présents dans le sérum.

Le test se déroule en 3 étapes et a pour support réactionnel des micropuits revêtus d'antigènes recombinants spécifiques du HCV. Dans un premier temps, une prise d'essai est diluée directement dans le puits. Si l'anticorps anti-HCV est présent dans le prélèvement, des complexes antigène-anticorps vont se former à la surface du puits après incubation. Dans le cas contraire, aucun complexe ne se fixera et les protéines libres du plasma et du sérum seront éliminées dans l'étape ultérieure de lavage. Durant la deuxième étape, l'anticorps de chèvre anti-IgG humaine marquée à la peroxydase est alors ajouté et peut se fixer aux IgG spécifiques déjà couplés aux antigènes viraux. Si ces complexes antigène-anticorps sont absents, le conjugué libre est évacué au cours du lavage ultérieur. La troisième étape consiste en l'addition d'un système de détection (OPD-H202) entraînant l'apparition d'une coloration révélatrice de la présence d'anticorps anti-HCV. La réaction est stoppée grâce à un réactif stoppant (H2SO4) et la densité optique du mélange réactionnel est lue à l'aide d'un lecteur spectrophotométrique de microplaque en bichromatisme (492 nm - 620 nm). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de conjugué lié et donc à la quantité d'anticorps anti-HCV liés sur la phase solide.

Suivre le protocole opératoire décrit sur la notice jointe au coffret de réactif.

#### 2) Obligations techniques prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de Biologie médicale

Obligation pour tout sérum de pratiquer une deuxième technique ELISA de dépistage et de vérifier la positivité d'un sérum trouvé positif dans l'une ou l'autre technique par un test de validation.

#### 3) Méthode de référence

Aucune

#### 4) Documentation relative à l'analyse

Une notice est disponible dans chaque coffret de réactif et contient le protocole opératoire propre à la technique

## B) Réactifs utilisés

- MONOLISA® anti-HCV SANOFI- PASTEUR de 96 tests unitaires

- N° d'enregistrement à l'agence du médicament :

- Les réactifs sont stockés dans le réfrigérateur de la paillasse. La péremption est indiquée sur chaque flacon et sur le coffret.

- Noter la date d'ouverture au marqueur sur le coffret.

## C) Consommables

- Embouts de pipettes

- Gants jetables

- Accuvettes

## D) Résultats

1) *Validation de la microplaque :*

DO contrôle négatif : < 0.200

DO contrôle positif : 0.900 < DO < 2,500

Calcul de la valeur seuil :

DO R4 = moyenne des DO des contrôles positifs.

$$VS = \frac{DO R4}{5}$$

Les échantillons dont l'absorbance est supérieure ou égale à la valeur seuil sont considérés comme étant positifs (présence d'anticorps anti-HCV)

Ceux dont l'absorbance est inférieure à la valeur seuil sont considérés comme étant négatifs (absence d'anticorps anti-HCV). Il convient cependant de se méfier des échantillons négatifs dont l'absorbance est proche de la valeur seuil.

2) *Expression des résultats*

La méthode étant qualitative, on considère le sérum comme POSITIF ou NEGATIF en Anticorps anti-HCV.

En cas de sérologie de dépistage positive, le compte-rendu d'analyse précise l'obligation d'attendre la confirmation du résultat par un test de validation.

3) *Saisie des résultats sur l'informatique GESPOWER*

Dans la rubrique « Recherche des anticorps anti-HCV », saisir en toutes lettres :

Négative ou Positive

4) *Archivage*

Les résultats sont conservés à la paillasse dans le cahier HEPATITE C situé dans la petite armoire métallique de la sérologie. Ils sont également archivés « on-line » et sauvegardés.

Modifications de procédure

Modifiée le :

Nom :

Fonction :

Approuvée le :

Nom :

Fonction :

Communiquée le :

à :

Par :

# Procédure opératoire INNO - LIA HCV Ab III

## INNOGENETICS - PF6Aq2.1.3

Objet : Test de validation de sérologie HEPATITE C		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6Aq2.1.3		

Fiche annexe N° : 3

Nomenclature :

Chapitre N° :

Analyse N° :

Coefficient :

### A) Méthode d'analyse

#### Qualification

L'Agence du Médicament, fournit la liste des tests de validation du dépistage des anticorps anti-HCV dûment autorisés. Il est impératif de se conformer aux instructions officielles, notamment en cas de rappel d'une trousse de réactifs.

#### 1) Description et principe

Test « immunoblot » qualitatif dans lequel les antigènes recombinants et peptides de synthèse correspondants aux produits codés par le génome HCV sont fixés en bandes individuelles sur bandelette nylon et support plastique.

Suivre le protocole opératoire décrit sur la notice jointe au coffret de réactif

#### 2) Obligations techniques prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de biologie médicale

Tout échantillon révélé positif par l'une ou l'autre ou les deux méthodes ELISA de dépistage doit être confirmé par une technique de validation, autorisée par l'Agence du Médicament.

#### 3) Méthode de référence

Absence ; il existe en revanche un panel de sérums de référence.

#### 4) Documentation relative à l'analyse

Une notice est disponible dans chaque coffret de réactif et contient le protocole opératoire propre à la technique.

### B) Réactifs utilisés

- Trousse INNO-LIA HCV Ab III. Innogénétic 20 tests unitaires.

- N° d'enregistrement à l'agence du médicament :

- Les réactifs sont stockés dans le réfrigérateur de la paillasse. La péremption est indiquée par le fabricant.

- Noter la date d'ouverture au marqueur sur le coffret.

- L'agitation des réactifs concentrés est très importante, de même que celle des dilutions extemporanées (Vortex).



#### 4) Archivage

Les résultats sont conservés à la paillasse dans le classeur « validation HEPATITE C » situé dans l'armoire métallique de la sérologie.

##### Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :



# Procédure Opératoire pour la recherche du virus de l'Hépatite C par PCR - PF6Aq2.2

Objet : Recherche du virus de l'HEPATITE C par la technique de la PCR  
Rédigée le : 02/01/96 Nom : LAGONOTE Dominique et BISSON Nelly  
Validée le : 16/01/96 Nom : C. NAUDIN Fonction :  
Procédure opératoire N° PF6Aq2.2

Nomenclature :

Cette analyse n'est pas encore inscrite à la nomenclature.

## ■ I. PRÉLÈVEMENT

---

### A) Nature et identification

- Prélever sur tube sec (sérum)
- L'identification des tubes primaires est effectuée dans les services au moment du prélèvement par le personnel infirmier. Des étiquettes sont éditées au laboratoire à l'enregistrement des demandes d'examen pour permettre de reproduire l'identité des patients sur les aliquotes (tubes secondaires).
- Les prélèvements doivent être accompagnés d'un bon de commande ou d'une ordonnance. Les échantillons en provenance de l'extérieur doivent arriver congelés (cf. procédures PF3AT et PO9).

### B) Recueil

De préférence, prélever le patient à jeun.

### C) Étapes préanalytiques

#### 1) Centrifugation

Centrifuger les tubes primaires dans la centrifugeuse de la pièce de réception pendant 15 minutes à 4 000 trs/minute.

#### 2) Préparation des aliquotes

Aliquoter systématiquement les tubes primaires :

- Prendre des tubes à hémolyse de 5 ml en polypropylène
- Coller sur les tubes les étiquettes d'identification des patients précédemment éditées.
- Transférer le sérum du tube primaire dans le tube en polypropylène lui correspondant.
- Boucher l'aliquote
- Effectuer cet ensemble d'opérations patient après patient afin d'éviter tout risque d'erreur
- Jeter les tubes primaires dans le conteneur SHARPSAFE jaune pour déchets contaminés de la pièce de réception.
- Stocker les aliquotes jusqu'à réalisation des analyses dans le congélateur de la pièce SIDA + additionner de Fanti RNase (réf. réactif : RNAguard® Biotech)

#### D) Etapes analytiques

Se reporter au chapitre IV Protocole opératoire de la présente procédure

#### E) Étapes postanalytiques

Conserver les sérums après analyse dans le réfrigérateur à la paillasse pendant une semaine puis les jeter dans le conteneur SHARPSAFE jaune de la paillasse.

Conserver un aliquote en sérothèque à - 80°C pendant 1 an au minimum (obligation légale) + conservateur (anti-RNASE)

### ■ II. CALIBRAGE

---

Détermination d'une valeur seuil par l'opérateur à la vue des résultats obtenus pour les échantillons de contrôle positifs et négatifs (valeur seuil théorique : DO = 0,600 à 450 nm)

#### A) Nature

- 1 flacon de contrôle positif : sérum ou plasma d'origine humaine inactivé contenant des séquences nucléotidiques de virus HCV

- 1 flacon de contrôle négatif

#### B) Reconstitution et stabilité

Les solutions de contrôles positifs et négatifs sont prêtes à l'emploi. Les dates de péremption sont indiquées sur les flacons respectifs par le fabricant. Après ouverture, elles se conservent au réfrigérateur à 2/8°C jusqu'à la date de péremption indiquée également par le fabricant.

#### C) Utilisation

Le calibrage est obligatoire pour chaque série d'analyse.

### ■ III. CONTRÔLES DE QUALITÉ INTERNE

---

La plaque est validée en fonction de la valeur seuil estimée et en fonction des valeurs d'absorbance des contrôles positifs et négatifs. Ces valeurs observées doivent être comprises dans les zones de fluctuation indiquées par le fabricant.

Il convient de s'assurer des écarts admissibles des DO des contrôles négatifs et positifs pour déterminer la valeur seuil (habituellement 0,600 unités de DO).

### ■ IV. PROTOCOLE OPÉRATOIRE

---

#### Qualification

Différents articles, revues, abstracts de congrès sont disponibles.

#### A) Méthode d'analyse

##### 1) Description et principe

Amplification du génome (ARN) du virus HCV pour un diagnostic direct à l'échelle moléculaire

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) amplifie des séquences géniques spécifiques, de telle manière qu'une seule molécule d'ARN viral soit détectée parmi des millions d'autres molécules d'acide nucléique (ADN ou ARN)

#### Procédure AMPLICOR™ HCV

Remarques préliminaires :

- Dans le but d'éviter tout risque de contamination, la préparation des réactifs et l'extraction du génome sont effectuées sous des hôtes respectivement situées dans des pièces séparées. De même, l'amplification et la révélation sont effectuées dans deux autres pièces.
- NE JAMAIS PASSER D'UNE PIÈCE A UNE AUTRE avec l'un quelconque des matériels attribués à une paillasse donnée (gants, surblouse, pipettes, etc.)

#### **a) Paillasse n° 1 : Biochimie (PCRI)**

##### **Trousse HCV spécimen préparation kit (100 tests)**

- Laisser revenir les réactifs à température ambiante
- Mettre des gants à usage unique
- Mettre la surblouse
- Utiliser un embout (à filtre) pour chaque échantillon
- Allumer l'incubateur
- Identifier soigneusement les tubes Eppendorf

##### **\* Préparation des contrôles d'extraction**

- Prévoir 1 négatif et 3 positifs.
- Pour le contrôle négatif : 400 µl réactif de lyse  
100 µl sérum normal  
50 µl HCV- contrôle
- Vortexer
- Pour les contrôles positifs : 400 µl réactif de lyse  
100 µl sérum normal  
50 µl HCV + contrôle

##### **\* Préparation des échantillons**

- Pour chaque échantillon, distribuer 0,4 ml de tampon de lyse dans un tube Eppendorf (1,5 ml)
- Identifier soigneusement les tubes Eppendorf
- Vortexer chaque sérum à analyser puis transférer 100 µl de sérum dans le tube Eppendorf approprié contenant le tampon de lyse
- Vortexer à nouveau
- Incuber les tubes Eppendorf pendant 10 mn à 60°C : contrôles et échantillons
- Vortexer
- Ajouter 0,5 ml d'isopropanol dans chaque tube Eppendorf
- Vortexer
- Incuber à température ambiante pendant 2 mn
- Centrifuger à 13 000 tr/mn pendant 15 mn à température ambiante
  - tracer un repère au marqueur à la partie externe et supérieure des tubes de telle sorte que le culot d'ARN

précipité puisse être localisé après la centrifugation (précipité très ténu risquant d'être emporté au moment de la décantation)

- Pendant la centrifugation, préparer les contrôles réactifs.

### **Préparation des contrôles réactifs**

- Ramener les réactifs à température ambiante

- Porter de nouveaux gants

- Préparer le contrôle négatif en ajoutant 50  $\mu$ l du réactif « Négative Control » dans un tube Eppendorf contenant 200  $\mu$ l du réactif « Control Diluent »

- Reboucher le tube Eppendorf

- Vortexer

- Préparer le contrôle positif en ajoutant 50  $\mu$ l du réactif « Positive control » dans un tube Eppendorf contenant 200  $\mu$ l du réactif « Control Diluent »

- Reboucher le tube Eppendorf

- Vortexer

- Incuber les contrôles préparés pendant au moins 10 mn à température ambiante

- Jeter les gants

### **Suite de la préparation commune aux échantillons et aux contrôles d'extraction :**

- Sortir avec précaution les tubes de la centrifugeuse en évitant toute agitation

- Retirer soigneusement le surnageant de chaque tube Eppendorf

- Ajouter 1 ml d'alcool 70 % dans chaque tube

- Vortexer

- Centrifuger à 13 000 tr/mn pendant 5 mn à température ambiante

- Sortir avec précaution les tubes de la centrifugeuse en évitant toute agitation

- Retirer soigneusement le surnageant de chaque tube Eppendorf

- Remettre en suspension le culot avec 1 ml de réactif « Spécimen Diluent »

- « Briser et fragmenter » le précipité à l'aide d'un embout pour faciliter la remise en suspension

- Vortexer

- Les échantillons à analyser et les contrôles ainsi préparés peuvent demeurer à température ambiante pendant 3 heures maximum avant amplification

### **b) Paillasse n° 2: Laverie (PCR2)**

#### **Préparation des réactifs pour amplification : Trousse HCV amplification kit (96 tests)**

Préparation du Master MIX - AmpErase

- Ramener les réactifs à température ambiante (10 mn)

- Porter de nouveaux gants

- Déterminer le nombre d'échantillons et de contrôles à tester

- Remplir la « feuille de travail » d'identification des échantillons et des contrôles (plan de la microplaque)

- Préparer le plateau et les tubes pour amplification sur le Thermocycler

- Ajouter 100  $\mu$ l d'AmpErase à 1 tube de Master MIX<sup>(MM)</sup> (volume suffisant pour 32 tests)

- Vortexer

- Mettre la date sur le tube de Master MIX<sup>(MM)</sup> ainsi préparé : le réactif conservé à 2-8°C reste stable pendant 4 semaines.

- Pipeter 50 µl de MM-AmpErase dans chaque tube pour Thermocycler en veillant à disposer du nombre de tubes nécessaires à l'amplification des échantillons à analyser et des contrôles (en général 16 tubes)
- Ajouter 50 µl des contrôles et des échantillons préparés préalablement (paillasse 1) dans les tubes d'amplification appropriés suivant le plan de la feuille de travail
- Refermer soigneusement les tubes à l'aide du poinçon prévu à cet effet
- Passer la roulette de nivellement sur chaque barrette pour parfaire l'étanchéité

### c) Paillasse n°3 : (PCR3)

#### Amplification

- Porter de nouveaux gants
- Porter une nouvelle blouse
- Allumer le Thermocycler : interrupteur en bas sur le côté gauche
- Vérifier le paramétrage du PRG56 - USER 56
  - À l'aide de la touche OPTION se positionner sur EDIT et appuyer sur ENTER
  - L'écran affiche: EDIT ENTER PROGRAM
  - Taper: 56 ENTER
  - L'écran affiche: LINK PROGS 50-51-52-53-54-55 (liste des sous-programmes)
  - Appuyer 2 fois sur STOP pour sortir puis rappeler successivement tous les sous-programmes pour vérifier le paramétrage (taper le n° du programme ENTER, taper 2 fois STOP pour passer au sous-programme suivant) :
    - + Programme 50: 2 min - 50°C
    - + Programme 51: 30 min - 60°C
    - + Programme 52: 1 min - 95°C
    - + Programme 53 : 15 sec - 95°C, 20 sec - 60°C (2 cycles)
    - + Programme 54 : 15 sec - 90°C, 20 sec - 60°C (38 cycles)
    - + Programme 55 : 15 min - 72°C
  - Pour modifier le paramétrage, se référer au manuel de fonctionnement du thermocycler
    - + Retirer la protection du programme : N° 56
    - + Annuler les données erronées et reprogrammer
- Placer le plateau contenant les tubes d'amplification dans le bloc du Thermocycler (TC)
- Refermer le bloc en veillant à aligner les bandes blanches
- Lancer le programme de la méthode VHC
  - L'écran affiche: RUN
  - Taper (ENTER)
  - L'écran affiche: RUN ENTER PRG
  - Taper (56), (ENTER)
  - L'écran affiche: SELECT TUBE MICRO REACTION VOL ? 100 µl
  - Taper (ENTER)
  - Le thermocycler démarre
- Après la fin de l'amplification, retirer le plateau du bloc du Thermocycler
- Poser le plateau sur un portoir prévu à cet effet et retirer soigneusement les bouchons des barrettes
- Pipeter immédiatement 100 µl de « Solution de Dénaturation » (flacon n°1) dans chaque tube d'amplicon en homogénéisant le mélange par un pipetage soigneux de haut en bas en une seule fois
- Incuber à température ambiante pendant 10 mn

Remarque : les amplicons obtenus peuvent être conservés à 4°C en vue d'un génotypage ultérieur

#### **d) Paillasse n°4: Salle « SIDA »**

##### **Détection : trousse HCV détection kit (96 tests)**

- Ramener les réactifs et la microplaque (MP) à température ambiante
- Placer les amplicons au bain-marie à 37°C pendant 10 mn s'ils ont été maintenus à 2-8°C
- Préparer le volume nécessaire de « Solution de lavage » (1 volume « wash solution 10x » pour 9 volumes d'H<sub>2</sub>O distillée stérile)
- Placer le nombre de barrettes de 8 cupules nécessaires sur la microplaque (en général 16 tests, soit 2 barrettes)
- Ajouter 100 µl du « Tampon d'hybridation VHC » (flacon n°2) dans chaque cupule
- En utilisant un embout à filtre différent pour chaque échantillon, pipeter 25 µl d'Amplicon dans la cupule appropriée conformément au plan de la feuille de travail
- Homogénéiser soigneusement chaque cupule par aspiration et rejet successifs avec la pipette jusqu'à obtention d'une coloration jaune clair
- Recouvrir la microplaque et incuber pendant 1 heure à 37°C
- Laver la microplaque 5 fois sur le laveur LP35 en utilisant la solution de lavage diluée
- Sécher la microplaque par retournement sur un papier absorbant
- Ajouter 100 µl de « conjugué » (Avidin-HRP) dans chaque cupule
- Recouvrir la microplaque et incuber pendant 15 mn à 37°C
- Pendant ce temps, préparer le substrat
  - Pour 16 cupules, mélanger 2 ml de substrat A (flacon n°4A) avec 0,5 ml de substrat B (flacon n° 4B)
  - Placer à l'abri de la lumière
- Laver la microplaque 5 fois comme précédemment indiqué
- Sécher la microplaque par retournement sur un papier absorbant
- Pipeter 100 µl de substrat préalablement préparé dans chaque cupule d'analyse
- Laisser se développer la réaction colorée pendant 10 mn à température ambiante à l'obscurité
- Ajouter 100 µl de « Stop reagent » (flacon n°5) dans chaque cupule pour arrêter la réaction
- Mesurer l'absorbance de chaque cupule à 450 nm sur le lecteur LP200 dans l'heure qui suit l'addition du « Stop reagent »

#### *2) Obligations techniques prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de biologie médicale*

Aucune obligation

#### *3) Méthode de référence*

Aucune méthode de référence

#### *4) Documentations relatives à l'analyse*

Une notice est disponible dans le classeur « cahier de technique » situé dans la petite armoire métallique de la sérologie

#### **B) Réactifs utilisés**

- 3 trousse d'AMPLICOR™ PCR Diagnostic Roche
- HCV spécimen préparation kit (100 tests)
- HCV amplification kit (96 tests)
- HCV détection kit (96 tests)
  
- Ethanol à 70 %
- Isopropanol

- N° d'enregistrement à l'Agence du Médicament
- Les réactifs AMPLICOR™ sont stockés dans le réfrigérateur de la salle Sida
- La péremption est indiquée par le fabricant sur chaque coffret, ainsi que sur chaque flacon
- L'isopropanol et l'alcool à 70 % sont stockés sous la hotte n°1 à température du laboratoire
- Noter la date d'ouverture au marqueur sur les coffrets et sur le contenant des solutions alcooliques

#### C) Consommables

- Surblouses, gants
- Tubes eppendorf de 1,5 ml et leurs bouchons (Serstedt 72.692.105)
- Pipettes
- Pipettes graduées de 10 ml
- Embouts avec filtre
- Embouts sans filtre
- Accuvettes

#### D) Résultats

##### 1) Validation analytique

Contrôle réactif : Négatif  $DO \leq 0,250$  à 450 nm  
 Positif  $DO \geq 2,000$

Contrôle d'extraction : Négatif  $DO \leq 0,250$  à 450 nm  
 Positif  $DO \geq 1,500$  (pour au moins 2 répliques)

##### Échantillons

Le seuil est fixé à 0,600 à 50 nm

Tout échantillon  $\geq 0,600 \Rightarrow$  HCV RNA +

Tout échantillon  $\leq 0,25 \Rightarrow$  HCV RNA -

$0,25 < \text{tout échantillon} < 0,60 - >$  répéter en 2 ou 3 répliques/

Si DO de 2 ou 3 répliques parmi 1,2,3 est :

$< 0,400$ , alors HCV

$> 0,400$ , alors HCV +

##### 2) Expression des résultats

- Recherche négative

- Recherche positive :  $>$  ou  $=$  à  $10^4$  copies RNA HCV/ml

- en cas d'analyse semi-quantitative (dilution préalable du sérum à analyser) de la charge virale en HCV, rendre le résultat sous la forme : concentration en équivalent particules virales/ml, cette concentration étant au moins égale à l'inverse de la dernière dilution positive.

##### 3) Saisie des résultats

La saisie se fait sur l'informatique du secrétariat selon le masque de compte-rendu préétabli

##### 4) Archivage

Les résultats sont conservés à la paillasse dans le classeur « PCR » situé dans la grande armoire métallique de la sérologie

5) *Conservation des échantillons*

Dans la sérothèque à - 80°C, correctement identifiés (ajouter inhibiteur de la RNASE, réf. réactif : RNAGuard® Biotech)

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :

# Procédure Opératoire du génotypage du virus de l'Hépatite C (HCV) - PF6Aq2.3

Objet : Procédure opératoire du génotypage du virus de l'Hépatite C (HCV)  
Rédigée le : 02/01/96 Nom : LAGONOTE Dominique et BISSON Nelly  
Validée le : 16/01/96 Nom : C. NAUDIN Fonction :  
Procédure opératoire N° PF6Aq2.3

Nomenclature :

Le génotypage du virus de l'hépatite C n'est pas inscrit à la nomenclature des actes de biologie médicale.

## ■ I. PRÉLÈVEMENT

---

### A) Nature et identification

- Prélever sur tube sec (sérum)
- L'identification des tubes primaires est effectuée dans les services au moment du prélèvement par le personnel infirmier. Des étiquettes sont éditées au laboratoire à l'enregistrement des demandes d'examen pour permettre de reproduire l'identité des patients sur les aliquotes (tubes secondaires).

### B) Recueil

De préférence, prélever le patient à jeun.

### C) Étapes préanalytiques

#### 1) *Centrifugation*

Centrifuger les tubes primaires dans la centrifugeuse de la pièce de réception pendant 15 minutes à 4 000 trs/ minute.

#### 2) *Préparation des aliquotes*

Aliquoter systématiquement les tubes primaires :

- Prendre des tubes à hémolyse de 5 ml en polypropylène
- Coller sur les tubes les étiquettes d'identification du patient précédemment éditées.
- Transférer le sérum du tube primaire dans le tube en polypropylène lui correspondant.
- Boucher l'aliquote
- Effectuer cette opération patient après patient pour éviter tout risque d'erreur d'identification
- Jeter les tubes primaires dans le conteneur SHARPSAFE jaune pour déchets contaminés de la pièce de réception.
- Stocker les aliquotes jusqu'à réalisation des analyses dans le congélateur de la pièce SIDA.

### D) Etapes analytiques

- Amplification génomique (trousse AMPLICOR HCV ROCHE) : voir procédure opératoire correspondante

- Hybridation à l'aide de sondes nucléiques (trousse INNO LIPA HCV INNOGENETICS) : se reporter au chapitre IV Protocole opératoire de la présente procédure

E) Etapes postanalytiques

Conserver les sérums après analyse dans le réfrigérateur à la pailleuse pendant une semaine puis les jeter dans le conteneur SHARPSAFE jaune de la pailleuse.

Conserver un aliquote sérique en sérothèque à - 80°C pendant 1 an au minimum

## ■ II. CALIBRAGE

---

Il n'existe pas de calibrage interne pour cette technique

## ■ III. CONTRÔLES DE QUALITÉ INTERNE

---

Il n'existe pas de contrôle de qualité interne. Chaque bandelette comporte deux bandes de contrôle de la technique d'hybridation

- 1 bande contrôle conjugué

- 1 bande contrôle d'amplification

## ■ IV. PROTOCOLE OPÉRATOIRE

---

A) Méthode d'analyse

Qualification

Différents articles, abstracts de congrès justifient les performances des trousse.

*1) Description et principe*

Hybridation après PCR sur une bandelette sensibilisée avec des sondes nucléiques suivie d'une révélation enzymatique (LIPA : Une - Probe - Assay)

Procédure INNO-LIPA

### **Hybridation :**

- Déposer une bandelette dans une barquette préalablement identifiée

- Ajouter 1 ml de solution d'hybridation préchauffée au bain-marie à 37°C (absence de cristaux)

- Déposer 20 µl d'Amplicon issu de la technique PCR HCV

- Incuber sur l'agitateur Polytest 20 Bioblock à 80 rpm pendant 2 heures à 50°C

- 15 mn avant la fin de l'incubation, préchauffer la solution de lavage stringente à 37°C et préparer la solution de rinçage par dilution au 5<sup>ème</sup> de la solution mère dans l'eau distillée

- Veiller à agiter vigoureusement (Vortex) la solution mère

### **Lavage en condition stringente**

- Effectuer pour chaque barquette trois lavages successifs avec 1 ml de solution de lavage ; aspirer à l'aide de la trompe à vide :

- un 1<sup>er</sup> lavage de 20 sec

- un 2<sup>ème</sup> de 30 mn à 50°C : incubation dans l'agitateur
  - un 3<sup>ème</sup> lavage de 20 sec pour terminer
- 10 mn avant la fin du 2<sup>ème</sup> lavage, préparer la solution de conjugué : diluer la solution mère au 100<sup>ème</sup> dans le diluant prévu à cet effet et préparer au moins 1 ml de solution diluée pour chaque bandelette
- Veiller à agiter vigoureusement la solution mère (Vortex)
- Faire 2 rinçages successifs avec un temps de contact de 1 mn en déposant 1 ml de solution de rinçage diluée par bandelette ; aspirer à l'aide de la trompe à vide.

#### **Addition du conjugué (Streptavidine-phosphatase alcaline)**

- Ajouter 1 ml de conjugué dilué dans chaque barquette
- Incuber pendant 30 mn sous agitation à température ambiante
- Préparer le substrat NBT-BCIP par dilution au 100<sup>ème</sup> dans le tampon substrat ; prévoir au minimum 1 ml par barquette
- Agiter vigoureusement (Vortex) la solution mère avant de préparer la dilution

#### **Rinçages**

- Effectuer pour chaque barquette, 2 rinçages avec 1 ml de solution de rinçage et un 3<sup>ème</sup> avec 1 ml de tampon substrat
- Temps de contact : 1 mn pour chaque rinçage sous agitation à température ambiante
- Éliminer la solution de tampon substrat par aspiration avec la trompe à vide

#### **Révélation enzymatique : addition du substrat**

- Ajouter 1 ml de substrat dilué à chaque barquette
- Incuber pendant 20 mn à température ambiante sous agitation et à l'obscurité (rabattre le couvercle de l'agitateur)

#### **Arrêt de la réaction**

- Éliminer le substrat à l'aide de la trompe à vide
- Rajouter 1 ml d'eau distillée dans chaque barquette
- Placer 10 mn sous agitation à l'obscurité
- Aspirer l'eau distillée avec la trompe à vide et mettre les bandelettes à sécher sur du papier absorbant
- L'interprétation se fait après séchage complet

#### *2) Obligations techniques prévues dans les arrêtés fixant la nomenclature des actes de biologie médicale*

Il n'y a aucune obligation concernant cette analyse qui ne figure pas à la nomenclature

#### *3) Méthode de référence*

Il n'existe pas de méthode de référence.

#### *4) Documentation relative à l'analyse*

Une notice est disponible dans chaque coffret de réactifs et contient le protocole opératoire propre à la technique.

#### **B) Réactifs utilisés**

- Trousse INNO LIPA HCV INNOGENETICS de 20 tests
- N° d'enregistrement à l'Agence du Médicament :
- Les réactifs sont stockés dans le réfrigérateur de la paillasse, la péremption est indiquée par le fabricant
- Noter la date d'ouverture au marqueur sur le coffret

### C) Consommables

- Gants
- Pipettes
- Pipettes graduées de 10 ml
- Embouts sans filtre
- Accuvettes

### D) Résultats

#### 1) Validation analytique

Valider chaque bandelette en s'assurant de la réactivité des lignes 1 et 2 correspondant au contrôle conjugué et au contrôle d'amplification

#### 2) Interprétation des résultats

- Comparer la réactivité des bandes d'hybridation avec le masque transparent joint dans le coffret répertoriant l'ensemble des bandes caractéristiques des types et sous-types génomiques
- Noter les différentes réactivités pour chaque bandelette testée

#### 3) Expression des résultats

En fonction de la réactivité des bandes d'hybridation, déduire le génotypage du virus étudié

<b>Génotype</b>	<b>Réactivités obligatoires</b>	<b>Réactivités fréquentes</b>
1	Lignes 1 et 2	
1a	Lignes 3 et/ou 4, Ligne 5	
1b	Lignes 3 et/ou 4, Ligne 6	
2	Ligne 7 et/ou 8	Ligne 5
2a	Lignes 7 et/ou 8, Ligne 9	Ligne 5
2b	Lignes 7 et/ou 8, Ligne 10	Ligne 5
3a	Lignes 11 et/ou 12 et/ou 13	
3b	Lignes 11, 14 et 15	
4a	Lignes 14 et 15 ou Ligne 15	Lignes 5 ou 6
5a	Ligne 14 Lignes 5 ou 6	

#### 4) Saisie des résultats

Il n'y a pas de saisie informatique des résultats qui sont archivés dans le classeur PCR à la paillasse

#### 5) Archivage

Les résultats sont conservés à la paillasse dans le classeur « PCR » situé dans la grande armoire métallique de la sérologie

#### Modifications de procédure

Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :

# Procédure opératoire générale d'analyse d'un Liquide Céphalo-Rachidien - PF6Aq2.4

Objet : Procédure opératoire du génotypage du virus de l'Hépatite C (HCV)		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF6Aq2.4		

## ■ I. PRÉLÈVEMENT

---

### A) Nature et identification

- LCR recueilli par ponction lombaire après fond d'œil (pour écarter une hypertension intracrânienne, contre indication formelle à la PL)
- Identification nominative sur les tubes réalisée dans le service au moment du prélèvement

### B) Recueil et acheminement

- Recueillir 5 à 10 ml de LCR
- Habituellement dans 3 tubes stériles successifs pour permettre de différencier hémorragie méningée et prélèvement hémorragique
  - 1 tube est destiné à l'analyse cytot bactériologique : généralement le 3e tube recueilli
  - 1 tube est destiné à la biochimie
  - 1 autre tube pour d'éventuels examens complémentaires
- Transmettre rapidement au laboratoire dans du coton cardé, pour préserver la vitalité des germes éventuellement présents

### C) Étape préanalytique

Le LCR ne nécessite un traitement préalable qu'en cas :

- de prélèvement hémorragique : centrifuger 5 mn à 4 000tr/mn avant de déterminer les chlorures et la glycorachie. La valeur de la protéinorrhachie est dans ce cas faussée par la présence d'hémoglobine et de protéines plasmatiques
- de recherche d'antigène de cryptocoque : centrifuger 10 mn à 4 000tr/mn puis désactiver pendant 30 mn au bain-marie à 56°C

### D) Étapes analytiques

Se reporter au paragraphe II - Protocole opératoire

### E) Étapes postanalytiques

Conserver le LCR pour analyses complémentaires éventuelles :

- Recherche de mycobactéries, électrophorèse, dosage des immunoglobulines : conserver au réfrigérateur à 4-8°C
- Virologie : congeler à - 20°C

## ■ II. PROTOCOLE OPÉRATOIRE

---

### A) Examen cyto bactériologique

L'examen d'un LCR est l'une des deux véritables urgences du laboratoire de Bactériologie-Parasitologie, l'autre étant la recherche de plasmodium.

Les résultats doivent être communiqués au prescripteur le plus rapidement possible.

#### 1) Examen macroscopique

Examiner le tube de prélèvement le plus clair et le plus rempli. Noter l'aspect macroscopique :

- Limpide, eau de roche
- Hémorragique, xanthochromique
- De légèrement trouble à eau de riz
- Purulent

#### 2) Ensemencement

Respecter les conditions rigoureuses d'asepsie (travail à proximité de la flamme)

- Utiliser des géloses préchauffées à 37°C et ensemercer
  - 1 gélose au sang
  - 1 gélose chocolat-polyvitex
- À l'aide d'une pipette Pasteur stérile déposer 3 gouttes de LCR à 3 endroits distincts sur chaque gélose pour faciliter l'interprétation de la culture en cas de contamination
- Mettre les 2 géloses à incuber à 37°C sous CO<sub>2</sub> jusqu'au lendemain matin

#### 3) Cytologie

- Homogénéiser le LCR par agitation douce du tube
- Déposer 1 mm<sup>3</sup> de LCR dans une cellule de Malassez
- Laisser sédimenter 5 mn
- Compter les éléments sur l'ensemble de la cellule à l'objectif 40 à sec
- Établir ainsi le nombre d'hématies et de leucocytes présents par mm<sup>3</sup>
- En cas de doute pour différencier les hématies des leucocytes, on peut ajouter une goutte d'acide acétique 0,1N sur un bord de la cellule de Malassez provoquant ainsi la lyse des hématies sans altération des leucocytes

#### 4) Recherches particulières

##### a) Recherche de cryptocoque

Cette recherche n'est justifiée que pour un patient immunodéprimé. Elle est systématique dans le cas d'un malade VIH+.

- Technique à l'encre de Chine : suivre le protocole en annexe de la présente procédure
- Mise en évidence d'antigènes cryptococciques : suivre le protocole en annexe de la présente procédure

##### b) Culture de mycobactéries

Conservé systématiquement du LCR au réfrigérateur pour transmission au laboratoire de culture des mycobactéries

##### c) Culture de virus

Congeler le LCR à - 80°C après examen bactériologique en vue d'une transmission ultérieure au laboratoire de virologie

#### 5) Résultats

##### a) Examen macroscopique et cytologie

Les premiers résultats doivent être communiqués sans délai

Conduite à tenir en fonction du nombre de leucocytes par mm<sup>3</sup> :

- N < 20/mm<sup>3</sup> : communiquer l'aspect macroscopique, le nombre d'hématies et de leucocytes présents par mm<sup>3</sup> et attendre la culture pour les résultats ultérieurs
- N > 20/mm<sup>3</sup> : préparer 4 lames pour examen microscopique :
  - Déposer 3 gouttes de LCR dans 4 cônes stériles pour cytopspin
  - Centrifuger pendant 10 mn à 1 000tr/mn sur la centrifugeuse cytopspin (se reporter à la procédure de fonctionnement et d'utilisation de la cytopspin)
  - Sécher rapidement les lames
  - Colorer les 4 frottis : 1Gram, 1 MGG, les 2 autres frottis étant destinés aux colorations éventuelles par le Bleu de Méthylène (pneumocoques) ou par l'Auramine (BK)

b) Examen microscopique

- Réaliser la formule leucocytaire sur le frottis MGG en comptant au moins 100 leucocytes. Signaler la présence éventuelle de cellules atypiques.
- Observer à l'immersion le frottis coloré par le Gram : rechercher la présence éventuelle de bactéries sur l'ensemble du frottis
- **Communiquer les résultats au prescripteur dès que possible**

c) Culture

Les géloses sont observées le lendemain matin de leur mise en culture.

Les espèces bactériennes les plus fréquemment rencontrées en France, notamment en fonction de l'âge du patient sont mentionnées dans le tableau I.

**Tableau I : Méningites bactériennes en France - Germes les plus fréquemment rencontrés**

En fonction de l'âge		En fonction du contexte clinique	
Nouveau-né :	Streptocoque B Listeria E coli	Traumatisme :	Streptocoque sp Staphylocoque sp Klebsielle Enterobacter
Enfant :	Hémophilus Méningocoque Pneumocoque	Serratia	Pseudomonas
Adulte :	Pneumocoque Méningocoque	Immunodépression :	Mycobactéries
Vieillard :	Listeria Pneumocoque		

Attendre 24 heures au minimum pour déclarer une culture négative.

C) Examen biochimique

Se reporter aux fiches opératoires relatives aux paramètres biochimiques concernés

1) Systématiques

Conjointement, en complément à l'examen cyto bactériologique, on pratique dans le LCR les dosages

- du chlore
- du glucose

- et des protides : attention le dosage est faussé dans le cas d'un prélèvement hémorragique (présence d'hémoglobine et de protéines plasmatiques)

L'interprétation de l'examen biologique du LCR en fonction de la biochimie et de l'examen direct cyto bactériologique est résumée dans le tableau II.

**Tableau II : Caractères biochimiques et examen cyto bactériologique du LCR au cours des méningites infectieuses**

Caractères	Liquide céphalo-rachidien		
	LCR normal	Méningite purulente	Méningite lymphocytaire
Aspect	Limpide Eau de roche	Trouble, purulent -	Clair ou légèrement trouble
Cytologie	1-3 éléments/mm <sup>3</sup>	1 000 à 2 000 éléments/mm <sup>3</sup>	100 à 300 éléments/mm <sup>3</sup>
Formule	Inutile	Prédominance de Poly-neutrophiles	Prédominance de Lymphocytes
Glucose	3 à 4 mmol/l	0 à 1 mmol/l	Normal (virus) Abaisé (bactéries)
Protides	0.2 à 0.5 g/l	1 à 5 g/l	1 à 2 g/l
Chlorures	110 à 130 mmol/l	Normal	Normal sauf t tuberculose (< 110 mmol/l)
Agents infectieux	Absence	Méningocoque Pneumocoque Hémophilus Streptocoque B Klebsielle E. coli	Virus Mycobactéries Brucelles Leptospires Tréponèmes Borrelia Rickettsies Mycoplasmes

**Remarques:**

- Le LCR du nouveau-né contient normalement 20 à 30 éléments/mm<sup>3</sup> dont 50 % de polynucléaires; la protéinorachie peut être supérieure à 1,5 g/l et la glycorachie entre 2 et 3 mmol/l.
- La glycorachie est toujours normale dans les méningites virales et rarement abaissée au cours des infections à spirochètes (Leptospires, Borrelia, Tréponèmes).

**2) Autres paramètres**

Les autres paramètres biochimiques éventuellement déterminés sur le LCR sont fonction du contexte clinique.

Citons principalement :

- L'électrophorèse des protides
- Le dosage de l'albumine
- Le dosage des immunoglobulines :
  - Soit dans le LCR
  - Soit simultanément dans le LCR et dans le sérum du patient pour le calcul des différents index (se reporter aux procédures relatives à ces analyses)

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                    Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                à :    Par :



## Procédure opératoire générale de validation biologique - PF7

Objet : Définition de la procédure de validation biologique		
Rédigée le :	Nom :	Fonction :
Validée le :	Nom :	Fonction :
Procédure opératoire N° PF7		

### ■ I. DÉFINITION DE LA VALIDATION BIOLOGIQUE

Étape ultime de synthèse, la validation biologique étudie la corrélation entre les résultats d'un même dossier, vérifie sa concordance avec les dossiers précédents éventuels, en y associant toute autre donnée en particulier physiologique et clinique du patient concerné.

### ■ II. ORGANISATION DE LA VALIDATION BIOLOGIQUE

Elle intervient après la validation analytique (ou technique) et ne doit pas être confondue avec elle. Sa mise en place nécessite différents « outils » :

- La connaissance des bornes dites de normalité ou de référence.
- L'exploitation de bornes dites de vraisemblance au-delà desquelles le résultat est fortement suspect.
- La connaissance du résultat antérieur dès lors que l'intervalle de temps entre les deux informations est compatible avec les variations connues, physiologique et/ou pathologique de l'analyte considéré.
- La connaissance de corrélation inter-analyses. L'étroitesse du lien renforçant d'autant la sécurité des résultats.

D'autres éléments viennent s'ajouter à cette liste, en particulier le statut clinique du patient, l'unité de soins dans laquelle il est hospitalisé (la probabilité d'une créatinine élevée est plus forte dans une unité de néphrologie), des facteurs externes (xénobiotiques) ou internes (âge, sexe, poids, habitudes alimentaires), voire ethnie (hémoglobine, CMH, etc.)

La lourdeur de la tâche ainsi énumérée, qui aboutit à la signature d'un dossier par un biologiste, est d'autant allégée que ce dernier exploite un système expert de validation.

Modifications de procédure		
Modifiée le :	Nom :	Fonction :
Approuvée le :	Nom :	Fonction :
Communiquée le :	à :	Par :



## **Procédure opératoire générale : comptes-rendus des analyses - PF8**

### **I - PRESENTATION**

### **II - EXPRESSION DES RÉSULTATS**

A) Compte-rendu ponctuel, partiel ou total

B) Compte-rendu cumulatif (jusqu'à 6 antécédents) dans le modèle hospitalier

### **III - SIGNATURE**

### **IV - TRANSMISSION**

**Cas particuliers**

### **V - TARIFICATION DES ACTES**

## Procédure opératoire générale : comptes-rendus des analyses - PF8

Objet : Procédure opératoire générale de comptes-rendus des analyses

Rédigée le :                      Nom :                                      Fonction :

Validée le :                      Nom :                                      Fonction :

Procédure opératoire N° PF8

### ■ I. PRÉSENTATION

---

- Papier à entête du laboratoire comportant les mentions réglementaires :

- Concernant le laboratoire :

- Nom, adresse, N° de téléphone,
- Nom du ou des biologiste(s),
- N° d'enregistrement du laboratoire

- Concernant le patient :

- Nom, prénom, sexe, date de naissance,
- Adresse ou service d'hospitalisation,
- Nom et adresse du médecin prescripteur,
- Date et heure de prélèvement

### ■ II. EXPRESSION DES RÉSULTATS

---

A) Compte-rendu ponctuel, partiel ou total

- Discipline

- Titre éventuel

- Paramètre(s) biologique(s) :

- Valeurs de référence
- Antériorité éventuelle
- Mention de la technique : oui - non
- Résultats présentés conformément à la réglementation
- Remarques particulières : jeûne, chronobiologie, etc.
- Commentaires aussi souvent que nécessaires

- Mention du nom du laboratoire ayant pratiqué l'analyse le cas échéant (analyse transmise à un GIE par exemple)

B) Compte-rendu cumulatif (jusqu'à 6 antériorités) dans le modèle hospitalier

### ■ III. SIGNATURE

---

Vérification de l'exécution des examens conformément à la réglementation en vigueur et aux procédures opératoires prévues.

Par le biologiste responsable du laboratoire exécutant les analyses (notamment dans le cadre d'un contrat de collaboration inter-laboratoires).

Se reporter à la procédure PF7.

#### ■ IV. TRANSMISSION

---

- Respect du délai permettant la bonne utilisation clinique du résultat
- Respect de la confidentialité :
  - Remis au patient lui-même, à son mandataire éventuel (lettre du patient + pièce d'identité)
  - Pli cacheté envoyé aux nom et adresse du patient
  - Remis au médecin prescripteur
  - Transmission par procédé télématique :
    - Le biologiste doit s'assurer de la validité et de la confidentialité des résultats transmis
    - Obligation d'adresser ultérieurement un compte-rendu écrit et signé
  - Cas des incapables (mineurs notamment)
    - Rendre les résultats exclusivement au représentant légal ou au médecin prescripteur
- **Cas particuliers :**
  - Résultats partiels transmis avant validation biologique :
    - Malades hospitalisés ou examens prescrits en urgence
    - Prescripteur informé de cette particularité
    - Confirmation écrite ultérieure obligatoire
  - Mise en jeu du pronostic vital :
    - Informer en urgence le prescripteur
    - À défaut, le médecin désigné par le malade
    - À défaut, le malade lui-même :
      - + Entretien privé
      - + Inciter à consulter rapidement
  - Cadre médico-légal :
    - Résultats remis exclusivement au magistrat instructeur sous pli cacheté
  - Médecine du travail :
    - Résultats transmis au médecin du travail qui en informera le patient
  - Demande d'examens émanant d'une compagnie d'assurance :
    - Ne remettre les résultats qu'au patient lui-même exclusivement

#### ■ V. TARIFICATION DES ACTES

---

Conformément à l'accord tripartite annuel fixant la tarification des examens biologiques et des frais accessoires :

- Lettre clé
- Nomenclature :
  - Numéro du chapitre
  - Numéro de l'analyse
  - Coefficient affecté

Modifications de procédure

Modifiée le :                      Nom :                                      Fonction :

Approuvée le :                      Nom :                                      Fonction :

Communiquée le :                      à :                                      Par :

Information (éventuelle) du prescripteur :



***Cahiers de formation déjà parus***

- |                                      |                                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| N° 1 : <i>HÉMATOLOGIE</i>            | N° 15 : <i>DÉPISTAGE</i>              |
| N° 2 : <i>IMMUNOANALYSE</i>          | <i>DE LA TRISOMIE 21</i>              |
| N° 3 : <i>PARASITOLOGIE</i>          | N° 16 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (2)</i>    |
| N° 4 : <i>BACTÉRIOLOGIE</i>          | N° 17 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>    |
| N° 5 : <i>HORMONOLOGIE</i>           | <i>A (VHA) et E (VHE)</i>             |
| <i>GAZOMÉTRIE</i>                    | N° 18 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i> |
| N° 6 : <i>G.B.E.A.</i>               | <i>TOME II</i>                        |
| N° 7 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (1)</i>    | N° 19 : <i>VAGINITES ET VAGINOSES</i> |
| N° 8 : <i>HÉMOGLOBINES GLYQUÉES</i>  | N° 20 : <i>HÉMOSTASE ET THROMBOSE</i> |
| <i>LIPIDES</i>                       | N° 21 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>    |
| N° 9 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i> | <i>B (VHB), DELTA (VDH),</i>          |
| <i>TOME I</i>                        | <i>C (VHC), AUTRES</i>                |
| N° 10 : <i>HÉMATOLOGIE</i>           | N° 22 : <i>SYNDROME</i>               |
| <i>CAS ILLUSTRÉS</i>                 | <i>DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES</i>        |
| N° 11 : <i>AMIBES ET FLAGELLÉS</i>   | N° 23 : <i>PARASITES SANGUINS</i>     |
| <i>INTESTINAUX</i>                   | N° 24 : <i>BIOCHIMIE PEDIATRIQUE</i>  |
| N° 12 : <i>LES MALADIES A PRIONS</i> | N° 25 : <i>LES MOISSISSURES</i>       |
| N° 13 : <i>AUTOIMMUNITÉ</i>          | <i>D'INTÉRÊT MÉDICAL</i>              |
| <i>ET AUTOANTICORPS</i>              |                                       |
| N° 14 : <i>L'EXPLORATION</i>         |                                       |
| <i>DE LA THYROÏDE</i>                |                                       |

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net) à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.